

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Jasmina Ž. Mitrevski

**UTICAJ DODATKA CVEKLE NA FIZIČKO-HEMIJSKA
I NUTRITIVNA SVOJSTVA ČAJNOG PECIVA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Jasmina Ž. Mitrevski

**THE INFLUENCE OF THE ADDITION OF BEETROOT
ON THE PHYSICAL-CHEMICAL AND NUTRITIONAL
PROPERTIES OF BISCUITS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023

Mentor

Dr Vesna Antić, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije

Dr Jovanka Laličić-Petronijević, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Dr Nebojša Pantelić, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Dr Stanislava Gorjanović, naučni savetnik

Institut za opštu i fizičku hemiju

Dr Snežana Zlatanović, naučni saradnik

Institut za opštu i fizičku hemiju

Datum odbrane: _____

Izjave zahvalnosti

Prof. dr Vesni Antić, svom mentoru, zahvaljujem se na ukazanoj pomoći prilikom izrade doktorske disertacije. Hvala Vam na svim dragocenim savetima, usmeravanju, pruženom znanju, strpljenju i razumevanju. Zahvalna sam Vam na ogromnom požrtvovanju, organizaciji i podršci. Bilo mi je veliko zadovoljstvo raditi sa Vama.

Izuzetno veliku zahvalnost dugujem profesoru *Neboji Panteliću*. Hvala ti, Nebojša, na strpljenju, nesebičnoj posvećenosti, iskrenoj podršci i vremenu koje si uložio tokom rada i pisanja ove disertacije.

Dr Stanislavi Gorjanović i *dr Snežani Zlatanović* dugujem veliku zahvalnost na pomoći u izradi rada, korisnim savetima i lepoj saradnji.

Dr Jovanki Laličić-Petronijević hvala na efikasnoj saradnji i pomoći oko izrade senzorne analize.

Dr Sonji Marjanović, *dr Zoranu Tamburu*, *dr Nini Bulajić* i celom timu sa Vojnomedicinske akademije veliko hvala na svoj pruženoj pomoći i podršci.

Dr Jeleni Vulić i *dr Jovani Kojić* dugujem zahvalnost na korisnim savetima, saradnji, podršci i nesebičnoj pomoći prilikom izrade dela eksperimenta. Hvala na svoj pomoći oko pisanja disertacije, jer ste svojim znanjem i savetima učinile da ovaj rad bude bolji. Celom kolektivu FINS-a (*Institute of Food Technology*) i Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu dugujem veliku zahvalnost na pomoći.

Dr Margariti Dodevskoj dugujem veliku zahvalnost za izuzetan doprinos u analitičkom delu rada, tj. analizi nutritivnog sastava polaznih sirovina i finalnih proizvoda, na nizu stručnih saveza i nesebičnoj pomoći prilikom obrade rezultata i izrade rada.

Profesoru Stevanu Avramovu dugujem najiskreniju zahvalnost na razumevanju, strpljenju i posvećenosti prilikom pisanja disertacije. Hvala na velikom trudu i dobroj volji.

Veliko hvala *Biljani Dojčinović*.

Divnoj *Gorici Spasojević*... Vaš vedri duh, osmeh, dobrota i velikodušnost su neprocenjivi.

Dugujem zahvalnost i svim ostalim saradnicima, kojih je bilo mnogo, a koji su pomogli da se ovaj rad završi.

Kolektivu Kuće zdravlja OLEA, veliko hvala na podršci i razumevanju.

Mojim prijateljima, Blanki, Dragani, Gabrijeli, Jasmini... vaša podrška mi je bila dragocena.

Mojoj mami i Dejanovim roditeljima, hvala što ste imali strpljenja da mi pomognete na putu ka ispunjenju mojih želja. Zbog vas sam danas ovde gde jesam.

Mojoj neverovatnoj sestri hvala na svoj ljubavi, dobroti i podršci.

Tata, znam da si sada ponosan na mene.

Mom mužu Dejanu i našoj deci Jovanu i Petru hvala na velikoj ljubavi, razumevanju i moralnoj podršci.

UTICAJ DODATKA CVEKLE NA FIZIČKO-HEMIJSKA I NUTRITIVNA SVOJSTVA ČAJNOG PECIVA

Rezime

Predmet ove doktorske disertacije je ispitivanje uticaja dodatka praha od cvekle (BP, engl. *beetroot powder*) na fizička svojstva, hemijski sastav, teksturu i senzorne karakteristike obogaćenog čajnog peciva, kao i praćenje promena relevantnih parametara tokom skladištenja u trajanju od šest meseci.

Za pripremu čajnog peciva korišćen je prah egipatske pljosnate cvekle sorte *Detroit*. Speltinom brašnu (SF, engl. *spelled flour*), koje je bilo osnova za čajno pecivo i praha cvekle (BP), koji je korišćen kao funkcionalni dodatak, određena su sledeća svojstva: nasipna gustina, kapacitet vezivanja vode i ulja, kapacitet bubrenja i hidriranja. Utvrđene su visoke vrednosti kapaciteta vezivanja vode (7,2 g za BP i 2,0 g za SF), kao i kapaciteta vezivanja ulja (3,6 g za BP i 3,4 g za SF). Ovi nalazi se mogu povezati sa količinom dijetnih vlakana prisutnih u speltinom brašnu i prahu cvekle. Prah cvekle je sadržao znatno veći udeo dijetnih vlakana (19,9%) i pepela (3,8%) od brašna spelte (4,03% i 1,4%, redom). Takođe, brašno od spelte je imalo oko 20% veći sadržaj proteina od cvekle u prahu. Sadržaj pepela u prahu cvekle ukazuje da je cvekla dobar izvor minerala. Sa druge strane, prah cvekle je imao sadržaj vlage od 6,8%, što ukazuje na dobar kapacitet skladištenja. Zbog svega navedenog, BP se može preporučiti umesto sintetičkih aditiva u prehrambenim proizvodima, npr. za povećanje viskoziteta, zgušnjavanje proizvoda i produženje njegove svežine.

Termalne osobine praha od cvekle određene su metodama diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC) i termogravimetrijske analize (TGA). Temperatura ostakljivanja (Tg) praha cvekle iznosila je 41,0 °C na početku skladištenja i 37,4 °C nakon godinu dana skladištenja, što su vrednosti značajno iznad uobičajenih temperatura skladištenja. Ovakva vrednost Tg obezbeđuje produženu stabilnost praha cvekle, što je u saglasnosti sa vrednostima za aktivnost vode (*aw*), koje su iznosile 0,38 na početku skladištenja i 0,36 nakon godinu dana skladištenja na sobnoj temperaturi. Termalna stabilnost praha od cvekle ispitana je termogravimetrijskom analizom. Glavna oblast degradacije praha cvekle je u opsegu temperatura od 170 do 270 °C, gde uzorak gubi oko 40% početne mase.

Čajno pecivo je pripremljeno tako što je 30-50% speltinog brašna zamenjeno prahom cvekle, tako da udeo cvekle u zamesu iznosi 15-25%. Od speltinog brašna i cvekle u prahu napravljenе su dve serije uzoraka, koje su pečene na 150 i 170 °C. U okviru svake serije je pripremljena i slepa proba, bez cvekle u prahu. Sve analize su rađene neposredno nakon pečenja, kao i nakon 3 i 6 meseci skladištenja.

Poređenje uzoraka čajnog peciva pokazuje da je najveći sadržaj dijetnih vlakana imao uzorak sa najvećim udelom praha od cvekle (7,6%). Konzumiranjem ovakvog čajnog peciva može se nadoknaditi nedovoljni dnevni unos dijetnih vlakana koji u modernoj ishrani retko dostiže preporučenu vrednost od 28 do 35 g dnevno.

Čajno pecivo sa dodatkom praha od cvekle ima znatno veće količine kalijuma i kalcijuma od uzorka koji je napravljen samo od speltinog brašna, što je još jedan od parametara koji opravdava upotrebu praha od cvekle kao funkcionalnog dodatka ishrani.

Rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti (AO), primenom DPPH i FRAP metode, pokazali su povećanu AO čajnog peciva sa prahom cvekle u poređenju sa slepom probom. Temperatura pečenja nije znatno uticala na AO uzoraka, ali je sa vremenom skladištenja AO opadala.

Ispitivanje sadržaja betalaina (biljnih pigmenata cvekle) pokazalo je da povećanjem udela praha od cvekla u čajnom pecivu sadržaj betalaina raste, na obe temperature pečenja.

Takođe je nađen značajan sadržaj betaina, za koji je poznato da sprečava razvoj kardiovaskularnih oboljenja, i to najveći u uzorku sa 25% praha cvekle (307 mg/100 g).

Kvantitativnom analizom polifenola identifikovana su sledeća jedinjenja: katehin, epikatehin, galna, protokatehinska, *p*-kumarinska, kafena, hlorogenska i vanilinska kiselina. Potvrđena je dobra stabilnost polifenolnih jedinjenja tokom vremena skladištenja u proizvodu.

Ispitivanje uticaja sadržaja cvekla i temperature pečenja (150 i 170 °C) na formiranje akrilamida je pokazalo da nešto veća količina akrilamida (do 50 µg/kg) nastaje na višoj temperaturi pečenja ali je sadržaj akrilamida daleko ispod referentne vrednosti, koja iznosi 350 mg/kg. Sadržaj cvekla u čajnom pecivu nije imao značajan uticaj na formiranje akrilamida, verovatno zbog slične zastupljenosti proteina u svim uzorcima čajnog peciva od oko 9%.

Zamenom speltinog brašna prahom cvekla dobijeno je čajno pecivo tamnije boje. Tokom skladištenja, vrednost L* koordinate je rasla. Do ovog efekta dolazi usled pojave tamno obojenih jedinjenja, koja kod čajnog peciva sa cveklom mogu biti produkti degradacije betalaina.

Visok sadržaj vlakana u prahu cvekla je bio osnova za proizvodnju čajnog peciva sa tvrdom teksturom. Prah cvekla je imao presudan uticaj na tvrdoću jer je kod uzoraka sa cveklom izmerena veća vrednost tvrdoće u poređenju sa uzorcima bez cvekla. Veća vrednost tvrdoće ispitivanih uzoraka povezuje se takođe sa krupnim česticama mekinja koje potiču od speltinog brašna, koje je bilo osnova za proizvodnju čajnog peciva. Svi uzorci su pokazali značajno smanjenje tvrdoće tokom perioda skladištenja od šest meseci.

Keks sa 20% praha od cvekla je dobio odlične ocene za sve ocenjivane senzorne parametre, od čega posebno visoke za ukus, teksturu, miris i izgled. Na početku skladištenja, ocenjen je sa $X_{sr} = 4,69$. Vreme skladištenja i temperature pečenja nisu značajno uticali na ove parametre.

Primećeno opadanje nije bilo drastično. Svi ispitivani uzorci su bili u kategoriji vrlo dobrog ukupnog kvaliteta posle 90 dana čuvanja. Uzorak sa 20% cvekla je u najvećoj meri задржao senzorni kvalitet posle tromesečnog stajanja, što ga čini najbolje ocenjenim uzorkom u ovom istraživanju.

Uzorak sa 20% cvekla je kao najbolje ocenjen korišćen u *in vivo* studiji, kojom je određen glikemijski indeks. *In vivo* istraživanja su pokazala blagi skok postprandijalne glukoze nakon konzumiranja keksa sa cveklom. Izostanak naglog i visokog porasta glukoze u krvi, karakterističnog za standardne konditorske proizvode, i glikemijski indeks 49 ± 11 su još jedan pokazatelj da visok sadržaj dijetnih vlakana i polifenolnih supstanci prisutnih u prahu cvekla doprinose funkcionalnosti obogaćenog proizvoda.

Ključne reči: prah cvekla, bezglutenski proizvodi, čajno pecivo, dijetna vlakna, betalaini, polifenolna jedinjenja, antioksidativna aktivnost, akrilamid, senzorna svojstva, glikemijski indeks

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Tehnologija ratarskih proizvoda

UDK: 664.681:664.64.016.7]:635.112(043.3)

THE INFLUENCE OF THE ADDITION OF BEETROOT POWDER ON COMPOSITION, THE PHYSICAL AND NUTRITIONAL PROPERTIES OF BISCUITS

Abstract

The subject of this doctoral dissertation is the investigation of the addition of beetroot powder (BP, engl. *beetroot powder*) on the physical properties, chemical composition, texture and sensory characteristics of the enriched biscuits, as well as the monitoring of changes during storage for six months.

The powder of the Egyptian flat (elliptical) beetroot of the *Detroit* variety was used for the preparation of the biscuits. The following properties were determined for spelled flour (SF), which was the basis for biscuits, and beetroot powder (BP), which was used as a functional additive: bulk density, water and oil binding capacity, swelling and hydration capacity. High values of water binding capacity (7.2 g for BP and 2.0 g for SF) and oil binding capacity (3.6 g for BP and 3.4 g for SF) were determined. These findings can be linked to the dietary fiber content present in both spelled flour and beetroot powder. Beetroot powder contained a significantly higher proportion of dietary fiber (19.9%) and ash (3.80%) than spelled flour (4.03% and 1.4%, respectively). Also, spelled flour had about 20% more protein than beetroot powder. The ash content of beetroot powder indicates that beetroot is a good source of minerals. On the other hand, beetroot powder had a moisture content of 6.8%, indicating a good storage capacity. Therefore, BP can be recommended for use instead of synthetic additives in food products, e.g. to increase the viscosity, thicken the product and prolong its freshness.

The thermal properties of beetroot powder were determined by the differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA). The glass transition temperature (T_g) of beetroot powder was 41.0 °C at the beginning of storage and 37.4 °C after one year of storage, values that are significantly above the usual storage temperatures. Value of T_g ensures prolonged stability of beetroot powder, which is in agreement with the water activity (aw) values, which were 0.38 at the beginning of storage and 0.36, after one year of storage at room temperature. The thermal stability of beetroot powder was tested by thermogravimetric analysis. The main area of beetroot powder degradation is in the temperature range from 170 to 270 °C, where the sample loses about 40% of its initial mass.

Biscuit was prepared by replacing 30-50% of spelled flour with beetroot powder, so that the share of beetroot in the dough was 15-25%. Two series of samples were made from spelled flour and beetroot powder, which were baked at 150 and 170 °C. Within each batch, a blank test was prepared, without beetroot powder. All analyzes were performed at the initial point (after baking), as well as after 3 and 6 months of storage.

A comparison of the biscuits samples shows that the sample with the highest proportion of beetroot powder had the highest dietary fiber content (7.6%). By consuming this type of biscuit, the insufficient daily intake of dietary fiber can be compensated, which in a modern diet does not reach the recommended value of 28 to 35 g per day.

Biscuit with the addition of beetroot powder has significantly higher amounts of potassium and calcium than the sample made only from spelled flour, which is another parameter that justifies the use of beetroot powder as a functional food supplement.

The results of the antioxidant activity (AO) test, using the DPPH and FRAP method, showed an increased AO of biscuits with beetroot powder compared to the blank sample. The baking temperature did not significantly affect AO of the samples, but the AO decreased with the storage time.

Examination of the content of betalains (plant pigments of beets) showed that with an increase in the proportion of beetroot powder in biscuits, the content of betalains increases, at both baking temperatures.

A significant content of betaine known to prevent the development of cardiovascular diseases was also found, and the highest in the sample with 25% beetroot powder (307 mg/100 g).

Quantitative analysis of polyphenols identified the following compounds: catechin, epicatechin, gallic, protocatechinic, *p*-coumaric, caffeic, chlorogenic and vanillic acid. Good stability of polyphenolic compounds during storage was confirmed.

Examination of the influence of beet content and roasting temperature (150 and 170 °C) on the formation of acrylamide showed that a slightly larger amount of acrylamide (up to 50 µg/kg) is formed at a higher roasting temperature. The content of acrylamide in biscuits was far below the reference value, which is 350 mg/kg. The content of beets in the biscuit did not have a significant effect on the formation of acrylamide, probably due to the similar protein content in all biscuits samples of about 9%.

By replacing spelled flour with beetroot powder, a darker colored biscuit was obtained. During storage, the L* coordinate value increased. This effect occurs due to the appearance of dark colored compounds, which in the case of biscuit with beetroot can be betalain degradation products.

The high fiber content of the beetroot powder was the basis for the production of biscuits with a firmer texture. Beetroot powder had a decisive influence on hardness, because samples with beetroot had a higher hardness value compared to samples without beetroot. The higher hardness value of the tested samples is also associated with large bran particles originating from spelled flour, which was the basis for the production of biscuits. All samples showed a significant decrease in hardness during the six-month storage period.

Biscuit with 20% beetroot powder received excellent marks for all evaluated sensorial parameters, especially high for taste, texture, smell and appearance. At the beginning of storage, it was rated as $X_{sr} = 4.69$. Storage time and baking temperatures did not significantly affect these parameters. The observed decrease was not drastic. All tested samples were in the category of very good overall quality after 90 days of storage. The sample with 20% beet kept the sensory quality to the greatest extent after three months of standing, which makes it the best rated sample in this research.

Due to the best sensorial properties the sample with 20% beetroot powder was used in the *in vivo* study aiming to determine the glycemic index. *In vivo* studies have shown a slight increase in postprandial glucose after consuming beet biscuits. The absence of a sudden and high rise in blood glucose, characteristic of standard confectionery products, and the glycemic index of 49 ± 11 are another indicator that the high content of dietary fiber and polyphenolic substances present in beetroot powder contribute to the functionality of the enriched product.

Key words: beetroot powder, gluten-free products, biscuits, dietary fiber, betalains, polyphenolic compounds, antioxidant activity, acrylamide, sensory properties, glycemic index

Scientific field: Biotechnical sciences

Close scientific field: Technology of agricultural products

UDK: 664.681:664.64.016.7]:635.112(043.3)

Sadržaj

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. FUNKCIONALNA HRANA	3
2.1.1. Koncept funkcionalne hrane.....	3
2.1.2. Uloga funkcionalne hrane	3
2.2. CVEKLA	4
2.2.1. Opis biljke	4
2.2.1.1. Poreklo.....	4
2.2.1.2. Botaničke osobine.....	5
2.2.1.3. Proizvodnja i čuvanje	6
2.2.2. Hemijski sastav cvekle	7
2.2.3. Antioksidativna i antimikrobna svojstva	9
2.2.4. Fenolna jedinjenja cvekle.....	11
2.2.4.1. Fenolne kiseline.....	12
2.2.4.2. Flavonoidi.....	13
2.2.4.3. Primena fenolnih jedinjenja	14
2.2.5. Pigmenti cvekle	15
2.2.6. Betain kao funkcionalni sastojak.....	16
2.2.6.1. Izvori betaina.....	17
2.2.6.2. Apsorpcija i metabolizam betaina	21
2.2.6.3. Glavne biološke funkcije betaina: osmoregulacija i antioksidativna aktivnost..	21
2.2.6.4. Stabilnost betaina u proizvodima na bazi žitarica.....	22
2.3. ČAJNO PECIVO.....	23
2.3.1. Opis i opšte karakteristike.....	23
2.3.2. Čajno pecivo sa funkcionalnim dodacima.....	24
3. MATERIJALI I METODE	26
3.1. MATERIJALI I HEMIKALIJE.....	26
3.1.1. Materijal korišćen za analize.....	26
3.1.2. Priprema praha od cvekle.....	26
3.1.3. Priprema čajnog peciva	26
3.1.4. Hemikalije.....	28
3.2. METODE.....	28

3.2.1. Fizička svojstva praha od cvekla i speltinog brašna.....	28
3.2.1.1. Nasipna gustina	28
3.2.1.2. Kapacitet vezivanja vode	28
3.2.1.3. Kapacitet vezivanja ulja.....	28
3.2.1.4. Kapacitet bubrenja	28
3.2.1.5. Kapacitet hidriranja	28
3.2.1.6. Ispitivanje termalnog ponašanja praha cvekla diferencijalno skenirajućom kalorimetrijom (DSC).....	29
3.2.1.7. Ispitivanje termalnog ponašanja praha cvekla termogravimetrijskom analizom (TGA)	29
3.2.2. Hemijski sastav praha cvekla, speltinog brašna i čajnog peciva	29
3.2.2.1. Određivanje sadržaja proteina, masti i pepela	29
3.2.2.2. Određivanje sadržaja dijetnih vlakana	29
3.2.2.3. Određivanje aktivnosti vode (<i>aw</i>) polaznih sirovina i čajnog peciva	30
3.2.3. Određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata ICP-OES analizom	30
3.2.4. Određivanje sadržaja betaina.....	31
3.2.5. Spektrofotometrijsko određivanje sadržaja betalaina, polifenola i flavonoida	32
3.2.5.1. Priprema ekstrakta	32
3.2.5.2. Određivanje sadržaja ukupnih betalaina.....	32
3.2.5.3. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola.....	32
3.2.5.4. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida.....	32
3.2.6. Određivanje antioksidativnih svojstava.....	33
3.2.6.1. DPPH test.....	33
3.2.6.2. FRAP test	33
3.2.7. Kvalitativno i kvantitativno određivanje polifenola HPLC-UV-VIS metodom	33
3.2.8. Mikrobiološka ispravnost polaznih sirovina i čajnog peciva.....	33
3.2.9. Određivanje akrilamida	34
3.2.9.1. Ekstrakcija akrilamida	34
3.2.9.2. Bromovanje uzorka	34
3.2.9.3. Kalibracija i kvantifikacija	34
3.2.9.4. GC-MS analiza	34
3.2.10. Određivanje fizičkih svojstava čajnog peciva.....	35
3.2.10.1. Određivanje boje.....	35
3.2.10.2. Određivanje tvrdoće.....	35
3.2.11. Senzorna analiza čajnog peciva	35
3.2.12. Određivanje glikemijskog indeksa čajnog peciva	36
3.2.13. Statistička obrada podataka.....	36

4. REZULTATI I DISKUSIJA	37
4.1. FIZIČKA SVOJSTVA PRAHA OD CVEKLE I SPELTINOGLA BRAŠNA	37
4.1.1. Nasipna gustina, kapacitet vezivanja vode, kapacitet vezivanja ulja, kapacitet bubrenja, kapacitet hidriranja	37
4.2. TERMALNA ANALIZA PRAHA CVEKLE	37
4.2.1. Karakterizacija praha cvekle DSC metodom.....	37
4.2.2. Termogravimetrijska analiza praha cvekle	39
4.3. HEMIJSKI SASTAV PRAHA CVEKLE, SPELTINOGLA BRAŠNA I ČAJNOGLA PECIVA	40
4.4. SADRŽAJ MAKRO- I MIKROELEMENTA.....	42
4.5. SADRŽAJ BETAINA	47
4.6. SADRŽAJ BETALAINA, POLIFENOLA I FLAVONOIDA	48
4.6.1. Sadržaj ukupnih betalaina.....	48
4.6.2. Sadržaj ukupnih polifenola i flavonoida	50
4.7. ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNIH SVOJSTAVA.....	52
4.7.1. Rezultati DPPH testa	52
4.7.2. Rezultati FRAP testa.....	53
4.8. KVALITATIVNA I KVANTITATIVNA ANALIZA POLIFENOLA.....	54
4.9. AKTIVNOST VODE (<i>aw</i>) I MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST POLAZNIH SIROVINA I ČAJNOGLA PECIVA	59
4.10. SADRŽAJ AKRILAMIDA	61
4.11. ODREĐIVANJE SENZORNIH SVOJSTAVA I TEKSTURE	63
4.11.1. Rezultati određivanja boje.....	63
4.11.2. Rezultati određivanja tvrdoće	65
4.11.3. Rezultati senzorne analize.....	66
4.12. UTICAJ DODATKA PRAHA CVEKLE NA GLIKEMIJSKI INDEKS ČAJNOGLA PECIVA.....	68
5. ZAKLJUČAK	70
6. LITERATURA	73
BIOGRAFIJA	83
PRILOZI	84

1. UVOD

Čajno pecivo i proizvodi srodnici čajnom pecivu su jedna od najrasprostranjenijih vrsta proizvoda u ljudskoj ishrani. Mogu biti slani ili slatki, proizvedeni bez kvasca, sa velikim procentom maste i šećera i malim sadržajem vlage. Kao osnova, koristi se pšenično brašno, čiji gluten formira elastično testo kojim se lako rukuje. Čajno pecivo se u novije vreme koristi kao zamena za obrok, ili kao užina. Koristi se i u poslastičarstvu kao dodatak sladoledu, kremovima i filovima. Danas, industrija čajnog peciva je jedna od najrazvijenijih prehrabnenih industrija. Prednost čajnog peciva je njegova održivost, tj. dugačak rok trajanja, i niska cena, pa je samim tim popularnije od ostalih konditorskih proizvoda. Potrošnja čajnog peciva u svetu je veoma visoka. U Kini iznosi 1,9 kg po glavi stanovnika, u SAD više od 10 kg, a u zapadnoevropskim zemljama oko 4 kg po glavi stanovnika (Ahmad i Ahmed, 2014). Novija istraživanja pokazuju da zbog sve učestalije upotrebe čajnog peciva, zasićene masti, čiji je ideo u čajnom pecivu veliki, doprinose razvoju bolesti srca i krvnih sudova. Šećer iz čajnog peciva je veliki krivac za pojavu karijesa, pogotovo kod mlađe populacije. Iz ovih razloga se prehrabrena industrija nalazi pred velikim izazovom. S obzirom na to da su čajno pecivo i proizvodi njemu slični veoma zastupljeni u dnevnoj ishrani, zadatku prehrabene industrije je da inkorporiranjem nutritivno bogatih komponenti oplemeni čajno pecivo, koje bi doprinelo poboljšanju zdravlja umesto da utiče u njegovom narušavanju. Potrošači tragaju za hranom koja je laka za konzumiranje i koja ima antiinflamatorno, antidiabetičko i antikancerogeno dejstvo.

Činjenica je da su čajno pecivo, i proizvodi slični njemu, široko rasprostranjeni u svetu, lako dostupni, imaju dugi rok trajanja, a konzumiraju ga osobe svih starosnih dobi, pogotovo deca. Ovi proizvodi su takođe pogodni kao osnova za dodatak raznih funkcionalnih dodataka, koji će uticati na poboljšanje nutritivnih svojstava čajnog peciva i posledično na poboljšanje zdravlja konzumenata. Trenutno, na tržištu postoji niz konditorskih proizvoda koji su obogaćeni mineralima, vitaminima, vlaknima i antioksidansima i kao takvi predstavljaju funkcionalnu hranu. Pod funkcionalnom hranom podrazumeva se sva hrana koja sadrži bioaktivne komponente koje pozitivno utiču na zdravlje konzumenata. Bioaktivna jedinjenja su uglavnom nestabilna, osetljiva i podložna degradaciji tokom skladištenja i pod dejstvom visoke temperature, tj. prilikom termičke obrade (Petrović, 2018).

Namirnica koja je veoma bogata antioksidantima i betainom, a već dugo se koristi u domaćinstvima kao lekovita biljka za poboljšanje zdravstvenog stanja je cvekla. Kao niskokalorično i lako svarljivo povrće, našla je primenu kako u alternativnoj, tako i u savremenoj medicini. Zbog visoke koncentracije vlakana koje ima, cvekla pospešuje rad želuca i creva i podstiče lučenje žući, i na taj način reguliše stolicu, čisti jetru i utiče na smanjenje nivoa lošeg holesterola u krvi. Vlakna takođe utiču na stvaranje osećaja sitosti i povećavanje vremenskog perioda između užimanja obroka, tako da se ovo svojstvo koristi pri lečenju gojaznosti, ali je isto tako povoljno i za održavanje normalne telesne mase zdravih osoba (Vulić, 2012).

Cvekla je, takođe, zbog svog mineralnog sastava značajna namirnica kada je u pitanju sprečavanje demineralizacije zuba i skeletnog sistema, pa se preporučuje u lečenju osteoporoze. U narodnoj medicini uvek je bila nezamenjiva za poboljšanje krvne slike, što pokazuju i brojna klinička ispitivanja. Zahvaljujući tome što sadrži glutaminsku i asparginsku kiselinu, cvekla umirujuće deluje na nervni sistem, pa je idealna za jačanje fizički ili psihički iscrpljenih osoba (Ilić, 2007). Cvekla reguliše krvni pritisak, povećava otpornost organizma, jača imunitet. Preporučuje se i pri lečenju bolesti jetre i žući.

Crveno-ljubičasti betalaini, od kojih potiče boja cvekla, našli su primenu u prehrambenoj industriji kao prirodne boje. Cvekla je bogat izvor polifenolnih jedinjenja koja utiču na stabilnost i kvalitet proizvoda, ali im je upotreba ograničena zbog osetljivosti na svetlost i toplotu (Petrović, 2018). Cvekla takođe sadrži značajnu količinu betaina, veoma važnog jedinjenja, koje organizam sam proizvodi, ali je važno i da se unosi putem hrane kao funkcionalni dodatak. Betain, kao donor metil grupe, vrši remetilaciju homocisteina u metionin. Kako je endogena sinteza betaina nedovoljna, unos putem hrane je poželjan.

Cvekla, kao i proizvodi od cvekle, kao što su sok, prah, trop i ekstrakti, smatraju se odličnim sirovinama koje mogu poslužiti kao izvor bioaktivnih jedinjenja prilikom proizvodnje funkcionalne hrane, odnosno kao funkcionalni dodaci. Zbog značajnog sadržaja betalaina, fenolnih jedinjenja i neorganskih nitrata, dodaci na bazi cvekle imaju, povećavaju rok trajanja krajnjeg proizvoda i smanjuju upotrebu sintetičkih aditiva.

U ovom radu deo speltinog brašna (do 50%) zamenjen je prahom od cvekle prilikom izrade čajnog peciva. Prisustvo cvekle u čajnom pecivu povećava sadržaj dijetnih vlakana i bioaktivnih jedinjenja, čiji nedostatak u organizmu može dovesti do metaboličkih poremećaja, gojaznosti i dijabetesa. Glavni cilj ove doktorske disertacije je bio ispitivanje fizičko-hemijskih i nutritivnih svojstava čajnog peciva sa cveklom. Sirovine korištene za proizvodnju čajnog peciva (sirova cvekla, prah od cvekle i speltino brašno) detaljno su okarakterisane u pogledu fizičko-hemijskih karakteristika i kvaliteta a zatim su proizvedene i ispitane dve serije uzoraka čajnog peciva, koje su pečene na različitim temperaturama (150 i 170 °C) i u kojima je udeo cvekle u zamesu variran od 15 do 25%, tako što je 30-50% speltinog brašna zamenjeno prahom cvekle. Dobijeni proizvodi su okarakterisani u pogledu fizičko-hemijskih i nutritivnih svojstava, koja su upoređena sa svojstvima standardnog uzorka čajnog peciva bez dodatka cvekle (kontrolni uzorak). Promene fizičko-hemijskih i nutritivnih svojstava čajnog peciva su ispitane u tri kontrolne tačke: odmah nakon pečenja, a zatim nakon 3 i 6 meseci skladištenja pri konstantnim uslovima. Sprovedeno istraživanje je dalo uvid u uticaj sadržaja cvekle u čajnom pecivu na njegova poboljšana funkcionalna svojstva, kao što su povećan sadržaj betaina, betalaina, polifenola i antioksidativnu aktivnost, a takođe i na mikrobiološku ispravnost i kvalitet proizvoda kao što su aktivnost vode i sadržaj akrilamida. Poseban cilj rada je bio ispitati senzornu prihvatljivost čajnog peciva sa cveklom od strane potencijalnih potrošača. Senzorna svojstva su takođe ispitana u sve tri kontrolne tačke. Cilj je bio izabrati proizvod koji ima najbolja funkcionalna svojstva, ali da primtom bude prihvatljivog ukusa za potrošače. Na kraju, ispitani je glikemijski indeks senzorno najprihvatljivijeg proizvoda, što predstavlja još jedan značajan podatak o tome da li se čajno pecivo obogaćeno prahom od cvekle može svrstati u grupu funkcionalnih prehrambenih proizvoda.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. FUNKCIONALNA HRANA

2.1.1. Koncept funkcionalne hrane

U prošlosti hrana je samo imala zadatak da zadovolji glad, ali sa razvojem civilizacije se postavljaju zahtevi da omogući pravilan rast i razvoj dece, kao i da obnovi i regeneriše ćelije. Prvobitno su u hranu dodavani vitamin C, vitamin E, cink, gvožđe, folna kiselina i kalcijum, a kasnije i nutrijenti kao što su omega-3 masne kiseline, vlakna i fitosteroli (Sloan, 2000). Danas, kada su zahtevi za hranom mnogo veći, ona mora zadovoljiti zahteve u pogledu kvaliteta, ali je isto tako poželjno da ima ulogu u prevenciji mnogih hroničnih bolesti. Biljke su oduvek bile i hrana i lek, a danas za to postoje i mnogi dokazi u vidu kliničkih i naučnih istraživanja. Na bazi dokaza da je hrana ne samo potreba nego i lek, razvio se koncept funkcionalne ishrane. Koncept funkcionalne ishrane datira iz Japana i počeo je da se razvija pre oko 40 godina. Tada je Ministarstvo zdravlja Japana objavilo zakonsku regulativu kojom se funkcionalne namirnice kategorisu kao *FOSHU* (*Food for Specified Health Uses*) (Arai, 1996). Da bi namirnica dobila *FOSHU* standard, morao je postojati naučni dokaz o fiziološkom i zdravstvenom dejstvu na ljudski organizam. Ukus namirnice se u ovom slučaju tretira kao sekundarna stavka.

U Tabeli 1 je prikazana podela funkcionalne hrane na pojačanu, obogaćenu, izmenjenu i poboljšanu, sa odgovarajućim primerima (Kotilainen et al., 2006; Spence, 2006).

Tabela 1. Vrste funkcionalne hrane (Kotilainen et al., 2006; Spence, 2006).

Vrsta funkcionalne hrane	Definicija	Primer
Pojačana hrana	Hrana koja je obogaćena dodatkom nutrijenata	<i>Voćni sokovi obogaćeni vitaminom C</i>
Obogaćena hrana	Hrana kojoj su dodati novi nutrijenti ili komponente koje nisu prisutne u toj hrani	<i>Margarin sa dodatkom estara fitosterola, probiotika, prebiotika</i>
Izmenjena hrana	Hrana iz koje su štetne komponente uklonjene, smanjene ili zamjenjene drugom supstancom sa blagotvornim efektima	<i>Prehrambena vlakna koja zamenjuju masti kod mesa</i>
Poboljšan proizvod	Hrana kod koje je jedna od komponenti prirodno poboljšana specijalnim uzgojem, novim sastavom hraniva, genetskom modifikacijom ili na neki drugi način	<i>Jaja sa povećanim sadržajem omega-3 masnih kiselina (efekat postignut izmenjenom ishranom pilića)</i>

2.1.2. Uloga funkcionalne hrane

Danas je prehrambena tehnologija dosta napredovala kada je funkcionalna hrana u pitanju, tako da je u jednom proizvodu moguće naći sve ono što pruža zdravstvene i nutritivne pogodnosti (Sloan, 2004).

Funkcionalna hrana ima za zadatak da:

- ✓ Poboljša funkciju digestivnog trakta i olakša varenje,
- ✓ Smanji holesterol i visok pritisak i očisti krvne sudove,
- ✓ Nadoknadi mikro- i makronutrijente.

Funkcionalna hrana sadrži jedno ili više biološki aktivnih supstanci sa povoljnim fiziološkim efektima. Biološki aktivna supstanca može biti:

- ✓ Makronutrijent – npr. rezistentni skrob ili omega-3 masne kiseline,
- ✓ Mikronutrijent – vitamin ili mineral,
- ✓ Neesencijalni sastojak hrane sa određenom kalorijskom vrednošću – oligosaharid, biljni sterol, konjugovana linolna kiselina, likopen,
- ✓ Fitohemikalija – fitoestrogen, izoflavon, sulforafan,
- ✓ Živi mikroorganizam – probiotici.

Nakon što se u organizam unese funkcionalna hrana, oslobađa se biološki aktivno jedinjenje koje ispoljava povoljno dejstvo. Jedini uslov je da biološki aktivnog jedinjenja bude u dovoljnoj količini u funkcionalnoj namirnici, kako bi mogao da se ispolji povoljan zdravstveni efekat (Gry et al., 2007). U Tabeli 2 prikazane su osnovne fitohemikalije koje se mogu naći u hrani, kao i njihova bioaktivna svojstva i efekti.

Tabela 2. Osnovne fitohemikalije hrane i njihova bioaktivna svojstva i efekti (Gry et al., 2007)

Osnovne fitohemikalije hrane i njihova bioaktivnost		
Fitohemikalije	Izvor	Bioaktivna svojstva i efekti
Flavonoidi		
Flavoni	Celer, peršun	
Flavononi	Citrusi	
Flavonoli	Luk, čaj, grašak, paradajz	
Flavan-3-oli	Čaj, kakao, jabuke, bobice, neke mahunarke	Antioksidativna, antiproliferativna, antihipertenzivna, antikancerogena, antitrombogena svojstva, inaktivacija enzima, LDL-oksidacije, poboljšanje vaskularnog tonusa
Antocijani	Borovnica, kupina, jagoda	
Izoflavoni	Soja	
Fenolne kiseline	Kafa, žitarice, voće	Antiinflamatorna svojstva
Lignani	Lan, voće i povrće	Estrogena svojstva
Stilbeni	Grožđe, kikiriki	Antioksidativna, kardio za štitna svojstva
Fitosteroli	Brašno	Efekat smanjenja holesterola
Karotenoidi	Paradajz, šargarepa, paprika	Antioksidativna, antiinflamatorna, antikancerogena svojstva

2.2. CVEKLA

2.2.1. Opis biljke

2.2.1.1. Poreklo

Cvekla je dvogodišnja biljka, čiji se koren i lišće od davnina koriste u ishrani. Cvekla je počela da se gaji još u drugom veku pre nove ere. U tom periodu je gajena samo listova koji su

korišćeni sveži za salatu. Stari Latini su prvi narod koji je cveklu gajio zbog korena. U početku je korišćena kao stočna hrana, a kasnije je započelo njen korišćenje i u ljudskoj ishrani. U 18. veku rađena je prva ekstrakcija šećera iz bele cvekla, a 1747. godine berlinski apotekar *Andres Marggraf* izolovao je šećer iz bele cvekla u koncentraciji 6,2%, a iz crvene 4,5%. Nakon ovoga, 1801. godine otvorena je prva fabrika za ekstrakciju šećera iz cvekla u Poljskoj, a u Francuskoj je Napoleon otvorio specijalnu školu za izučavanje cvekla. Tokom 1830. godine cvekla je stigla u Severnu Ameriku (<https://sr.wikipedia.org/wiki/cvekla>).

U današnje vreme najveći proizvođači cvekla su: Rusija, Poljska, Francuska, Italija i SAD (Ilić et al., 2009). Tipičan izgled crvene cvekle, sa lišćem i korenom, prikazan je na slici 1.



Slika 1. Izgled biljke crvene cvekle (*Beta vulgaris* ssp.)

2.2.1.2. Botaničke osobine

Koren cvekle je njena najznačajnija sortna oznaka. Po obliku, postoje četiri vrste:

- ✓ Pljosnata
- ✓ Pljosnato-okrugla
- ✓ Sferična
- ✓ Konusoidna

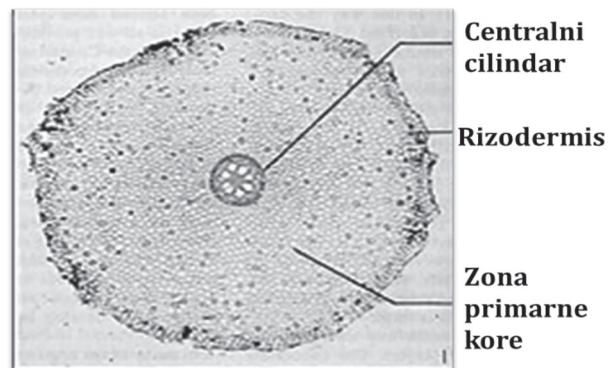
U Tabeli 3 prikazane su karakteristike nekih sorti cvekle.

Prilikom nepovoljnih proizvodnih uslova kao što su: zbijeno zemljište, loša obrada i vlažnost, može doći do deformacije oblika cvekle.

Na poprečnom preseku cvekle razlikuje se:

- ✓ Rizodermis,
- ✓ Primarna kora i
- ✓ Centralni cilindar (čine ga: ksilem, floem i osnovno parenhimsko tkivo)

Sekundarna građa nastaje kada se prvi listovi pojave i kada se ispod floema formira kambijum. Kambijum stvara sekundarni ksilem prema centralnom delu, a sekundarni floem prema periferiji, a između se stvara parenhim (Lazić et al., 1998). Poprečni presek cvekle prikazan je na slici 2.



Slika 2. Poprečni presek cvekle

Tabela 3. Osnovne karakteristike nekih sorti cvekla (Lazić et al., 1998)

Sorta	Koren – oblik	Koren – boja mesa	Dužina vegetacije	Namena
Egipatska	Pogačast	Crvena	Rana	Univerzalna
Detroitska	Okruglast	Crvena	Srednje rana	Univerzalna
Bicor	Okrugla	Crvena	Srednje rana	Industrija
Dweringa	Okrugla	Crvena	Srednje rana	Industrija
Erfurska	Cilindričan	Tamnocrvena	Kasna	Sveža
Bordo	Okruglast	Tamnoljubičasta	Srednje rana	Univerzalna
Ruby queen	Okruglast	Crvena	Rana	Industrija
Ruby detroit	Okrugla	Tamnocrvena	Srednje rana	Univerzalna
Nero detroit	Okrugla	Tamnocrvena	Srednje rana	Univerzalna
Cylindra	Cilindričan	Tamnocrvena	Kasna	Univerzalna

Težina korena može biti različita. Sitan koren je do 300 g, srednje krupan od 300 g do 600 g, a krupan iznad 600 g. Površina korena po strukturi može biti glatka, mrežasta i izbrazdانا, a po boji crvena, ljubičasta i boja kafe. Meso cvekla karakterišu unutrašnji koncentrični krugovi. Svetlij obojeni delovi su snopići, a tamniji delovi predstavljaju parenhim (Lazić et al., 1998). Izgled površine i unutrašnjosti različitih vrsta cvekle je prikazan na slici 3.



Slika 3. Izgled površine i unutrašnjosti različitih vrsta cvekle

2.2.1.3. Proizvodnja i čuvanje

Cvekla najbolje prinose daje na plodnom, aluvijalnom, dubokom zemljištu, koje je obogaćeno organskim materijama, sa pH vrednošću od 6,5 do 7. Na teškim i zbijenim zemljištima daje slabiji prinos i kvalitet, uz deformaciju oblika korena. Izuzetno bitno za kvalitet korena je da se formira ravnomerno, bez zastoja i uz dovoljnu količinu hranljivih supstanci u lako pristupačnoj formi (Lazić et al., 1998).

Cvekla zahteva puno kalijuma i bora, i dovoljno vlage, jer u suprotnom dolazi do pojave crnih pega na listu i korenu. Proizvodi se u prolećnom i letnjem periodu, i to:

- ✓ Direktnom setvom
- ✓ Iz rasada

Ubiranje ploda se obavlja ručno ili mehanizovano, kada koren dostigne 4-5 cm u prečniku.

Najbolji uslovi za čuvanje su:

- ✓ Temperatura 0-5 °C
- ✓ Vlažnost vazduha 90-95%

Pod ovakvim uslovima cvekla može da se čuva 3-5 meseci, a ako postoji ventilacija, tj. uslovi modifikovane atmosfere, i do 8 meseci (L. van der-Berg, 1981).

Visok sadržaj ugljen-dioksida u vazduhu (od 30 do 70%) vodi intenzivnijem metabolizmu cvekle. Ako se poveća cirkulacija vazduha, moguće je sprečiti nagomilavanje ugljen-dioksida i na taj način omogućiti duže čuvanje cvekle.

Cvekla koja se skladišti sa lišćem na sebi gubi oko 5% mase, dok cvekla bez lišća gubi do 7%. Prilikom gubitka mase nastaju i gubici u kvalitetu, askorbinskoj kiselini, karotenu, skrobu i proteinima. Kako koren cvekle sadrži 88% vode, visoka vlažnost u skladištu je neophodna da bi se smanjio gubitak vode tokom čuvanja.

Na temperaturama ispod 0 °C dolazi do zamrzavanja korena. Na cvekli se posledice zamrzavanja zapažaju već na -0,4 °C. Na temperaturi od 1 do 4 °C dolazi do gubitka betanina, čak do 10% tokom 6 meseci skladištenja (Ilić et al., 2009).

Koren cvekle bogat je nitratima i nitritima. Njihova količina zavisi od sorte, đubrenja, vremena berbe i agroekoloških uslova. U proseku, sadržaj nitrata se kreće od 250 mg/kg do 3100 mg/kg, a nitrita oko 1 mg/kg sveže materije.

Nitрати brže prelaze u nitrite na visokim temperaturama, što se može smanjiti pranjem cvekle pre skladištenja. Pranjem se smanjuje mogućnost da veći broj mikroorganizama bude prisutan na površini korena, koji utiču na bržu redukciju nitrata (Ilić et al., 2009).

2.2.2. Hemijski sastav cvekle

Od ugljenih hidrata u korenju cvekle je uglavnom zastupljena saharoza. Sadržaj proteina u cvekli nije značajan (oko 1,3%), za razliku od sadržaja amino-kiselina, među kojima se ističe betain, koji je posebno značajan za sintezu holina u ljudskom organizmu.

Koren cvekle bogat je mineralnim materijama koje su čovekovom organizmu potrebne za normalno funkcionisanje, kao što su kalijum, natrijum, fosfor, kalcijum, magnezijum, gvožđe, fluor, sumpor, jod itd (Vulić, 2012).

Energetska vrednost jestivog dela cvekle je: 36 kcal/100 g (Ilić et al., 2009). Šećer koji je prisutan u cvekli organizam mnogo lakše apsorbuje, pa je zato cvekla lako svarljiva, bez obzira na to što ima najveći sadržaj šećera od svega povrća. Sadržaj šećera u cvekli prikazan je u Tabeli 4, dok je sadržaj lipida prikazan u Tabeli 5.

Tabela 4. Sadržaj šećera u cvekli (<http://www.fineli.fi/>, preuzeto 29. 3. 2023)

Šećer	Sadržaj (g/100 g sirovine)
Fruktoza	0,13
Glukoza	0,48
Saharoza	6,68
Ukupni šećeri	7,14-7,30

Tabela 5. Sadržaj lipida u cvekli (<http://www.fineli.fi/>, preuzeto 29. 3. 2023)

Vrsta lipida	Sadržaj u 100 g uzorka
Ukupne masne kiseline (g)	0,2
Ukupne zasićene masne kiseline (g)	< 0,1
Ukupne mononezasićene cis masne kiseline (g)	< 0,1
Ukupne polinezasićene masne kiseline (g)	0,2
Masne kiseline 18 : 2; cis-9-cis-12- (linolna kiselina) (mg)	131
Masne kiseline 18 : 3; cis-9-cis-12-cis-15- (linoleinska kiselina) (mg)	22

„Zemljani” ukus koji cvekla ima potiče od geosmina, prirodnog bicikličnog terpena. Količina geosmina se može umanjiti kontrolisanim uzgojem, tako da se dobiju sorte cvekle sa dosta prijatnjim ukusom.

Koren cvekle ima bogat vitaminski sastav. Najviše ima vitamina A (30 mg) i vitamina C (10 mg), a u manjim količinama vitamina B1, B2, B3, B12. (Vračar, 2001). Sadržaj vitamina u cvekli prikazan je u Tabeli 6, dok je sadržaj mineralnih materija prikazan u Tabeli 7.

Tabela 6. Sadržaj vitamina u cvekli (<http://www.fineli.fi/>, preuzeto, 29. 3. 2023)

Vitamini	Sadržaj u 100 g uzorka
Vitamin A (µg)	0,6
Vitamin E (mg)	< 0,1
Vitamin K (µg)	3,0
Folna kiselina (µg)	150,0
Niacin (mg)	0,4
Riboflavin (mg)	0,05
Tiamin (B1) (mg)	0,05
Piridoksin (mg)	0,05
Karotenoidi (µg)	11,4

Tabela 7. Sadržaj mineralnih materija u cvekli (Vračar, 2001)

Mineralne materije	Sadržaj (mg/100 g)
K (kalijum)	260
Na (natrijum)	65,3
P (fosfor)	38
Ca (klcijum)	29
Mg (magnezijum)	1,2
Fe (gvožđe)	0,6

Najzastupljeniji pigment koji se nalazi u cvekli i daje mu crvenu boju je betanin. Betanin je odgovoran za suzbijanje virusa koji izazivaju prehladu, a takođe može da inhibira dejstvo bakterija i pomogne njihovom izbacivanju iz organizma.

Betanin se koristi i u prehrambenoj industriji kao prehrambena boja, kada je potrebno pojačati boju sosova, deserta, džemova, sladoleda i ostalih slatkiša (Kujala et al., 2000). Sadržaj betanina u korenu cvekla prikazan je u Tabeli 8.

Tabela 8. Sadržaj betanina u delovima korena cvekla (mg/g suve materije) (Kujala et al., 2001)

<i>Deo biljke</i>	<i>Betanin</i>	<i>Vulgaksantin I i II</i>	<i>Izobetanin</i>
<i>Pokožica</i>	3,8-7,6	1,4-4,3	1,2-3,1
<i>Meso</i>	2,9-5,2	1,6-4,0	0,02-0,4

U korenu cvekla nalazi se dosta dijetnih vlakana, koja omogućavaju pražnjenje creva i koja su uopšteno dobra za ceo digestivni trakt. U pet srednjih glavica cvekla nalazi se količina koja zadovoljava dnevnu potrebu organizma za vlaknima, a to je 30 g (Vulić, 2010).

Dijetna vlakna imaju i pokazuju značajna pozitivna dejstva na ljudski organizam, kao što su laksativno dejstvo, efekat smanjenja holesterola u krvi, smanjenje glukoze u krvi itd.

Konzumiranjem hrane bogate dijetnim vlaknima postižu se mnogi pozitivni zdravstveni efekti, kao npr. prevencija karijesa, zaštita epitela debelog creva, stvaranje osećaja sitosti, što je veoma pogodno kod smanjenja kilaže ili održavanje iste (Vulić, 2010). Sadržaj dijetnih vlakana u cvekli prikazan je u Tabeli 9.

Tabela 9. Sadržaj dijetnih vlakana u cvekli (Vulić, 2010)

<i>Komponenta</i>	<i>g/100 g suve materije</i>
<i>Suva materija</i>	12,3
<i>Ukupna dijetna vlakna</i>	2,5
<i>Nerastvorljiva dijetna vlakna</i>	1,4
<i>Rastvorljiva dijetna vlakna</i>	0,7
<i>Rastvorljiva dijetna vlakna</i>	
<i>Hemiceluloza</i>	2,3
<i>Pektin</i>	3,6
<i>Nerastvorljiva dijetna vlakna</i>	
<i>Hemoceluloza</i>	4,2
<i>Celuloza</i>	5,7
<i>Pektin</i>	1,5
<i>Ligin</i>	0,2

2.2.3. Antioksidativna i antimikrobna svojstva

Antioksidansi su različita jedinjenja koja štite organizam čoveka od štetnog delovanja slobodnih radikala, inhibirajući ili potpuno sprečavajući oksidaciju supstrata kao što su proteini, lipidi i DNK. Pigmenti cvekla su veoma efikasni antioksidansi, s obzirom na to da su odlični „hvatači“ slobodnih radikala.

Slobodni radikali su atomi, joni ili molekuli sa jednim ili više nesparenih elektrona, koji su veoma reaktivni, a nastaju raskidanjem kovalentnih veza u molekulima ili prenosom jednog elektrona

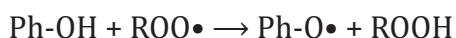
na drugi molekul (jon). S obzirom na to da se nespareni elektron uglavnom nalazi na kiseoniku ili azotu, razlikujemo tzv. *reactive oxygen species* (engl.) – *ROS* i *reactive nitrogen species* (engl.) – *RNS*. Tokom procesa oksidacije, koji podrazumeva uklanjanje jednog elektrona iz elektronskog para, molekul postaje nestabilan radikal koji napada biomolekule u svom okruženju. U slobodnoradikalским reakcijama se oštećuju proteini, lipidi, ugljeni hidrati i DNK. Slobodni radikali u reakciji sa biomolekulima prouzrokuju poremećaj ćelijske morfologije i funkcije, utičući na ionsku homeostazu i enzimsku aktivnost ćelija. „Grabeći“ elektrone susednih molekula, slobodni radikali razaraju ćelije i tkiva i izazivaju mnoge patološke promene i oboljenja: anemiju, artritis, pankreatitis, Parkinsonovu bolest, Kronovu bolest itd. (Diplock et al., 1998).

Naše telo stvara antioksidanse, ali u nedovoljnoj količini da se ono izbori sa svim slobodnim radikalima. Zato je neophodno unositi antioksidanse hranom. Ako je organizam snabdeven vitaminima i mineralima, kako bi mogao proizvoditi vlastite antioksidanse, i ako je hrana koju čovek jede bogata prirodnim antioksidansima, tada se on može efikasnije suprotstaviti dejству slobodnih radikala. U Tabeli 10 su prikazani najpoznatiji antioksidansi, kao i namirnice u kojima se oni nalaze.

Tabela 10. Antioksidansi i namirnice u kojima se nalaze

<i>Antioksidans</i>	<i>Hrana sa visokim sadržajem antioksidanasa</i>
<i>Vitamin C</i>	Voće i povrće
<i>Vitamin E (tokoferol)</i>	Ulje povrća
<i>Polifenoli (flavonoidi, rasveratrol)</i>	Voće, povrće, lekovito i medicinsko bilje, kafa, čaj, soja, čokolada, origano, crveno vino, cimet, maslinovo ulje
<i>Karotenoidi</i>	Voće i povrće

Antioksidansi su redukujuća sredstva koja se sama lako oksiduju i zato uspešno dovode do prekida slobodnoradikalnih lančanih reakcija oksidacije (Halliwell, 1994a). Antioksidansi mogu delovati kao hvatači slobodnih radikala, kao donori elektrona, kao agensi za razgradnju hidroperoksida lipida, koje transformišu u nereaktivne vrste, kao kompleksirajući agensi za jone metala, kao inhibitori dejstva nekih enzima itd. Ako dođe do poremećaja ravnoteže između stvaranja slobodnih radikala i njihovog uklanjanja antioksidansima, tada se javlja stanje u organizmu poznato pod nazivom oksidativni stres. U najvažnije prirodne antioksidante se ubrajaju: vitamini C i E, vitamin B3 u formi niacin, vitamini B2 i B6, koenzim Q10, β-karoten, likopen, lutein i fenolna jedinjenja. Antioksidativna aktivnost polifenola je rezultat njihove sposobnosti da budu donori vodonika, nakon čega nastaju manje reaktivni fenoksi radikali (Halliwell, 1994b).



Oksidativni stres, usled nastajanja slobodnih radikala kao što su superoksidni radikal ($\text{O}_2\cdot-$), hidroksilni radikal ($\text{OH}\cdot$), peroksidni radikal ($\text{ROO}\cdot$) i radikal azotnog oksida ($\text{NO}\cdot$) je glavni uzrok različitih patoloških poremećaja. Antioksidansi mogu sprečiti štetno delovanje slobodnih radikala tako što ih uklanjaju iz organizma i na taj način vrše njegovu detoksifikaciju. Brojne epidemiološke studije pokazale su da redovni unos hrane bogate antioksidansima značajno doprinosi smanjenju učestalosti različitih vrsta oboljenja. Veruje se da postoji veza između unosa hrane bogate antioksidantima i smanjenja oksidativnog oštećenja DNK (Halliwell, 1994c).

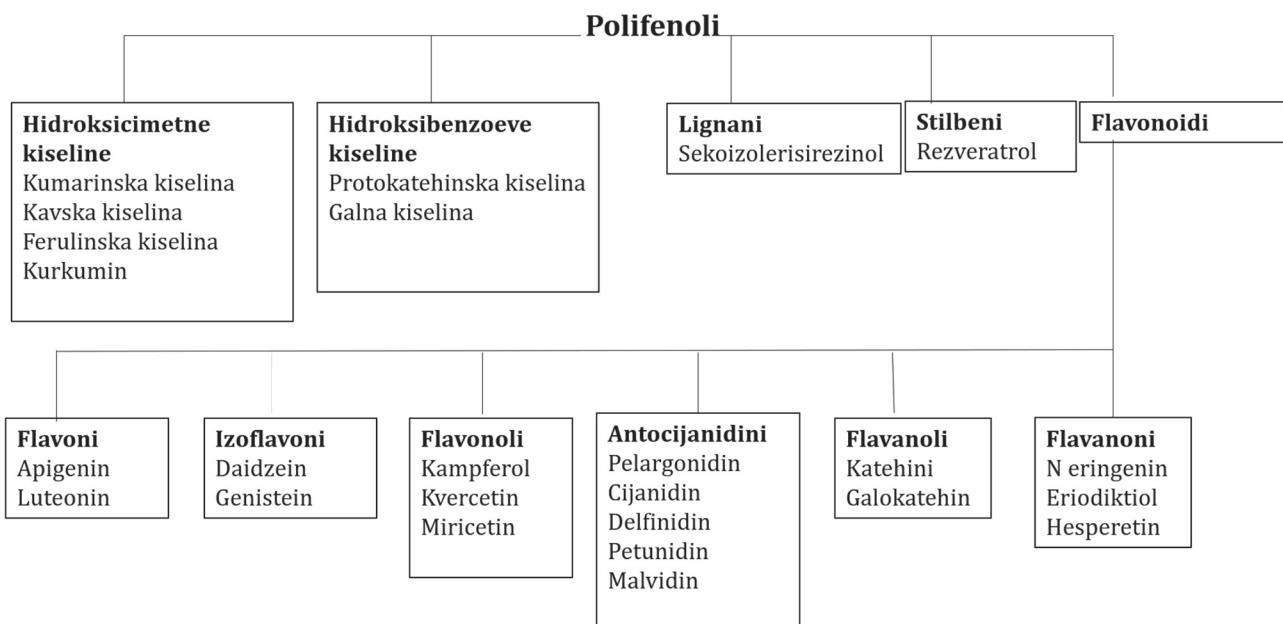
Cvekla je veoma bogata betalainima i fenolnim jedinjenjima, pa zbog toga ima izuzetno jaka antioksidativna svojstva. Najzastupljenija jedinjenja su: protokatehinska, vanilinska, *p*-kumarinska, *p*-hidroksibenzoeva, siringinska, kafena kiselina, katehin hidrat i epikatehin (Vulić, 2012).

Veliki broj eksperimenata koji je rađen, dokazao je antioksidativnu aktivnost betalaina u *in vitro* biološkoj lipidnoj sredini (Kanner et al., 2001; Tesoriere et al., 2003, 2005). Pokazana je *in vitro* zaštita protiv oksidativnog stresa na mijeloperoksidazama, lipidima membrana i na LDL (Kanner et al., 2001; Tesoriere et al., 2003). Nedavna istraživanja dokazala su i *in vivo* aktivnost betalaina. Eksperiment je rađen na volonterima koji su pili pulpu iz kaktusa i sok od cvekla. Sok od kaktusa je dokazao zaštitu LDL od oksidativnih promena, a sok od cvekla je odložio oksidaciju LDL-a (Tesoriere et al., 2004b).

Antimikrobik je agens koji uništava mikroorganizme ili zaustavlja njihov rast, i mogu se klasifikovati po funkciji. Mikrobicidi uništavaju mikrobe, a mikrobistatici inhibiraju njihov rast (Asif, 2017). Zbog velikog sadržaja polifenola, betalaina i askorbinske kiseline, cvekla pokazuje antibakterijsku aktivnost. Postoje mnoga istraživanja koja dokazuju antimikrobno svojstvo cvekla. Istraživanje koje je rađeno na bakteriji *L. monocytogenes* pokazalo je da se preživljavanje bakterije smanjivalo povećanjem koncentracije ekstrakta cvekla (Shaoying, 2022). Ovo sugerije da bi ekstrakt cvekla mogao da se primeni u tehnologiji hrane kao prirodni konzervans.

2.2.4. Fenolna jedinjenja cvekle

Polifenoli su jedinjenja koja u svojoj strukturi sadrže dve ili više hidroksilnih grupa na benzenovom prstenu. Smatra se da su oni sekundarni metaboliti biljaka i najviše se nalaze u semenjkama, kori drveća, lišću, cveću kao i pokožici voća i povrća. Polifenoli su, zbog svoje lekovitosti i arome, našli primenu u medicini, prehrabenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji (Pirjo Mattila et al., 2006). Podela fenolnih jedinjenja na grupe i podgrupe je prikazana na slici 4.



Slika 4. Podela fenolnih jedinjenja sa najznačajnjim predstavnicima

Flavonoidi predstavljaju jednu od najbrojnijih grupa prirodnih heterocikličnih jedinjenja koja u svojoj strukturi sadrže kiseonik (Robards et al., 1997, 1999). Flavonoidi se dele na: flavonole, flavone, flavane, antocijane, flavanone i izoflavone. Pored toga što su snažni antioksidansi, oni pozitivno utiču i na oštećene kapilare i vene i imaju sposobnost da spreče nastajanje trombova. Flavonoidi se koriste u prehrabenoj industriji kao dodaci hrani, radi sprečavanja oksidacije masti i zbog povećanja hranljive vrednosti namirnica.

Najpoznatiji flavonoidi su antocijani i oni predstavljaju biljne pigmente koji su rastvorni u vodi i, u zavisnosti od pH vrednosti sredine, mogu biti plavi, crveni ili ljubičasti. Antocijani sprečavaju

oslobađanje histamina i tako smanjuju alergijske reakcije i utiču na smanjenje oksidativnog stresa, a njihova antioksidativna aktivnost je 50 puta veća od vitamina E (Robards et al., 1997, 1999).

Poznato je da je cvekla bogat izvor fenolnih jedinjenja kao što su galna, *p*-kumarinska, ferulinska, vanilinska, *p*-hidroksibenzoeva i siringinska kiselina (Pirjo Mattila et al., 2006). Kako je poslednjih godina velika potražnja za funkcionalnom hranom u prehrambenoj industriji, cvekla je tu našla značajnu primenu. Ekstrakti samog korena i pokožice cvekle u polarnim rastvaračima pokazuju veliku antioksidativnu aktivnost (Rey et al., 2005). Najviše fenolnih jedinjenja u cvekli ima između tkiva korteksa i luske (50% ukupnih fenola), dok se količina preostalih fenola smanjuje prema središtu korena (Kujala et al., 2000). U lusci se od fenolnih jedinjenja nalaze: *p*-kumarinska i ferulinska kiselina, kao i ciklodopa-glukozid derivati (Kujala et al., 2000).

2.2.4.1. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline su jedinjenja koja su izgrađena od fenolnog prstena za koji je vezana karboksilna funkcionalna grupa. Dve važne podgrupe fenolnih kiselina čine hidroksibenzoeva kiselina i njeni derivati (C_6-C_1 skelet) i hidroksicimetna kiselina i njeni derivati (C_6-C_3 skelet). Struktura hidroksibenzoevih i hidroksicimetnih kiselina izvodi se iz benzoeve i cimetne kiseline, kao što je prikazano na slici 5. Varijacije u strukturi nastaju hidroksilovanjem ili metilovanjem aromatičnog prstena. U prirodi se od derivata benzoeve kiseline najčešće javljaju: vanilinska, *p*-hidroksibenzoeva, protokatehinska i siringinska kiselina. Veći deo fenolnih kiselina vezan je estarskim, etarskim ili acetatnim vezama sa celulozom, proteinima i ligninom biljaka, ili sa manjim organskim molekulima kao što su šećeri i druge organske kiseline (hininska, maleinska, vinska kiselina). Manji deo fenolnih kiselina je nađen u slobodnom obliku, npr. hidroksibenzoeva kiselina u slobodnom i esterifikovanom obliku je pronađena u veoma malom broju viših biljaka. Najčešće zastupljeni derivati cimetne kiseline su: ferulinska, *p*-kumarinska, kafena i sinapinska kiselina. Prisutne su najčešće u konjugovanim oblicima, kao estri hidroksikiselina (šikimska kiselina, hinska kiselina, vinska kiselina), ili kao njihovi glikozidi. Slobodne forme upućuju na enzymsku hidrolizu tokom ekstrakcije biljnog tkiva (Macheix et al., 1990; Shahidi i Naczk, 1995).



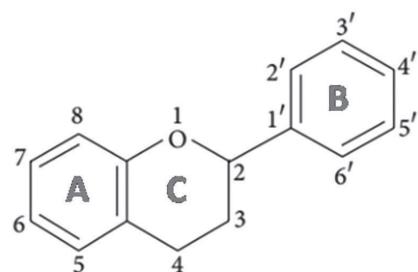
Kiselina	R1	R2	R3	R4	Kiselina	R1	R2	R3	R4
<i>p</i> -Hidroksibenzoeva	H	H	OH	H	<i>o</i> -Kumarna	OH	H	H	H
Galna	H	OH	OH	OH	<i>m</i> -Kumarna	H	OH	H	H
Vanilinska	H	OCH ₃	OH	H	<i>p</i> -Kumarna	H	H	OH	H
Salicilna	OH	H	H	H	Kafena	H	OH	OH	H
Genistinska	OH	H	H	OH	Ferulinska	H	OCH ₃	OH	H
Protokatehinska	H	OH	OH	H	Sinapinska	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Siringinska	H	OCH ₃	OH	OCH ₃					

Slika 5. Opšta struktorna formula derivata benzoeve (I) i cimetne kiseline (II) sa najzastupljenijim primerima

Prirodni derivati hidroksicimetne kiseline su *trans* izomeri, i najčešće se javljaju kao amidi i estri (Strack, 1997). Kovalentno su vezani za čelijski zid polisaharida i mogu se javiti konjugovani sa proteinima, aminima, flavonoidima, terpenoidima, amino-kiselinama, ugljenim hidratima i organskim kiselinama (Harborne, 1989; Strack, 1997). Istraživanje koje je rađeno na glikozidima i estrima hidroksicimetne kiseline u povrću, pokazalo je da svaka vrsta sadrži sopstveni skup komponenti, a da kod različitih sorti iste vrste komponente ostaju iste, samo u različitim odnosima (Winter i Herrmann, 1986). Derivati hidroksicimetne kiseline veoma su važne komponente čelijskog zida biljaka jer štite biljku od bolesti (Strack, 1997).

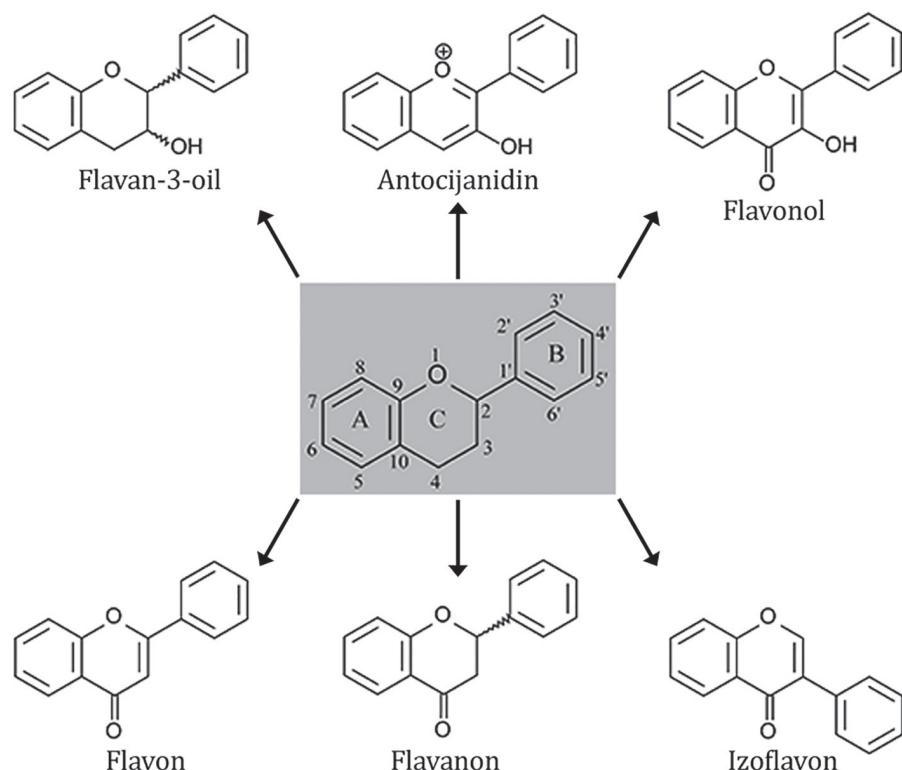
2.2.4.2. Flavonoidi

Osnovni strukturni skelet flavonoida čini 15 ugljenikovih atoma, od kojih devet pripada benzo-piranском prstenu; (benzenski prsten A kondenzovan sa piranskim prstenom C), a ostalih šest drugom benzenovom prstenu B. Osnovna struktura flavonoida je prikazana na slici 6.



Slika 6. Opšta strukturalna formula flavonoida

Do sada je izolovano i identifikovano oko 6000 jedinjenja iz grupe flavonoida. Flavonoidi se dele na osnovu stepena oksidacije piranovog prstena (C), kao i pozicije benzenovog prstena (B) (Robards et al., 1997). Najzastupljeniji su: flavoni, flavanoni, flavani, flavonoli, izoflavoni i antocijanidini. Na slici 7 su prikazane strukturne formule šest najčešćih podgrupa flavonoida (flavanoni, flavonoli, flavoni, flavonoli, flavan-3-oli i antocijanidini) (Waterman i Mole, 1994).



Slika 7. Strukturne formule najčešćih podgrupa flavonoida (Waterman i Mole, 1994)

Flavonoidi čine najveću grupu fenolnih jedinjenja. Rasprostranjeni su u biljnom svetu, gde se nalaze u svim delovima biljaka, uključujući lišće, bobice, semenke, koren, polen, koru, stabljike i cvetove (Harborne, 1989; Iwashina, 2000). Taksonomski povezane biljke proizvode slične tipove flavonoida (Markham, 1982). Tako se flavoni i flavonoli javljaju samo u spoljnim delovima biljaka i u lišću. Uloga flavonoida u biljkama je veoma značajna. Kada se nalaze na gornjoj površini lista ili u epidermu, štite od UV zračenja i dejstva insekata i biljojeda (Harborne i Williams, 2000). Svojim neprijatnim ili gorkim ukusom odbijaju insekte, kao npr. naringin u grejpfrutu (Parr i Bolwell, 2000). Antocijani daju boju cveću i voću, ali se retko javljaju u drveću (Harborne, 1989). Poznato je da biljke koje sadrže antocijane ne mogu u isto vreme sadržati i betalaine (Iwashina, 2000). Biljke se adaptiraju na specifične oprasivače, pa je tako cveće koje oprasuju ptice crveno, zbog prisustva antocijana, a ono koje oprasuju insekti je žuto, kao posledica prisustva karotenoida (Parr i Bolwell, 2000). Plava boja cveća potiče od antocijana sa jednim ili više metalnih katjona (Harborne i Williams, 2000).

2.2.4.3. Primena fenolnih jedinjenja

Fenolna jedinjenja, zajedno sa svim ostalim komponentama biljaka, od velikog su značaja za zdravlje ljudi (Strack, 1997). Količina koja se koristi u svakodnevnoj ishrani zavisi od zrelosti biljke, uslova gajenja, ali i navika u ishrani, pa nije uvek jednostavno odrediti količinu koju čovek konzumira na dnevnom nivou (Clifford, 1999). Naučno su dokazana mnogobrojna fenolna jedinjenja u prirodnim proizvodima: hlorogenska kiselina u kafi, flavoni i flavonoli u luku i zelenom povrću, ferulinska kiselina u žitaricama i cvekli, katehin u čaju, jabuci i grožđu, izoflavonoidi u mahunarkama (Parr i Bolwell, 2000).

Pored nutritivnih karakteristika i antioksidativnih svojstava, fenoli imaju uticaj na organoleptička svojstva kao što su boja, ukus i aroma (Decker, 1995; Fleuriet et al, 1996). Fenolna jedinjenja imaju veliki uticaj na prihvatljivost, stabilnost i kvalitet prehrabnenih proizvoda, ali pored toga, njihovom oksidacijom dolazi do promene boje, što loše utiče na krajnji proizvod, osim kod proizvodnje čaja i kakao praha, gde je ova promena boje poželjna (Ho, 1992).

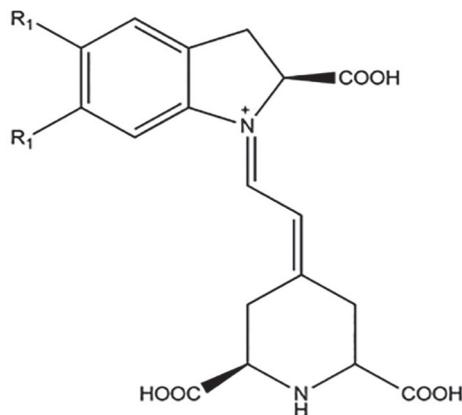
Iz godine u godinu sve više se povećava interesovanje za fenolnim jedinjenjima, tj. za njihovim uticajem na zdravlje čoveka (Croft, 1999). Fenolna jedinjenja razgrađuju hidroperokside lipida, redukuju krvni pritisak, sprečavaju agregaciju trombocita, vrše modulaciju enzima koji učestvuju u detoksikaciji, kontrolišu koncentraciju steroidnih hormona i imaju antibakterijsko i antivirusno dejstvo. Fenolna jedinjenja, među kojima posebno flavonoidi, imaju antialergijsku, antioksidativnu, antikancerogenu i antiinflamatornu aktivnost (Harborne i Williams, 2000), tako da nije neuobičajeno što kako laici, isto tako i lekari, od daleke prošlosti koriste fenolna jedinjenja za lečenje raznih bolesti kao što su: dijabetes, alergija, prehlada, paradentoza, glavobolje, infekcije (Havsteen, 1983).

Najviše istražena grupa fenolnih jedinjenja su flavonoidi (Dillard i German, 2000), a najveći izvor flavonoida su voće i povrće, mada ih u značajnim količinama ima i u: čaju, kafi, kakaou, crvenom vinu i pivu (Strube et al., 1992). Kvalitet i sadržaj flavonoida ne zavisi samo od kvaliteta i zrelosti biljke, već i od uslova gajenja i klimatskih faktora (Parr i Bolwell, 2000; Strube et al., 1992). Jedan od podataka pokazuje da se u Velikoj Britaniji koristi 25-1000 mg derivata hidroksicimetne kiseline, koje stanovnici uglavnom unesu kroz citruse, kafu i mekinje (Clifford, 1999). Derivati hidroksicimetne kiseline mogu biti prekursori vinilfenola, koji daju aromu prehrabnenim proizvodima (Naim et al., 1992).

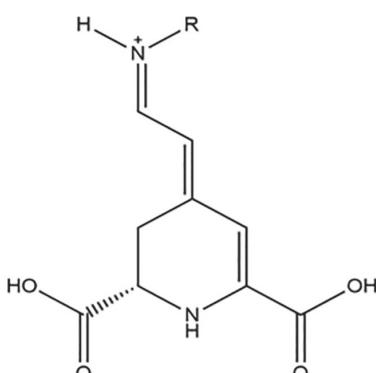
2.2.5. Pigmenti cvekle

Glavni pigmenti cvekle su betalaini. Betalaini se nalaze u vakuolama, hidrofilne su prirode i najbolje se rastvaraju u vodi, a malo slabije u etanolu i metanolu.

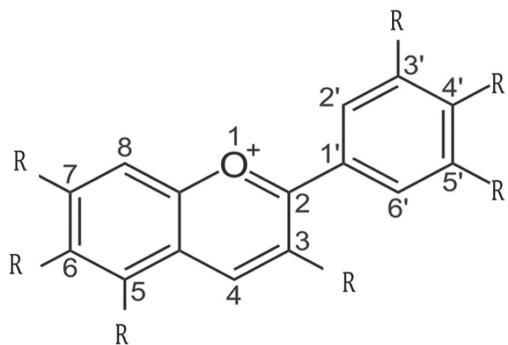
Betalaini su azotni derivati betalainske kiseline i podeljeni su na crveno-ljubičaste betacijane i žuto-narandžaste betaksantine. Strukturne formule betacijana i betaksantina su prikazane na slikama 8 i 9. Njihova glavna uloga je da svojom bojom privlače opršivače (Piattelli, 1981), a takođe štite biljke od UV zračenja (Sepulveda-Jimenez et al., 2004). Betalaini su prisutni u samo 13 familija reda *Caryophyllales*, i kod gljiva *Amanita muscaria* (Steglich i Strack, 1990), za razliku od antocijana, koji imaju mnogo širu rasprostranjenost. Betalaini i antocijani se nikad ne nalaze u istoj biljci (Mabry i Dreiding, 1968), što ukazuje na to da u biljnog tkivu zamjenjuju jedni druge. Poznato je da su se antocijani pojavili pre betalaina na skali evolucije (Vogt et al., 1999). Strukturna formula antocijana prikazana je na slici 10.



Slika 8. Strukturna formula betacijana



Slika 9. Strukturna formula bataksantina



Slika 10. Strukturna formula antocijana

Betalaini su veoma osetljivi na prisustvo sumpor-dioksida, metala, svetlosti, visoku enzimsku i vodenu aktivnost, na pH i na visoke temperature (Pedreno i Escribano, 2001).

Betalaini cvekle su najstabilniji na pH 5,5-6. Gubitak boje se dešava na pH ispod 3, a bazna sredina utiče na razlaganje betalaina na prekursore, što takođe vodi gubitku boje. Iz ovih razloga betalaini su pogodni za upotrebu u niskokiseloj hrani, kao što su mesni i mlečni proizvodi, i sladoled. Betačijani su postojaniji na pH iznad 7, a betaksantini na pH oko 7 (Jackman i Smith, 1996).

Povećana aktivnost vode štetno utiče na boju jer se sa povećanjem količine vode povećava i mobilnost komponenti, kao i kiseonika, što dovodi do nestabilnosti betalaina. Da bi se obezbedila stabilnost tokom transporta i skladištenja, betalaini se pripremaju koncentrovanjem ili sušenjem (Delgrado-Vargas et al., 2000; Socaciu, 2007).

Enzimi, kao što su: β -glukozidaze, polifenoloksidaze i peroksidaze hidrolizuju pigmente, koji zatim podležu oksidaciji. Polifenoloksidaze i peroksidaze biljnog tkiva se inaktiviraju dejstvom topote, kao i zakišeljavanjem (Jackman i Smith, 1996). Metalni joni, koji potiču sa ploda, zemljišta ili mašine za preradu i obradu, takođe uzrokuju gubitak boje. Joni koji su naročito odgovorni za gubitak boje cvekla su: Sn^{2+} , Al^{3+} , Ni^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} i Cu^{2+} (Pasch i Von Elbe, 1979). Kiseonik takođe nepovoljno utiče na stabilnost betalaina, posebno kada je pH vrednost izvan optimalnih vrednosti. Da bi se oksidacija betalaina izbegla, preporučuje se skladištenje na nižim temperaturama (Delgrado-Vargas et al., 2000).

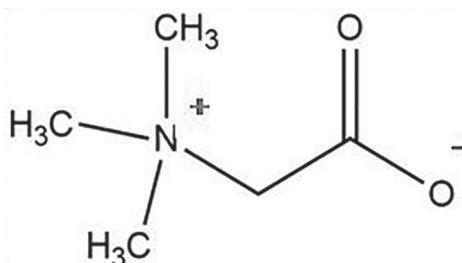
Betalaini brzo apsorbuju svetlost, što ubrzava degradaciju, posebno u prisustvu kiseonika (Jackman i Smith, 1996). Temperatura ima najveći uticaj na stabilnosti betalaina. Termičkom obradom postiže se inaktivacija enzima i sprečava se mikrobiološko kvarenje. Pre sterilizacije dodaje se limunska kiselina, kako bi se pH vrednost održala na oko 4 (Socaciu, 2007).

Najpoznatiji pigment izolovan iz cvekla je betanin (Nilsson, 1970). Koristi se kao prirodna crvena boja u prehrambenoj industriji (E162), koja je odobrena od strane Evropske unije.

2.2.6. Betain kao funkcionalni sastojak

Betain je azotno, organsko jedinjenje ($\text{N,N,N-trimetilglicin}$, glicin betain), koje je prvi put pronađeno u soku šećerne repe. Po njoj je i dobio ime (*Beta vulgaris* – betain). Šećerna repa i danas predstavlja glavni izvor betaina i u njoj ga ima oko 0,2-0,3%. Na tržištu je komercijalno dostupan betain koji je dobijen ekstrakcijom nusproizvoda iz procesa proizvodnje šećera iz šećerne repe. Osim u šećernoj repi, betain je prisutan u hrani biljnog i životinjskog porekla u različitim koncentracijama. Količina betaina u namirnicama biljnog porekla zavisi od vrste hrane, načina gajenja biljke koja je izvor betaina i klimatskih uslova (Kojić, 2018).

Betain je metil derivat amino-kiseline glicina, $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$, koji se takođe može smatrati metilaminom (Yancey et al., 1982). Na slici 11 prikazana je struktorna formula betaina.



Slika 11. Struktorna formula betaina

U SAD se betain smatra supstancom bezbednom za korišćenje (GRAS – *Generally Recognized As Safe*), a u Evropi je Evropska komisija (Commission Regulation EU 432, 2012) dozvolila korišćenje betaina u hrani kao zdravstveno bezbedno u količini od najmanje 500 mg po porciji hrane.

Betain je dostupan u 3 komercijalna oblika, i to kao:

- ✓ Prirodni anhidrovani betain
- ✓ Sintetski anhidrovani betain
- ✓ Betain hidrohlorid

Betain se može dodavati u hranu ili se koristiti kao suplement.

2.2.6.1. Izvori betaina

Ljudski organizam dobija betain preko hrane koja ga sadrži. Kako betain pomoću holin dehidrogenaze može ireverzibilno da se sintetiše iz slobodnog holina, ne spada u esencijalne nutrijente (Craig, 2004). Međutim, ova endogena sinteza ne obezbeđuje dovoljne količine betaina, pa je ipak neophodan njegov dodatni unos hranom.

Betain je prisutan u morskim plodovima, cvekli, beloj repi, pšeničnim mekinjama, škampima, spanaću (De Zwart et al., 2003). Betain je veoma otporan na enzimske i hemijske agense, te se nakon svih faza prerade šećerne repe taloži u melasi.

Betain se u 100 g određene vrste hrane nalazi u sledećim količinama (Zeisel et al., 2003):

- ✓ Pšenične mekinje: 1339 mg
- ✓ Pšenične klice 1241 mg
- ✓ Spanać 645 mg
- ✓ Prezla 237 mg
- ✓ Škampi 218 mg
- ✓ Beli hleb 201 mg.

Sadržaj betaina u različitim vrstama prehrambenih proizvoda prikazan je takođe u Tabeli 11.

Betaina ima najviše u žitaricama. U žitaricama celog zrna ima više betaina nego u proizvodima od belog brašna (Ross et al., 2014). Sadržaj betaina u proizvodima na bazi žitarica prikazan je u Tabeli 12. Količina betaina takođe zavisi i od uslova pod kojim se gaji (Slow t al., 2005). Betaina će više biti u usevima koji su bili pod sušom nego u usevima koji su redovno navodnjavani. Dokazano je da se kuvanjem gubi od 60 do 80% betaina (De Zwart et al., 2003). Kako je betain rastvorljiv u vodi, ima ga više u namirnicama koje su kuvane u vodi nego u istim suvim namirnicama. Sadržaj betaina u nekim bezglutenским namirnicama prikazan je u Tabeli 13, gde je iznos do 150 µg/g.

Tabela 11. Sadržaj betaina u različitim uzorcima hrane (Slow et al., 2005)

Hrana	Sadržaj betaina (µg/g)				Sadržaj betaina (µg/g)				Sadržaj betaina (µg/g)			
	vrsta 1		vrsta 2		vrsta 1		vrsta 2		vrsta 1		vrsta 2	
	vrsna 1	vrsna 2	vrsna 1	vrsna 2	vrsna 1	vrsna 2	vrsna 1	vrsna 2	vrsna 1	vrsna 2	vrsna 1	vrsna 2
Hleb	beli	360	520		avokado	35	3		crni	120	50	
	od celog zrna	560	620		grožđe crveno	trag.	trag.	Čaj	biljni	51	91	
	mekinje	2300	7200	Voće sveže	grožđe zeleno	trag.	trag.		koka-kola	-	-	
Žitarice	kukuruzne pahuljice	7	6		nekatarine	-	-		Alkoholna pića	vino belo <i>chardonnay</i>	trag.	trag.
	musli	270	440		jagode	-	trag.		Pivo	točeno	77	58
	pšenični	2500	1900		ananas	trag.	trag.			svetlo pivo	57	60
Peciva	čokoladni	160	160	Voće sušeno	šljiva	trag.	trag.	Meso	usoljena govedina	83		
	kukuruzni	73	21		suvo grožđe	trag.	trag.		ovčetina	180	62	
Flips	nacho čips	trag.	11		pečeni pasulj	trag.	trag.	Sveže	slanina	49	97	
	sveža	1400	1300		biber (crveni)	trag.	12		šunka	95	81	
Testenina	špagete (konz. u sosu)	18	50	Povrće konz.	biber (zeleni)	24	31		pohovani pileći komadići	140	280	
	nudle	1400	990		paradajz (voće)	-	-	Ostalo	pita od mesa	240	240	
Ostalo	obična torta	270	170	Paradajz (sok)	trag.	-			kobasice govede, nekuvano	320		
				Povrće sveže	asparagus	45	33					

		Sadržaj betaina (µg/g)		Sadržaj betaina (µg/g)		Sadržaj betaina (µg/g)	
		vrsta 1	vrsta 2	vrsta 1	vrsta 2	vrsta 1	vrsta 2
Ostalo	krekeri obični	1300	1000	luk	–	Ostalo	pileća supa u prahu
	krekeri pirinčani	6	trag	krompir oljušten	38 37		71 180
	mafin sa borovnicom	120	160	krompir neoljušten	39 26	losos	23 20
Voće konz.	pogačice sa sirom	440	550			Konzervisana riba	tuna
	kajsije (voće)	trag.	–				ribi
	kajsije (đus)	trag.	trag.	zrnasta	31 30	Mleko	čokoladno
Voćna salata				Instant kafa		homog.	6
	voćna salata	–	–	u prahu	62 68	sojino	trag.
						brie	28 7
						edam	54 67
						trag.	trag.

Tabela 12. Sadržaj betaina u proizvodima na bazi žitarica

Hrana	Tip i poreklo	Sadržaj betaina ($\mu\text{g/g}$)	Referenca
Brašno	Nisu naznačeni	270-1110	De Zwart et al., 2003.
Testenina	Nisu naznačeni	480-1350	
Ovas		200-1000	
Testenina	<i>Spirala: nekuvana,</i> kuvana	1449 228	
	<i>Organska: nekuvana,</i> kuvana	1472 352	
	<i>Sveža: nekuvana,</i> kuvana	1139 271	
Pogačice	<i>Pre pečenja</i>	296	
	<i>Pečene</i>	245	
Hleb	<i>Od belog brašna</i>	200	Ross et al., 2014.
	<i>Od celog zrna</i>	550-1000	
Testenina	<i>Od belog brašna</i>	650	
	<i>Od celog zrna</i>	700-1200	
Flips proizvodi	<i>Od belog brašna</i>	100-200	
	<i>Od celog zrna</i>	300-500	
Cerealije za doručak	<i>Od belog brašna</i>	100-200	
	<i>Od celog zrna</i>	600-1100	
Hleb	<i>Od belog brašna</i>	360-520	Slow et al., 2005.
	<i>Od celog zrna</i>	670-790	
Pšenične mekinje		2300-7200	
Musli		270-440	
Peciva		160-430	
Torta		170-270	
Krekeri		1000-1300	
Pogačice sa sirom		440-500	
Testenina	<i>Sveža</i>	1300-1400	
	<i>Instant nudle</i>	990-1400	

Tabela 13. Sadržaj betaina u različitim bezglutenskim sastojcima i proizvodima (Ross et al. 2014)

Hrana	Tip i poreklo	Sadržaj betaina ($\mu\text{g/g}$)	Referenca
Bazirana na kukuruzu	Zrno	< 5	De Zwart et al., 2003, Slow et al., 2005.
	Kukuruzne pahuljice	6-7	
	Ekstrudirani Kukuruzni flips	21-73	
Komercijalna bezglutenska hrana	Nije specifikovano	tragovi	
Kinoa		4000	
Pirinač	Beli, sirov	2	Ross et al., 2014.
	Braon, sirov	3	

2.2.6.2. Apsorpcija i metabolizam betaina

Betain se transportuje kroz organizam pomoću Y-aminobutanske kiseline, i apsorbuje se u tankom crevu 1-2 sata nakon obroka (Kettunen et al., 2001a), nakon čega se u serumu nalazi u konstantnoj koncentraciji od 20 do 70 $\mu\text{mol/l}$. Betain se ne izlučuje iz ljudskog organizma, već se isključivo metaboliše. U urinu se može naći jedino kod osoba koje imaju problem sa bubrežima i koje boluju od dijabetesa. Kako betain u velikim koncentracijama može da poremeti odnos crvenih krvnih ćelija, maksimalna dnevna doza je 9-15 g (Schwahn et al., 2003).

2.2.6.3. Glavne biološke funkcije betaina: osmoregulacija i antioksidativna aktivnost

Betain ima dvostruku funkciju:

- ✓ Doprinosi očuvanju osmotske ravnoteže i održavanju tercijarne strukture molekula, i
- ✓ Donor je metil grupa koje su neophodne za odvijanje brojnih biohemijских reakcija, prvenstveno u jetri i bubrežima

Prilikom sušnih perioda dolazi do sinteze betaina u mitohondrijama biljaka i do njegovog koncentrisanja u ćelijama, tako da biljke ostaju zaštićene od visokih temperatura. Kod sisara betain štiti ćelije bubrega od osmotskog stresa i ne dozvoljava nakupljanje otpadnih produkata metabolizma u urinu (Burg et al., 2007).

Zapaženo je da unos betaina značajno doprinosi sniženju homocisteina kod osoba obolelih od bubrežne insuficijencije (Brouwer et al., 2000; Wilken et al., 1983)

Usled nedostatka betaina dolazi do:

- ✓ Poremećaja metionina i
- ✓ Hepatične lipidoze (masne jetre)

Zbog svega navedenog betain je izazvao veliko interesovanje kod nutricionista jer njegov pojačan unos vodi zaštiti ćelijskih membrana unutrašnjih organa, što posledično smanjuje faktore rizika za pojavu vaskularnih oboljenja i poboljšanje fizičke snage. Holin, betain, metionin, $\text{CH}_3\text{-THF}$ i vitamini B6 i B12 su povezani metaboličkim putevima, kako bi se formirao metionin iz homocisteina. U ovom ciklusu transmetilacije nastaje S-adenozil-metionin (SAM), koji ima ulogu glavnog donora metil grupe. SAM učestvuje i u raznim drugim procesima kao što su: sinteza DNK, RNK, sinteza karnitina, kreatina, neurotransmitera, regeneracije tkiva i sinteze fosfolipida (Craig, 2004).

Osmoregulacija

Za pravilno funkcionisanje ćelija neophodna je konstantna količina vode. Ćelije akumuliraju ne-organske jone (K^+ , Na^+ i Cl^-) i organske osmoregulatore (amino-kiseline, metil-amine i šećerne alkohole) kako bi se prilagodile osmotskom pritisku. Međutim, u većim količinama oni mogu da utiču na enzimsku funkciju i proteinsku strukturu (Burg et al., 1994). Betain je organski osmoregulator, koji zbog svoje dipolarne strukture i dobre rastvorljivosti u vodi ne utiče na funkcionisanje enzima i ne ometa metaboličke procese u ćeliji (Yancey et al., 1982). Betain se ne vezuje za površinu proteina i omogućava ćelijama da kontrolišu napon vode na površini bez destabilizacije lipaze (Yancey et al., 1982).

Antioksidativna aktivnost

Istraživanja koja su poslednjih godina rađena na betainu, pokazala su njegov značajan uticaj na zdravlje ljudi (Alirezaei et al., 2012).

Osobe koje imaju povećan nivo homocisteina u organizmu imaju rizik od kardiovaskularnih bolesti, demencije i raznih drugih metaboličkih poremećaja. Velike količine homocisteina uzrokuju oštećenje krvnih sudova. Krvni sudovi pucaju i na tom mestu dolazi do upalnog procesa, napada slobodnih radikala i oksidacije holesterola niske gustine, koji se onda lepi za pukotinu, praveći suženje krvnog suda. Ovo sve može dovesti do infarkta miokarda i moždanog udara (Seshadri et al., 2002).

Betain ovde pokazuje značajnu aktivnost. Hidrofobne metil grupe i hidrofilna karboksilna grupa betaina stvaraju čvrstu zaštitnu membranu oko ćelija i na taj način sprečavaju oksidativni stres i oštećenje ćelija (Zhang et al., 2016).

Uloga betaina u prevenciji bolesti jetre i srca

Relativno nov termin koji opisuje široki spektar oštećenja jetre je *NAFLD* (engl. *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*). Do ovog oštećenja dolazi usled gojaznosti, konzumiranja aditivne i masne hrane, kao i zbog insulinske rezistencije. Betain je lipotrop koji smanjuje akumuliranje masti u jetri, a razna klinička ispitivanja su pokazala da se unosom betaina može znatno smanjiti nivo bilirubina, kontrolisati dijabetes i uvećana jetra vratiti na normalnu veličinu (Craig, 2004).

Betain, koga ima u celom zrnu žitarica i crvenom vinu, može takođe pozitivno uticati na sprečavanje koronarnih bolesti i bolesti srca (Craig, 2004) tako što poboljšava srčanu funkciju i snižava krvni pritisak. Betain takođe poboljšava odnos serumskih fosfolipida i holesterola. Dovoljna koncentracija betaina vodi smanjenju boli i olakšavanju disanja kod angine pektoris, kao i povećanju tolerancije na fizički napor.

Kombinacija izbalansirane ishrane, dovoljnog unosa omega masnih kiselina i vitamina B12 sa potrebnom količinom betaina može umanjiti smrtnost osoba sa arterosklerozom (Craig, 2004).

2.2.6.4. Stabilnost betaina u proizvodima na bazi žitarica

Sadržaj betaina u hrani veoma varira, u zavisnosti od tipa namirnice i načina pripreme.

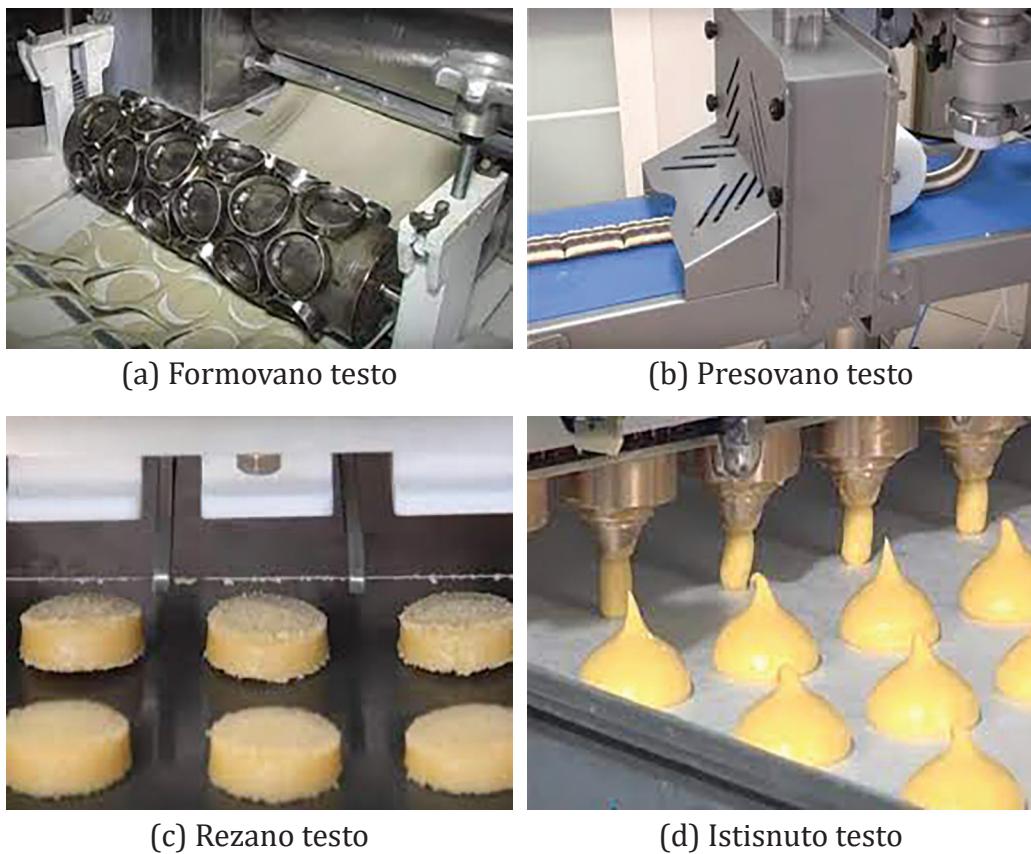
Pokazano je da do najvećeg gubitka dolazi prilikom ključanja u vodi, a najmanjeg tokom korišćenja mikrotalasne peći. Kako se betain rastvara u vodi, najveći gubitak (76-84%) zabeležen je prilikom kuvanja testenina jer se voda u kojoj je betan rastvoren odvaja od kuvane testenine (Ross et al., 2014). Prilikom pečenja nađeno je da gubitak betaina iznosi oko 17% (Zwart et al., 2003).

Međutim, u pečenom hlebu je sadržaj betaina jako nizak (gubitak je oko 90%). Ovo je posledica toga što pekarski kvasac *Saccharomyces cerevisiae*, koji se koristi u proizvodnji hleba, koristi betain kao izvor azota (Filipčev et al., 2018). Pecivo koje je napravljeno sa određenim sadržajem betaina, bez upotrebe pekarskog kvasca, mogao bi biti dobar izvor betaina, koji bi imao povoljan uticaj na zdravlje ljudi (Filipčev et al., 2016).

2.3. ČAJNO PECIVO

2.3.1. Opis i opšte karakteristike

Čajno pecivo je proizvod od testa izrađenog od brašna žita i drugi mlinских proizvoda, masnoća, šećera i drugih namirnica (Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za fine pekarske proizvode, 2016). Ono što razlikuje čajno pecivo od drugih vrsta peciva je veći sadržaj šećera i najmanje 10% masti u proizvodu. Glavni sastojak čajnog peciva je pšenično brašno, a dok prisustvo masti i šećera daje nerastegljivo, neelastično, plastično i kohezivno testo sa minimalnom formiranom mrežom glutena (Faridi i Faubion, 2012). U strukturi pečenog čajnog peciva nema kontinuirane proteinske matrice. Mast je ili prisutna u obliku velikih makula ili u obliku većih masa između proteina i skroba. Shodno ovim karakteristikama, čajno pecivo ima tendenciju povećanja dimenzije tokom pečenja, uz dobijanje relativno grube teksture gotovog proizvoda. Kako čajno pecivo omogućava upotrebu široke palete sirovina, njegova proizvodnja na tržištu razvijenih zemalja prednjači u odnosu na ostalu vrstu peciva (Manley, 2001). Postoje četiri grupe proizvoda u okviru assortimenta čajnog peciva: formovano, presovano, rezano, istisnuto. Razlikuju se po sirovinskom sastavu, načinu na koji se oblikuju, izgledu gornje površine, veličini i krajnjem obliku (slika 12). Formovano čajno pecivo ima veliki udio masti i sadržaj vlage od 14 do 16%. Dobija se utiskivanjem kalupa. Ovakvo čajno pecivo na površini ima oštре ivice i podjednako raspoređene šupljine. Presovano testo ima veći procenat vlage (20-24%). Pre pečenja testo mora odmoriti 1-2 sata, a dobija se potiskivanjem kroz kalup. Dobijene trake se potom seku na željenu dužinu. Rezano čajno pecivo ima od 18 do 26% vlage i visinu oko 40 mm, sa oštrim ivicama i hrapavom površinom. Oblikuje se bez prethodnog odmaranja. Testo se prethodno potiskuje kroz kalupe a njegov oblik dobija rezanjem žicom. Istisnuto testo mora imati mekšu konzistenciju jer se dobija istiskivanjem kroz kalupe manjeg prečnika, koji staje u uspravnom položaju. Pečeno čajno pecivo ima oštре ivice, zrnastu i finu strukturu a pri žvakanju je krto, trošno i brzo omekšava (Gavrilović, 2003). Reološke karakteristike su izuzetno bitne jer utiču na obradu testa kao i na kvalitet pečenog čajnog peciva. Testo koje nije u stanju da zadrži svoj oblik ili oblik modle tokom pečenja nije poželjno i uglavnom su to visokoelastična testa. Sastav testa veoma utiče na reološka svojstva, kao i na sam kvalitet gotovog proizvoda. Povećanjem sadržaja šećera, masti ili vode smanjuje se elastičnost i povećava stepen širenja, dok emulgatori smanjuju elastičnost testa. Veća količina proteina i glutena dovodi po povećanja elastičnosti i smanjenja stepena širenja. Dodatkom vlakana smanjuje se rastegljivost od koje zavisi ekspanzija gasnih ćelija tokom pečenja (Bloksma i Bushuk, 1988). Rok trajanja čajnog peciva je od 6 do 8 meseci. U ovom periodu oni su mikrobiološki stabilni, ako se pravilno skladište. Izuzetak je čajno pecivo sa većim sadržajem vlage. Njegov rok trajanja je dosta kraći jer vlaga utiče na mogućnost pojave plesni i pogoršanje ukusa tokom vremena. Svaka promena u načinu skladištenja može uticati na ukus, tvrdoću i izgled čajnog peciva. Vremenski period u kojem čajno pecivo zadržava karakteristike umnogome zavisi od vrste ambalaže, njene formulacije i dizajna (Manley, 2001).



Slika 12. Način obrade čajnog peciva (Gavrilović, 2003)

2.3.2. Čajno pecivo sa funkcionalnim dodacima

Čajno pecivo ima koncentrovani slatki ukus, visoku energetsku vrednost i visok sadržaj masti i šećera, i kao takvo, može imati nepovoljan uticaj na zdravlje ljudi, što predstavlja njegov primarni nedostatak. Kako su čajna peciva veoma popularna, kako zbog svog ukusa i trajnosti, tako i zbog lakog načina čuvanja i skladištenja i relativno niske cene, konzumira ga veliki deo populacije, a naročito je omiljen među decom (Pajin, 2009).

Masnoće predstavljaju važan sastojak koji čajnom pecivu daje punoću ukusa i intenzivnu aromu, a kako je sve veće interesovanje potrošača za zdravijim proizvodima, sprovode se istraživanja koja se zasnivaju na poboljšanju funkcionalnosti, hranljive vrednosti i izmeni sastava čajnog peciva.

Prvi koncept funkcionalne hrane razvijen je u Japanu, gde je ministarstvo Japana predložilo kategorisanje namirnica korisnih po zdravlje, koje su striktno odvojene od farmaceutskih proizvoda. Po ovom kriterijumu, hrana ima tri bitne funkcije na organizam (Rodriguez et al., 2009):

1. Rast tela i održavanje životnih funkcija – hranljiva funkcija
2. Senzorna interakcija sa pojedinim komponentama – funkcija ukusa
3. Prevencija bolesti i očuvanje zdravlja – odbrambena funkcija

Po istom kriterijumu je naglašeno da ako proizvod ispunjava treći zahtev, svrstava se u kategoriju funkcionalne hrane. Kako ne postoji tačno definisana formula funkcionalne hrane, u Evropskoj uniji je 1998. godine usvojen konsenzus pod nazivom „*Scientific Concepts of Functional Foods in Europe*”, u kome je prihvaćena definicija funkcionalne hrane: „Namirnica se može smatrati funkcionalnom ukoliko je na zadovoljavajući način pokazano da povoljno utiče na jednu ili više ciljnih funkcija organizma, van okvira uobičajenih nutritivnih efekata i na način koji je značajan za opšte zdravstveno stanje ili smanjenje rizika od bolesti” (Diplock et al., 1999).

Funkcionalna jedinjenja su ta koja određuju funkcionalnost namirnicama. Funkcionalna jedinjenja su: prehrambena vlakna, polifenoli, karotenoidi, masne kiseline, biljni steroli, prebiotici i probiotici, fitoestrogeni, proteini, vitamini i minerali (Kapsak, 2011).

Ovo se, na primer, može postići povećanjem udela integralnih sastojaka. Na ovaj način se ne obezbeđuje samo veća dostupnost vlakana, već se povećava i kvalitet proteina, mineralnih materija i probiotska sposobnost (Vitali et al., 2009). Osim integralnog pšeničnog brašna, kao funkcionalni dodatak se takođe koriste heljdino i ječmeno brašno, čime se, osim povećanog sadržaja proteina, nadoknađuju i pojedine amino-kiseline: triptofan, lizin, metionin (Park et al., 2015; Villemejane et al., 2015). Kako je čajno pecivo, zbog svoje široke rasprostranjenosti i jednostavnog sastava, dobar medij za inkorporaciju funkcionalnih dodataka, brojna istraživanja su rađena kako bi se od čajnog peciva dobio funkcionalni proizvod (Manley, 2001). Pecivo obogaćeno proteinima već dugo se koristi kao specijalna hrana za decu u nerazvijenim zemljama. Takođe postoje i čajna peciva, i proizvodi srodnii pecivu, koji su bezbedni za osobe sa raznim alergijama na laktozu, jaja, gluten, lešnik, tako što su pšenično brašno i maslac zamenjeni drugim funkcionalnim namirnicama. Veliki broj proizvođača proizvodi čajno pecivo sa smanjenom količinom masti i zamenom za šećer, kako bi proizvod prilagodili dijabetičarima i osobama sa kardiovaskularnim problemima.

Postoji posebna kategorija čajnog peciva za bebe i malu decu koje se koriste kao izvor gvožđa, kalcijuma, minerala i vitamina. Postoji veliki broj radova na temu inkorporacije različitih funkcionalnih dodataka čajnim pecivima. Kako bi se povećale nutritivne vrednosti čajnog peciva, dodavana su vlakna (Artz et al., 1990), proteini (Noguchi i Cheftel, 1983), polifenoli (Tumbas et al., 2016). Kao funkcionalni dodatak korišćeni su: trop voća, pšenične i kukuruzne klice, brašno mahunarki, omotači zrna žitarica, β -glukan, brašno banane (Agama-Acevedo et al., 2012; Kerckhoffs et al., 2003; Nasir et al., 2010; Wang i Thomas, 1989; Zucco et al., 2011).

Takođe poslednjih godina, kao funkcionalni dodatak koriste se sporedni proizvodi industrije prerade voća, povrća i žitarica. Ovi sporedni proizvodi imaju visoku nutritivnu vrednost jer sadrže: polifenole, flavonoide, karotenoide, vlakna i pektin (koštica, ljska i pulpa voća). Zbog visokog sadržaja vlage, nakon stabilizacije mogu se koristiti kao funkcionalni aditivi u hrani (Larrauri, 1999). Povećanje antioksidativnog kapaciteta pekarskih proizvoda može se postići dodavanjem koncentrata dijetnih vlakana iz manga (Vergara-Valencia et al., 2007).

Dalje, brašno tropa jabuke je u industrijskim uslovima uspešno zamenjeno za 75% pšeničnog brašna, čime je čajno pecivo znatno obogaćeno dijetnim vlaknima i antioksidantima (Zlatanović, 2019). Sekundarni proizvodi prerade malina (Górecka et al., 2010), borovnice (Mišan et al., 2014), grožđa (Mildner-Szkudlarz et al., 2013) korišćeni su kao funkcionalni dodatak čajnom pecivu. Žitarice su takođe veliki izvor vitamina B i E, lipida, vlakana, ugljenih hidrata i minerala. Prilikom prve prerade žitarica omotač i klica, koji su nutritivno najbogatiji, odvajaju se od zrna i predstavljaju sporedni, tj. nusproizvod. Slično u proizvodnji piva ostaje velika količina tropa, koja je bogata ugljenim hidratima, proteinima i dijetnim vlaknima (Pejin, 2013).

Imajući u vidu sve ove osobine funkcionalnih dodataka, najbitnije je da se dodavanjem ne poremeti kvalitet gotovog proizvoda jer ipak je osnovni razlog široke potrošnje čajnog peciva njegov primamljiv ukus. Inkorporacija funkcionalnih dodataka ne bi trebalo da poremeti specifična organoleptička svojstva i trajnost čajnog peciva.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. MATERIJALI I HEMIKALIJE

3.1.1. Materijal korišćen za analize

U ovoj studiji korišćeno je speltino brašno proizvođača Jevtić iz Bačkog Gradišta, Vojvodina, Srbija, devičansko kokosovo ulje uvezeno iz Šri Lanke (uvoznik: *Beyond*, Niš), trščani šećer iz Paragvaja (uvoznik: *Superfood*, Beograd), prašak za pecivo (*Dr. Oetker*) i cvekla kupljena na lokalnoj pijaci u Pančevu, proizvedena u selu Glogonj pored Pančeva. Za određivanje akrilamida korišćen je akrilamid stepena čistoće > 99,9% (*ACROS Organics*, SAD). Organski rastvarači petroletar i etil-acetat (*Lach-Ner*, Češka) kao i kalijum-bromid, natrijum-tiosulfat, trietilamin i anhidrovani natrijum-sulfat korišćeni su bez dodatnog pročišćavanja. Pripremljeni rastvorovi kalijum-heksacijalnoferat(II)-trihidrata (37,5 g/250 mL; *Carrez 1*) i cink-sulfat-heptahidrata (75 g/250 mL; *Carrez 2*) čuvani su u frižideru pre korišćenja.

3.1.2. Priprema praha od cvekle

Egipatska pljosnata (elipsasta) cvekla sorte Detroit je dobro oprana od ostatka zemlje, kora je oljuštena, a zatim isećena na kolutove debljine 1 mm, na seckalici *Tupperware*, na sečivu br 1. Kolutovi su poređani, bez preklapanja, na plehove dehidratora *Excalibur* i sušeni 24 h na 52 °C do konstantne mase dehidrirane cvekle.

Nakon hlađenja od 3 sata, osušeni kolutovi su samleveni u blenderu, posebno namenjenom za mlevenje žitarica (*VITA-MIX CORP, 1200W, USA*). Prah je prebačen u PVC posude, zatvoren i skladišten bez prisustva svetlosti i vlage. Opisani postupak pripreme praha od cvekle prikazan je na slici 13.



Slika 13. Postupak pripreme praha od cvekle

3.1.3. Priprema čajnog peciva

Čajno pecivo je pripremljeno tako što je određeni ideo speltinog brašna zamjenjen prahom cvekla. Od speltinog brašna i cvekla u prahu napravljene su dve serije uzoraka, koje su pečene na 150 i 170 °C. U okviru svake serije je pripremljena i slepa proba, bez cvekla u prahu. Svi sastojci su dati u Tabeli 14.

Speltino brašno i prah cvekle su pomešani u određenim razmerama, zatim je dodato po 60 g omekšalog ekstra devičanskog kokosovog ulja, po 50 g trščanog šećera, 40 g vode i prašak za

pecivo. Sve je dobro ručno umešeno dok se nije dobila konzistentna masa. Smesa je ostavljena pola sata da odmori a nakon toga je razvijena u koru debljine 0,6 cm i čajno pecivo je vađeno okruglim kalupom prečnika 4,7 cm (metoda izbadanja). Ređano je na pleh, na kome je postavljen papir za pečenje („Fino”).

Čajno pecivo je pečeno 12 minuta na 150 °C i 170 °C. Nakon pečenja ostavljeno je u plehu 2 sata da se ohladi a zatim je ređano u PET posude sa poklopcem i skladišteno do analiza bez prisustva svetlosti i vlage.

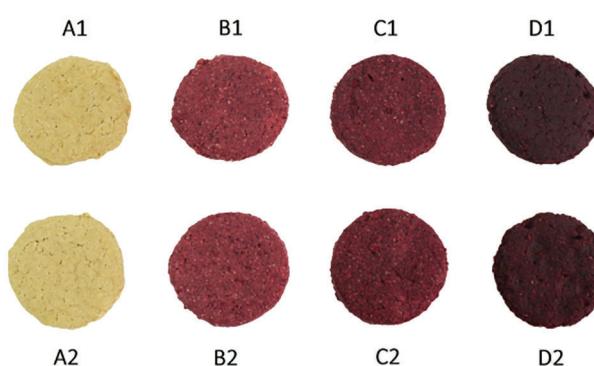
Uzorci su označeni kao što je prikazano u Tabeli 14. Na slikama 14 i 15 prikazan je izgled nepečenog i pečenog čajnog peciva sa različitim udelima cvekla.

Tabela 14. Uzorci čajnog peciva

<i>Uzorci pečeni na različitim temperaturama</i>	<i>Speltino brašno (g)</i>	<i>Prah cvekle (g)</i>	<i>% zamenjenog brašna spelte (%)</i>	<i>Maseni udeo praha cvekle u smeši za čajno pecivo (%)</i>
150 °C 170 °C				
A 1	A 2	150	0	0
B 1	B 2	105	45	15
C 1	C 2	90	60	20
D 1	D 2	75	75	25



Slika 14. Izgled nepečenog čajnog peciva sa različitim udelom praha cvekle pripremljenog prema tabeli 14.



Slika 15. Izgled pečenog čajnog peciva sa različitim udelom praha cvekle pripremljenog prema formulaciji u tabeli 14.

3.1.4. Hemikalije

Za analize u okviru ovog rada su korišćeni: n-heksan, metanol, Folinov reagens, natrijum karbonat, natrijum nitrit, aluminijum hlorid, natrijum hidroksid, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), acetonitril, mravlja kiselina, galna kiselina, katehin, 2,4,6-Tripiridil-s-triazin (TPTZ), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina (*Trolox*). Sve korišćene hemikalije i reagensi bili su analitičkog kvaliteta. Fragmentacioni joni koji su korišćeni za identifikaciju 2-brom-2-propenamide su bili: $[C_3H_4NO]^+ = 70$ i $[C_3H_4BrNO]^+ = 149$, dok su za identifikaciju 2,3-dibrom-2-metilpropanamide korišćeni: $[C_4H_7BrNO]^+ = 164$ i $[C_3H_5Br]^+ = 120$ bromovanja (FprCEN/TS 17083 : 2017).

3.2. METODE

3.2.1. Fizička svojstva praha od cvekla i speltinog brašna

3.2.1.1. Nasipna gustina

Nasipna gustina određena je prema metodi Elkhalifa et al., (2005). Menzure od 50 mL su napunjene sa 10 g uzorka, a zatim je tapkanjem materijal sabijan do postizanja maksimalnog smanjenja zapremine. Zapremina je očitana direktno sa menzure i rezultati izraženi kao g/mL

3.2.1.2. Kapacitet vezivanja vode

Kapacitet vezivanja vode je određen prilagođenom metodom Rana et al. (2015). Uzorak od 1 g je pomešan sa 30 mL destilovane vode u kiveti za centrifugu od 50 mL. Suspenzija je ostavljena 24 h na sobnoj temperaturi, a zatim je centrifugirana na 3600 rpm, 20 minuta. Supernatant je uklonjen i ostatak je izmeren. Kapacitet vezivanja vode je izražen kao masa vezane vode po gramu uzorka.

3.2.1.3. Kapacitet vezivanja ulja

Kapacitet vezivanja ulja je određen tako što je po 1 g uzorka pomešan sa 10 mL ulja u kiveti za centrifugu od 50 mL. Smeša je stajala 24 h na sobnoj temperaturi, a zatim je centrifugirana na 3600 rpm, 20 minuta. Supernatant je uklonjen i ostatak je izmeren. Kapacitet vezivanja ulja je izražen kao gram ulja po gramu uzorka (Elkhalifa et al., 2005). Vezivanje ulja je rađeno sunokretovim uljem „Dijamant” (U1) i kokosovim nerafinisanim uljem (K1), koje je korišćeno i pri izradi čajnog peciva.

3.2.1.4. Kapacitet bubrenja

U kiveti za centrifugu od 50 mL pomešan je 1 g uzorka sa 30 mL destilovane vode. Nakon 24 h uravnotežavanja, zauzeta zapremina je zabeležena i izražena kao zapremina po gramu suvog uzorka (Robertson et al., 2000), što predstavlja kapacitet bubrenja.

Kapacitet bubrenja (mL/g) = Zapremina zauzeta uzorkom (mL)/masa originalnog uzorka (g)

3.2.1.5. Kapacitet hidriranja

Kapacitet hidriranja je meren tako što je graduisana menzura od 10 mL napunjena destilovanim vodom, a zatim je dodato 0,5 g uzorka, ali pažljivo kako bi se izbegla adhezija čestica na zidove menzure. Ostavljeno je da odstoji 15 minuta. Razlika između zapremeine vode pre i nakon

dodavanja uzorka zabeležena je kao mL pomerenog nivoa vode i izražena u g/mL, što predstavlja kapacitet hidriranja.

Hidrirana gustina izražena je kao: masa uzorka (g)/izmeštanje nivoa vode (mL) (Robertson et al., 2000)

3.2.1.6. Ispitivanje termalnog ponašanja praha cvekla diferencijalno skenirajućom kalorimetrijom (DSC)

DSC eksperimenti izvedeni su na diferencijalnom skenirajućem kalorimetru, proizvođača *TA Instruments*, model Q1000, USA. Tri probe praha cvekla, mase 5-7 mg, odmerene su u Al čančice, potom su snimljeni termogrami u opsegu od -90 °C do 150 °C, sa kontrolisanom brzinom zagrevanja od 5 °C/min, pri protoku azota od 50 mL/min. Termogrami su analizirani pomoću Softver *TA Advantage Universal analysis 2000*, verzija 4.5A. Ostakljivanje je okarakterisano temperaturom ostakljivanja (T_g), dok je endotermni pik topanja karakterisan temperaturom maksimuma pika (T_m), kao i početnom i krajnjom temperaturom prelaza (T_{on} i T_{end} , respektivno).

3.2.1.7. Ispitivanje termalnog ponašanja praha cvekla termogravimetrijskom analizom (TGA)

Termalna degradacija praha cvekla ispitana je termogravimetrijskom analizom (TGA) na instrumentu proizvođača *TA Instruments, USA*, model TGA Q500. Tri probe praha cvekla, mase 5-7 mg, odmerene su u platinsko čanče, postavljene u peć i zagrevane u temperaturnom intervalu od 25 do 700 °C, pri brzini zagrevanja od 5 °C/min. Protok azota je iznosio 60 mL/min. Termogravimetrijske (TG) krive i diferencijalne termogravimetrijske krive (dTG) su analizirane u cilju ispitivanja termalnih svojstava praha cvekla. Karakteristične temperature degradacije, početna (T_s) i završna temperatura (T_{end}) svakog degradacionog pika, određivane su iz dTG krivih, uz korišćenje softvera *TA Universal Analysis 2000*. Početne temperature degradacionih pikova (T_{on}) su određene kao presek ekstrapolirane početne linije i tangente dTG krive.

3.2.2. Hemijski sastav praha cvekla, speltinog brašna i čajnog peciva

3.2.2.1. Određivanje sadržaja proteina, masti i pepela

Sadržaj proteina, masti i pepela određivan je odgovarajućim AOAC metodama. Saharoza, D-glukoza i D-fruktoza su određene spektrofotometrijskom metodom, korišćenjem kompleta za enzimsko ispitivanje *R-biopharm (R-BIOPHARM, AG Darmstadt)*. Test je izведен prema uputstvu proizvođača kompleta. Koncentracija D-glukoze je određena pre i posle hidrolize saharoze β-fruktozidazom (invertazom). Količina NADPH nastala u ovoj reakciji bila je odgovarajuća količini D-glukoze, a NADPH je zatim određivan na osnovu povećanja apsorbance na 340 nm. Apsorbanca je merena na spektrofotometru *Thermo Scientific, Evolution 201*. Sadržaj D-fruktoze u uzorku određen je nakon određivanja D-glukoze, nakon izomerizacije fosfoglukozooizomerazom. Količina NADH formiranog u ovoj reakciji bila je proporcionalna količini D-fruktoze i merena je na osnovu povećanja apsorbance na 340 nm. Sadržaj saharoze je izračunat iz razlike u koncentracijama D-glukoze pre i posle hidrolize -fruktozidazom (Le et al., 1992).

3.2.2.2. Određivanje sadržaja dijetnih vlakana

AOAC medoda 991,43 je korišćena za određivanje ukupnog, rastvorljivog i nerastvorljivog sadržaja dijetnih vlakana. Osušeni uzorci su enzimski razgrađeni toplotno stabilnom α-amilazom, proteazom i amilglukozidazom. Ostatak nakon filtracije korišćen je za određivanje nerastvorljivih

dijetnih vlakana, a filtrat u koji su dodate četiri zapremine 95% etanola korišćen je za određivanje rastvorljivih dijetnih vlakana. Ostaci rastvorljivih i nerastvorljivih vlakana korigovani su za proteine, pepeo i blanko za konačni obračun vrednosti rastvorljivih i nerastvorljivih vlakana (Le et al., 1992).

3.2.2.3. Određivanje aktivnosti vode (*aw*) polaznih sirovina i čajnog peciva

Vлага je određena gravimetrijski na temperaturi od 105 °C, u sušnici sa kontrolisanom temperaturom do konstantne težine.

Aktivnost vode (*aw*) uzorka određena je pomoću *LabSwift-aw, Novasina AG, Switzerland* na temperaturi od 25 °C.

3.2.3. Određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata ICP-OES analizom

Mineralizacija uzorka urađena je u mikrotalasnem digestoru *Advanced Microwave Digestion System (ETHOS 1, Milestone, Italy)*. Korišćen je segmentni rotor visokog pritiska, HPR-1000/10S. Uzorci su direktno izmereni u kvarcne inserte *QS-50 quartz inserts P/N 34042*. Nakon merenja, u uzorce su dodati oksidacioni reagensi: 4,5 ml HNO_3 (65 wt.%, *Suprapur®, Merck KGaA, Darmstadt, Germany*), ultračista azotna kiselina, vodonik-peroksid, 0,5 ml H_2O_2 (30 wt.%, *Suprapur®, Merck KGaA, Darmstadt, Germany*). Nakon punjenja, kivete su stavljene u nosač i, po protokolu proizvođača, zatvorene. Digestija je vršena 20 minuta na 180 °C, pri pritisku od 100 bara. Rastvor je zatim ohlađen do sobne temperature, razblažen u volumetrijskom normalnom sudu do fiksne zapremine od 25 ml. Razblaženje je rešeno ultračistom vodom, električne provodljivosti od 0,05 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Indukovano kuplovanom plazmom sa optičkom emisionom spektrometrijom (ICP-OES), *Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP (Thermo Fisher Scientific, Cambridge, United Kingdom)*, izmerele su koncentracije mikro-, makro- i toksičnih elemenata u dobijenim rastvorima. Direktnom aspiracijom tečnog uzorka, vršeno je uvođenje uzorka u plazmu. Standardni rastvori za kalibraciju instrumenta su pripremljeni od sertifikovanih rastvora: *SS-Low Level Elements ICV Stock i ILM 05.2 ICS Stock 1* (oba od *VHG Labs, Inc- Part of LGC Standards, Manchester, NH 03103 USA*), *SS-Low Level Elements ICV Stock i ILM 05.2 ICS Stock 1* (oba od *VHG Labs, Inc- Part of LGC Standards, Manchester, NH 03103 USA*). Standardni rastvori su bili u opsegu 1-50.000 $\mu\text{g}/\text{l}$. Koeficijent korelacije je bio $> 0,99$ za sve elemente. Za kvantifikaciju je uzeta talasna dužina svetlosti koja je imala najbolje poklapanje standard-uzorak, po svim spektrofotometrijskim kriterijumima. Svaki uzorak je meren tri puta ($n = 3$). Relativna standardna devijacija je bila $\text{RSD} < 1\%$. Limit detekcije (LOD) za sve elemente bio je 0,05-1,5 $\mu\text{g}/\text{L}$, a limit kvantifikacije (LOQ), od 0,1 $\mu\text{g}/\text{L}$ do 5 $\mu\text{g}/\text{L}$.

Izmerene mase uzorka, koncentracije elemenata u rastvoru i razblaženja, dali su konačne koncentracije elemenata u uzorcima u mg/kg uzorka (ppm).

Pomoću sertifikovanih referentnih materijala (*certified reference material, CRM*): *fish protein for trace metals DORM 4 (NRCC, National Research Council Canada, Ottawa, Ontario Canada)* i *EPA Method 200.7 LPC Solution (ULTRA Scientific, USA)* urađen je proces analitičke kontrole kvaliteta (*analytical process quality control, QC*). Postignuto je poklapanje u opsegu od 98 do 103% sa sertifikovanom vrednošću (*recovery*) za sve sertifikovane elemente. Operacioni uslovi za ICP-OES snimanje elemenata, prikazani su u Tabeli 15.

Tabela 15. Operacioni uslovi za ICP-OES snimanje elemenata

Parametar	Vrednost
Snaga radioaktivnog generatora (RF)	1150 W
Orijentacija plazme	Standardni koncentrični (stakleni)
Raspršivač	Standardni koncentrični (stakleni)
Raspršivačka komora	Standardni ciklonski (stakleni)
Creva za pumpu (Tygon)	Uzorak (narandžasto-belo)
Centralna keramička cev	Otpad (belo-belo)
Centralna keramička cev	2 mm
Noseći gas	Argon
Protok argona kroz raspršivač	0,5 L/min
Protok argona za formiranje plazme	0,5 L/min
Protok argona za hlađenje	12 L/min
Vreme ispiranja	40 s
Broj obrtaja pumpe tokom analize	50 rpm
Vreme integracije	
Niske (166-230 nm)	15 s
Visoke (230-847 nm)	5 s
Brzina analize	Brza (engl. speed)
Program	iTEVA

3.2.4. Određivanje sadržaja betaina

Odmereno je 2 g prethodno samlevenog i dobro homogenizovanog uzorka i suspendovano u 25 mL metanola. Uzorak je homogenizovan na vorteksu 10 min, a zatim je pola sata ekstrahovan u ultrazvučnom kupatilu (*ATU Ultrasonidos*, Španija). Nakon toga, kiveta sa uzorkom je centrifugirana 10 min na 5000 o/min (*Eppendorf Centrifuge 5804R*). Zatim je 3 mL gornjeg metanolorskog sloja odvojeno i upareno do suva. Ostatak je ponovo rastvoren u 2 mL vode i filtriran kroz membranski filter (regenerisana celuloza, veličina pora 0,22 mm, prečnika 25 mm, *Agilent Technologies*, *Santa Clara*, Amerika). Kvantitativno određivanje betaina metodom tečne hromatografije visokih performansi je izvedeno na hromatografu *HPLC system Agilent* (*Agilent Technologies Inc.*, SAD), opremljenim kolonom *Kinetex®HILIC* (*Phenomenex*, Nemačka) dimenzija (2,6 µm, 100 x 2,1 mm) i ELSD detektorom (*1290 Infinity ELSD*, *Agilent Technologies*, SAD). Protok mobilne faze je bio 0,5 mL/min. Mobilnu fazu je činio rastvor acetonitrila i 10 mM acetatnog pufera pH 3,7 (72,28% acetonitrila i 27,72% pufera). Korišćen je izokratski režim rada. Ukupno vreme određivanja je bilo 10 min. Injektovana zapremina je bila 5 µL. Temperatura injektor-a je bila sobna temperatura. Detektor je bio podešen prema sledećim parametrima: temperatura isparivača 40 °C, temperatura raspršivača 55 °C, brzina protoka gasa 1,60 L/min. Anhidrovani betain čistoće 98% je korišćen kao kalibracioni standard. Sve analize su rađene u duplikatu (Kojić et al., 2017).

3.2.5. Spektrofotometrijsko određivanje sadržaja betalaina, polifenola i flavonoida

3.2.5.1. Priprema ekstrakta

Pre ekstrakcije bilo je potrebno ukloniti masti iz svakog uzorka. Količina od 5 g uzorka je ekstrahovana *n*-heksanom (3 x 20 mL) na sobnoj temperaturi 45 minuta. Odmašćeni uzorci su zatim sušeni na vazduhu 24 sata da bi isparili ostaci organskog rastvarača (Jaćimović et al., 2022; Kristýna Št'astná et al., 2021). Nakon toga su uzorci (1 g) tri puta tretirani sa 15 mL metanola tokom 45 minuta i centrifugirani 10 minuta. Supernatanti su sakupljeni i razblaženi metanolom do zapremine od 10 ml.

3.2.5.2. Određivanje sadržaja ukupnih betalaina

Spektrofotometrijsko određivanje ukupnog sadržaja betalaina je zasnovano na određivanju sadržaja betanina i vulgaksantina-I kao glavnih predstavnika betacijana i betaksantina (Von Elbe, 2003). Sadržaj betanina i vulgaksantina-I se izračunava na osnovu koeficijenta apsorpcije (A1%), koji predstavlja vrednost apsorpcije 1% rastvora (1 g/100 mL) i za betanin iznosi 1120, a za vulgaksantin-I 750. Apsorpcioni maksimum betanina je na talasnoj dužini od 538 nm, a vulgaksantina-I na 476 nm. Međutim, betanin apsorbuje svetlost i na 476 nm, što doprinosi izmerenoj vrednosti apsorpcije na ovoj talasnoj dužini i zbog toga je neophodna korekcija njene vrednosti, za iznos koji apsorbuje betanin. Apsorpcija betanina na 476 nm nije konstantna, zavisi od koncentracije, tako da se za izračunavanje koristi odnos A476/A538. U proračunima se uzima da je vrednost ovog odnosa 3,1 kada je pH reakcione smeše 6,5. Sadržaj betanina je određen direktno, merenjem apsorpcije na 538 nm i korekcijom ove vrednosti za iznos apsorpcije merene na 600 nm (na ovoj talasnoj dužini se određuje apsorpcija obojenih nečistoća). Kada je apsorpcija rastvora na 538 nm između 0,4 i 0,5 AU, za vrednost odnosa A538/A600 se uzima da je 11,5. Zbog toga se rastvori pripremaju tako da im je apsorpcija u ovom opsegu.

3.2.5.3. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola

Ukupan sadržaj polifenola (TPC) u uzorcima čajnog peciva određen je standardnom spektrofotometrijskom *Folin-Ciocalteu* metodom, uz neznatne modifikacije (Jaćimović et al., 2022). Ukratko, 0,5 mL odmašćenog ekstrakta uzorka pomešano je sa 30 mL destilovane vode i 2,5 mL *Folin-Ciocalteu* reagensa. Posle 5 minuta dodato je 7,5 mL 7,5% Na₂CO₃ i smeša je razblažena destilovanom vodom do 50 mL. Posle inkubacije od 1 sata u mraku, merena je apsorpcija na 760 nm u odnosu na slepu probu. Rezultati su izraženi kao mg ekvivalenta galne kiseline po gramu uzorka (mgGAEg).

3.2.5.4. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida

Ukupan sadržaj flavonoida (TFC) analiziranih ekstrakata određen je spektrofotometrijski prema standardnoj metodi pomoću aluminijum hlorida, uz neznatne modifikacije (Jaćimović et al., 2022). Ukratko, 0,5 mL analiziranog uzorka je pomešano sa 2mL destilovane vode i 150 µL 5% NaNO₂. Posle 5 minuta, rastvor je tretiran sa 150 µL 10% AlCl₃ i dobro promešan. Posle 5 minuta, dodato je 1 mL 1M NaOH i rastvor je razblažen destilovanom vodom do 5 mL, promućkan i merena je apsorpcija na 510 nm u odnosu na slepu probu. Rezultati su izraženi kao mg katehin-ekvivalenta po gramu uzorka (mg CE/g).

3.2.6. Određivanje antioksidativnih svojstava

3.2.6.1. DPPH test

Antioksidativna aktivnost analiziranih uzoraka je procenjena na osnovu 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) testa uklanjanja slobodnih radikala, koji su opisali Brand-Williams et al., 1995. Ukratko, 200 µL uzoraka pomešano je sa 2 mL 150µM rastvora DPPH, i smeša je snažno promućana. Epruvete su držane u mraku 45 minuta, a zatim je merena apsorpcija na 515 nm. Spособnost uklanjanja DPPH radikala izražena je kao procenat inhibicije i izračunata korišćenjem sledeće formule:

$$\text{Inhibicija (\%)} = [(A_{\text{kontrola}} - A_{\text{uzorak}}) / A_{\text{kontrola}}] \times 100$$

3.2.6.2. FRAP test

Analiza moći redukcije gvožđa (FRAP) izvedena je metodom koju su prethodno opisali (Benzie i Strain, 1996). FRAP reagens je pripremljen mešanjem 2,5 mL 10 mM 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), 2,5 mL 20 mM FeCl₃×6H₂O i 25 mL 300 mM acetatnog pufera (pH 3,6). Ukratko, 100 µL analiziranog uzorka pomešano je sa 300 µL destilovane vode i 3 mL sveže pripremljenog FRAP reagensa. Rastvori su promućkani, držani u mraku 40 minuta, a zatim je očitana apsorpcija na 593 nm. Rezultati su izraženi kao ekvivalent mM troloksa po gramu uzorka (mM TE/g).

3.2.7. Kvalitativno i kvantitativno određivanje polifenola HPLC-UV-VIS metodom

Kvantitativno određivanje polifenolnih jedinjenja izvršeno je tečnom hromatografijom visokih performansi (HPLC) na uređaju *Shimadzu Prominence* (*Shimadzu, Kyoto, Japan*), koji sadrži LC-20AT binarnu pumpu, CTO-20A termostat i SIL-20A automatski dozator povezan sa SPD-20AV UV/Vis detektorom. Hromatogrami su snimljeni pri različitim talasnim dužinama: 280 nm, 320 nm i 360 nm. Razdvajanje je izvršeno na Luna C-18 RP koloni, 5 µm, 250 × 4.6 mm (*Phenomenex, Torens, Kalifornija, SAD*), koja je zaštićena pretkolonom C18, 4 × 30 mm (*Phenomenex, Torens, Kalifornija, SAD*). Kao mobilna faza korišćen je sistem rastvarača: A (acetonitril) i B (1% mravlja kiselina) pri protoku od 1 mL/min i uz primenu sledećeg linearног gradijenta: 0-10 min od 10 do 25% A; 10-20 min linearan porast do 60% A, od 20 do 30 min linearan porast do 70% A. Kolona je uravnotežena na početne uslove, 10% A – 10 min, uz dodatnih 5 min za stabilizaciju. Svi uzorci i rastvarači su filtrirani pre analize kroz membranske filtre veličine pora 0.45 µm (*Millipore, Bedford, Masačusets, SAD*). Identifikacija i kvantifikacija dobijenih pikova izvršena je sa *LC Solution Software* (*Shimadzu, Kyoto, Japan*).

3.2.8. Mikrobiološka ispravnost polaznih sirovina i čajnog peciva

Ispitana je mikrobiološka ispravnost u svim uzorcima čajnog peciva, kao i u uzorku speltinog brašna i sušenog praha cvekla. Parametri koji su ispitivani predviđeni su Pravilnikom o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa (*Sl. glasnik RS* br. 72/10, 62/18).

Za određivanje kvasaca i plesni primenjena je metoda: SRPS ISO 21527-2: 2011; za *Enterobacteriaceae*: SRPS EN ISO 21528-2: 2017; za ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (cfu/g): SRPS EN ISO 4833-1: 2014; za *Salmonella*: SRPS EN ISO 6579-1: 2017, bez aneksa D; za *Escherichia coli*: SRPS EN ISO 16649-2: 2007; i za *Bacillus cereus*: SRPS EN ISO 7932: 2009.

3.2.9. Određivanje akrilamida

3.2.9.1. Ekstrakcija akrilamida

Akrilamid je određen kvantitativnom GC-MS analizom bromovanog derivata. Ukratko, 40 g uzorka čajnog peciva je dobro homogenizovano, a zatim rastvoreno u 100 mL heksana na magnetnoj mešalici u trajanju od 2 h, na blago povišenoj temperaturi. Nakon odmašćivanja uzorka dobijeni ekstrakt je filtriran a potom osušen i podeljen na dva dela ($2 \times 10 \text{ g}$). U jedan deo dodato je $10 \mu\text{g}$ akrilamida (spajk), a nakon toga su urađene dve paralelne ekstrakcije. Akrilamid je ekstrahovan pomoću 100 mL vode, uz mešanje na magnetnoj mešalici tokom jednog sata na blago povišenoj temperaturi (40°C). U vodene ekstrakte dodati su rastvori *Carrez I* i *II* (da bi se staložili proteini), a uzorci su zatim centrifugirani (4000 rpm, 15 min) i filtrirani na mikrofilterima ($45 \mu\text{m}$).

3.2.9.2. Bromovanje uzorka

Vodenim ekstraktima je uz mešanje dodato 7,5 g KBr, čiji je pH podešen na 1-3 dodavanjem 0,5 mL HBr. U rastvore je zatim dodat zasićen rastvor bromne vode (2,5 mL). Uzorci su čuvani preko noći na temperaturi od 0°C . Nakon završetka reakcije bromovanja, višak broma je uklonjen dodavanjem natrijum-tiosulfata ($c = 1 \text{ mol/L}$) u kapima, sve do obezbojavanja rastvora. Nakon što je višak broma uklonjen, izvršena je ekstrakcija sa 10 mL etil-acetata. Ekstrakti su osušeni anhidrovanim natrijum-sulfatom, a zatim upareni do suva. S obzirom na to da je dobijeni 2,3-dibrompropanamid nestabilno jedinjenje, koje može da degradira u GC koloni, izvršena je reakcija dehidrobromovanja dodavanjem $50 \mu\text{l}$ 10% trietilamina. Reakcijom dehidrobromovanja 2,3-dibrompropanamid se transformiše u stabilniji derivat, 2-brompropenamid. Uzorak je prebačen u vijalu i analiziran GC-MS metodom.

3.2.9.3. Kalibracija i kvantifikacija

Smeše standardnih rastvora akrilamida i metakrilamida (interni standard) poznatih koncentracija su bromovane i dehidrobromovane prema opisanoj proceduri, a zatim je izvršena njihova GC-MS analiza. Kalibraciona kriva je konstruisana kao odnos površina pikova derivata akrilamida i metakrilamida u funkciji koncentracije akrilamida u rastvorima za kalibraciju. Detaljan postupak kalibracije i validacije metode je opisan u tehničkoj specifikaciji FprCEN/TS (2017). Nakon konstruisanja kalibracione krive, uzorci čajnog peciva su odmašćeni, akrilamid je ekstrahovan vodom, bromovan, dehidrobromovan i analiziran GC-MS metodom. U uzorke je dodat metakrilamid kao interni standard, koji je prošao opisanu proceduru kao i akrilamid. Nepoznata koncentracija akrilamida određena je korišćenjem prethodno konstruisane kalibracione krive i odnosa površina pikova 2-brom-2-propenamida (derivat akrilamida) prema 2,3-dibrom-2-metylpropanamidu (derivat metakrilamida) u određenom uzorku čajnog peciva. Eksperimenti sa spajkovima dali su oporavak od 94,8 do 102,7%, sa relativnim standardnim odstupanjima od 3,8% do 10,6%. Vrednosti LOD i LOK validirane metode su bile $5 \mu\text{g/kg}$ i $25 \mu\text{g/kg}$, respektivno.

3.2.9.4. GC-MS analiza

Analiza je urađena je na aparatu *Agilent 5977A*, na gasnom hromatografu (HP5-MS kolona, $30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm}$, debljina filma $0.25 \mu\text{m}$, noseći gas – He, protok gasa $1,5 \text{ mL/min}$), u sprezi sa masenim detektorom 5975C (70eV). Početna temperatura iznosila je 50°C , brzina zagrevanja je iznosila $5^\circ\text{C}/\text{min}$ do maksimalne temperature od 240°C . Temperatura injektora iznosila je 200°C .

3.2.10. Određivanje fizičkih svojstava čajnog peciva

3.2.10.1. Određivanje boje

Boja čajnog peciva od speltinog brašna sa dodatkom cvekla sa gornje i donje strane određena je u deset ponavljanja upotrebom kolorimetra *Minolta Chroma Meter CR-400* (*Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan*), prilagođenog za merenja ovakve vrste uzoraka. Pre merenja izvršena je kalibracija kolorimetra standardom bele boje. Rezultati su prezentovani prema CIELab sistemu boja, gde su koordinate definisane na sledeći način: L* je koordinata svetloće boje (gde 0 označava crno, a 100 belo), a* je ideo crvene/zelene boje (gde a* > 0 označava crvenu i a* < 0 označava zelenu boju) i b* je ideo žute/plave boje (gde b* > 0 označava žutu i b* < 0 označava plavu boju).

3.2.10.2. Određivanje tvrdoće

Tvrdoća čajnog peciva određena je dijametralnom kompresijom na analizatoru teksture *TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Surrey, Velika Britanija)* prema metodi opisanoj od strane Belović et al. (2020). Tvrdoća je određena prema modifikovanom metodu (*biscuit cutting_BIS2_KB*). Tvrdoća predstavlja silu pri kojoj dolazi do prvog loma čajnog peciva, a koja predstavlja maksimum na dobijenoj krivoj zavisnosti sile od vremena. Tvrdoća uzorka je izražena kao srednja vrednost, u kilogramima. Parametri podešavanja instrumenta tokom testa su bili sledeći: brzina pre merenja – 1,5 mm/sec; brzina tokom merenja – 3 mm/sec; brzina nakon merenja – 10 mm/sec, sila okidanja – 25 g.

3.2.11. Senzorna analiza čajnog peciva

Senzorno ocenjivanje uzoraka čajnog peciva sa dodatkom cvekla obavljeno je na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu uz učešće iskusnih degustatora (8 ocenjivača koji su zadovoljili kriterijume standard ISO 8586:2012). Ocjenjena su sledeća senzorna svojstva: izgled (boja, površina, veličina i oblik), tekstura (struktura, ispečenost, prelom i žvakljivost), kao i miris i ukus. Ukupni senzorni kvalitet je određen primenom metode bodovanja. Prilikom ocenjivanja korišćen je bodovni raspon od 1 do 5, sa mogućnošću dodeljivanja polovine i četvrtine boda.

Za svako svojstvo senzornog kvaliteta određen je koeficijent važnosti (KV) shodno uticaju pojedinih ocenjivanih parametara na ukupni kvalitet, tako da suma koeficijenata važnosti iznosi 20. Sabiranjem pojedinačnih ocena dobija se jedan kompleksni pokazatelj koji reprezentuje ukupni senzorni kvalitet, a izražava se kao % od maksimalnog kvaliteta. Deljenjem ove vrednosti sa zbirom koeficijenata važnosti dobija se ponderisana srednja vrednost ocene, koja takođe reprezentuje ukupni senzorni kvalitet ispitivanih uzoraka čajnog peciva sa dodatkom cvekla.

U nastavku su prikazane kategorije kvaliteta u koje se svrstavaju uzorci čajnog peciva sa dodatkom cvekla na osnovu ponderisane srednje vrednosti ocene.

Kategorija kvaliteta	Ukupna ocena (ponderisana srednja vrednost ocene)
Odličan	4.50-5.00
Vrlo dobar	3.50-4.50
Dobar	2.50-3.50
Ne zadovoljava	< 2.50

3.2.12. Određivanje glikemijskog indeksa čajnog peciva

Za ovu analizu je izabran keks koji je dobio najbolje senzorne ocene, a to je uzorak C2 sa 20% praha od cvekla. Glikemijski indeks je određen metodom ISO 26 642:2010, koja je međunarodno priznata. Etička komisija Instituta za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“ odbrojila je studiju i izdala Etičku dozvolu za sproveđenje iste, pod rednim brojem 5464/1. Studija je obuhvatila 10 zdravih, odraslih osoba starosti 22-59 godina, sa indeksom telesne mase (BMI) u rasponu od 19 kg/m^2 do 23 kg/m^2 i nivoom glukoze natašte $\leq 6 \text{ mmol/L}$. Od svih ispitanika je dobijen informativni pristanak.

Rađen je jedan test nedeljno. Učesnici su gladovali najmanje 12 sati i pri tome izbegavali intenzivnu fizičku aktivnost, pušenje i konzumaciju alkohola. Krv je uzeta 5 minuta pre konzumiranja uzorka (0'). Testovi glukoze natašte su obavljeni sa 25,0 g glukoze rastvorene u 250 mL vode i konzumirane u roku od 5 minuta ili sa onom količinom keksa sa cveklom koja sadrži 25,0 g dostupnih ugljenih hidrata. Krv je uzorkovana u 15', 30', 45', 60', 90' i 120' minutu nakon konzumiranja. Napravljen je grafik promene koncentracije glukoze u funkciji vremena i izračunata površina ispod dobijene krive (*AUC – area under curve*). Glikemijski indeks, tj. odnos postprandijalne glukoze u krvi nakon konzumiranja keksa koji sadrži 25,0 g dostupnih ugljenih hidrata i 25,0 g referentnog ugljenog hidrata (glukoza) je izračunat prema formuli:

$$GI = \frac{AUC}{AUCref} \times 100$$

gde su AUC i AUCref površine ispod krive vremenske zavisnosti koncentracije glukoze u kapilarnoj krvi izmerene nakon konzumiranja one količine uzorka koja sadrži 25,0 g ugljenih hidrata i 25,0 g čiste glukoze. Namirnice čiji se ugljeni hidrati brzo resorbuju imaju visok GI ($GI \geq 70$). GI od 56 do 69 je srednji, a $GI \leq 55$ nizak. Glikemijsko opterećenje (*glycaemic load – GL*) predstavlja proizvod GI i ukupnih raspoloživih ugljenih hidrata u određenoj porciji hrane podeljen sa 100. GL vrednosti su takođe kategorisane kao niske (≤ 10), srednje (> 10 do < 20) ili visoke (≥ 20).

3.2.13. Statistička obrada podataka

Dobijeni rezultati u ovom radu su analizirani korišćenjem programa *IBM SPSS Statistics 25* (*IBM*, Armonk, Njujork, SAD). Prikazana je veličina uzorka i izračunata deskriptivna statistika (srednja vrednost, mediana, minimum i maksimum). Mere varijabilnosti i standardne devijaciјe izračunate su za odgovarajuće grupe uzorka. *Kruskal-Wallisov* i *Wilcoxon-Mann-Whitney* test (neparametarski analog t-testu nezavisnih uzorka) korišćeni su za procenu značajnosti razlika između osobina izmerenih u čajnom pecivu tokom perioda skladištenja od šest meseci (odmah nakon proizvodnje, nakon tri i šest meseci), kao i između čajnog peciva sa četiri različita sadržaja praha cvekla (0%, 15%, 20%, 25%). P-vrednosti testa su prikazane za svaku izmerenu osobinu. Nivo značaja je postavljen na 0,05.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. FIZIČKA SVOJSTVA PRAHA OD CVEKLE I SPELTINOG BRAŠNA

4.1.1. Nasipna gustina, kapacitet vezivanja vode, kapacitet vezivanja ulja, kapacitet bubrenja, kapacitet hidriranja

Vrednost nasipne gustine, kapaciteta vezivanja vode, kapaciteta vezivanja ulja, kapaciteta bubrenja i kapaciteta hidriranja za cveklu u prahu i brašno od spelte, prikazani su u Tabeli 16. Utvrđeni su visoki kapaciteti vezivanja vode (7,17 g za BP i 2,00 g za SF), kao i kapacitet vezivanja ulja (3,56 g za BP i 3,42 g za SF). Ovi nalazi se mogu pripisati značajnoj količini dijetnih vlakana prisutnih i u prahu cvekle i u speltinom brašnu. Zbog toga se BP može koristiti umesto sintetičkih aditiva u prehrambenim proizvodima za povećanje viskoziteta, zgušnjavanje proizvoda i produženje njegove svežine. U okviru istraživanja koje je sprovedeno, ispitan je uticaj praha cvekle na moć upijanja vode testa za rolat i utvrđeno je da je testo stabilnije i da je poboljšana apsorpcija vode (Kohajdova et al., 2018). Druga istraživanja su pokazala slične rezultate kada se koristi trop jabuke kao funkcionalni aditiv (Gorjanović et al., 2020).

U okviru istraživanja u ovom radu utvrđene su značajne razlike između fizičko-hemijskih svojstava cvekle u prahu i speltinog brašna. Značajno veće vrednosti za nasipnu gustinu i sposobnost vezivanja vode uočene su za brašno od spelte (Tabela 16).

Poznato je da se kapacitet bubrenja može koristiti za identifikaciju hrane bogate dijetnim vlaknima (Kohajdova et al., 2018). Za BP, kapacitet bubrenja je iznosio 32,5 mL/g, dok je za SF bio 33 mL/g. U poređenju sa komercijalnim preparatima bogatim vlaknima, kao što su ovas i pirinčane mekinje, urme i komina od jabuke i kruške (Bchir et al., 2014), ove vrednosti su znatno veće. Generalno, kod različitog biljnog materijala uočene su razlike u kapacitetu bubrenja (Mora et al., 2013).

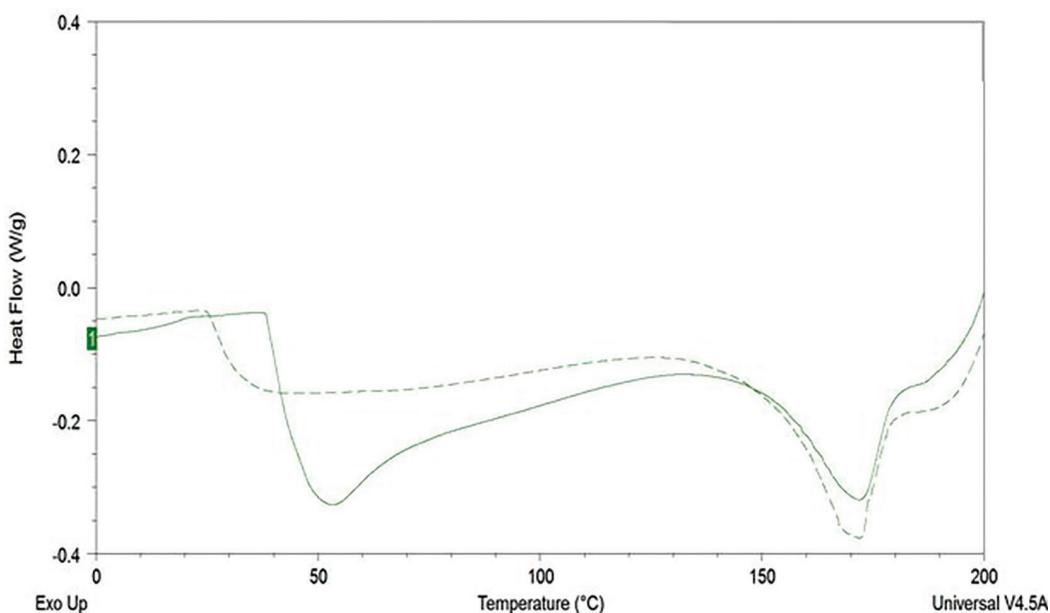
Tabela 16. Fizičko-hemijska svojstva (nasipna gustina, sposobnost vezivanja vode, sposobnost vezivanja ulja, kapacitet bubrenja i kapacitet hidriranja) praha cvekle i brašna od spelte. Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) između srednjih vrednosti fizičko-hemijskih svojstava između cvekle u prahu i brašna od spelte prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B).

Uzorak	Nasipna gustina (g/ml)	Kapacitet vezivanja vode (g/g)	Kapacitet vezivanja ulja (g/g)	Kapacitet bubrenja (mL/g)	Kapacitet hidriranja (g/mL)
Prah cvekle (BP)	$14,00 \pm 0,61^{\text{A}}$	$7,17 \pm 0,22^{\text{B}}$	$3,56 \pm 0,21^{\text{A}}$	$32,50 \pm 1,02^{\text{A}}$	$11,00 \pm 0,44^{\text{A}}$
Speltino brašno (SF)	$17,00 \pm 0,69^{\text{B}}$	$2,00 \pm 0,12^{\text{A}}$	$3,42 \pm 0,19^{\text{A}}$	$33,00 \pm 1,23^{\text{A}}$	$11,00 \pm 0,53^{\text{A}}$

4.2. TERMALNA ANALIZA PRAHA CVEKLE

4.2.1. Karakterizacija praha cvekle DSC metodom

DSC termogrami praha cvekle, snimljeni neposredno nakon sušenja u laboratorijskom dehidratoru na 52 °C i nakon godinu dana skladištenja na sobnoj temperaturi, prikazani su na slici 16, dok su rezultati DSC analize dati u Tabeli 17.



Slika 16. DSC krive dehidriranog uzorka cvekle, na početku skladištenja (puna linija) i nakon jedne godine skladištenja (isprekidana linija) na sobnoj temperaturi

Obe DSC krive pokazuju stepenastu promenu, što ukazuje na postojanje ostakljivanja. Temperatura ostakljivanja praha cvekle je $41,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (na početku skladištenja) i $37,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (posle jedne godine skladištenja), dok je aktivnost vode bila 0,38 i 0,36, respektivno. Dobijeni rezultati su uporedivi sa ranije objavljenim podacima koji se odnose na prah cvekle, gde je utvrđena temperatura ostakljivanja na $50,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Janiszewska-Turak et al., 2022), kao i sa rezultatima za brašno dobijeno od tropske jabuke, čija je T_g iznosila 36,3 i $29,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ pri aw od 0,45 i 0,20, respektivno (Zlatanović S., 2019).

Tabela 17. Termodinamički parametri dobijeni iz DSC kriva praha cvekle tokom skladištenja od 12 meseci, kao i aktivnost vode i sadržaj vlage. Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost $\pm SD$.

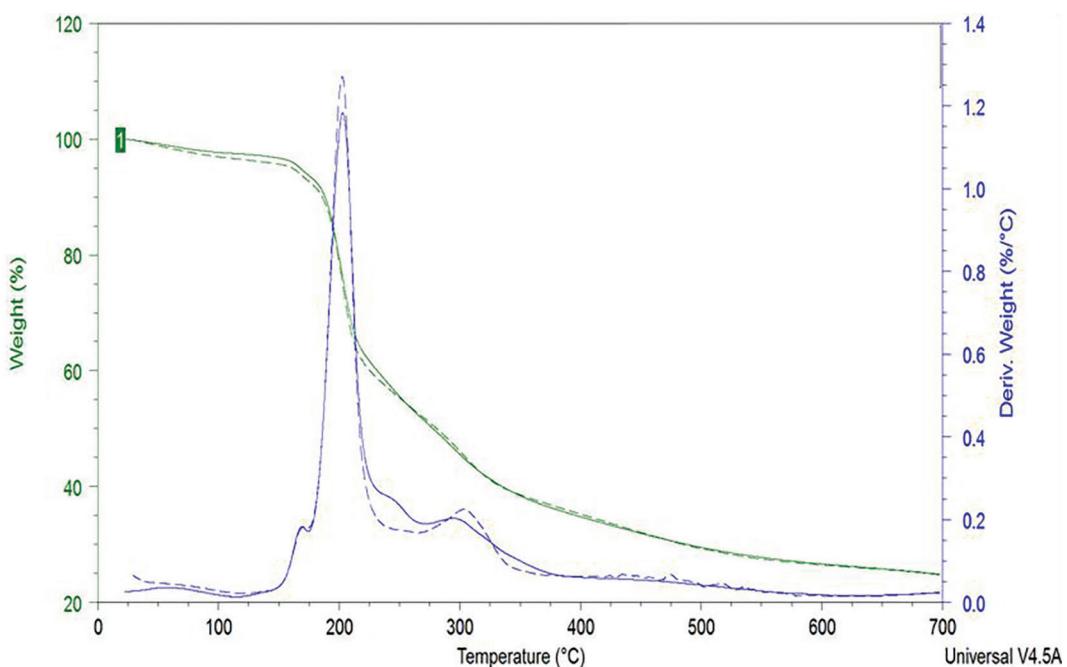
Analiza	Jun 2021.	Jun 2022.
DSC	$T_g\text{ }(^{\circ}\text{C)}$	$41,00 \pm 1,20$
	$\Delta Cp\text{ }(J/(g\cdot^{\circ}\text{C}))$	$3,01 \pm 0,70$
	$T_m\text{ }(^{\circ}\text{C})$	$171,8 \pm 1,60$
	$\Delta H\text{ }(J/g)$	38,78
	Aktivnost vode (aw)	$0,38 \pm 0,001$
	Sadržaj vlage, (%)	$6,80 \pm 0,18$
		$6,20 \pm 0,20$

Na slici 16 se može uočiti da ostakljivanje prati široki endotermni pik u temperaturnom opsegu od $132,5$ do $186,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ (početak skladištenja) i $134,8$ do $185,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (posle jedne godine skladištenja). Ovaj pik se javlja usled topljenja uređenih kristalnih struktura, najverovatnije mono- i disaharida (Hurtta et al., 2004). U prahu cvekle, višekomponentnom sistemu, komponente poput skroba, šećera, proteina i boja mogu biti delimično amorfne i delimično kristalne, mogu se mešati ili biti nemešljive, što dovodi do formiranja višefazne mikrostrukture (Roos, 2003). Termalno ponašanje praha cvekle ide u prilog postojanja višefazne strukture. Rezultati DSC ukazuju na prisustvo delimično amorfne faze (ostakljivanje) i delimično kristalne faze praha cvekle (endotermno topljenje). Postojanje jedne temperature ostakljivanja ukazuje na dobro mešanje komponenti u prahu cvekle. Na temperaturama iznad $220\text{ }^{\circ}\text{C}$, endotermni prelaz se nastavlja u egzotermni, što ukazuje na početak degradacije uzorka. Niske vrednosti aw (ispod 0,4) i T_g

iznad uobičajene temperature skladištenja ($37,4$ i $41,0$ °C), obezbeđuju produženu stabilnost praha cvekla. Slični rezultati su dobijeni u radu Zlatanović et al. (2019) pri ispitivanju uzorka brašna od tropske jabuke. Temperatura ostakljivanja BP je u korelaciji sa sadržajem vlage i aw (Tabela 17). Iz literature je poznato da T_g bioloških materijala i namirnica opada sa povećanjem sadržaja vode, koja deluje kao plastifikator (Wang i Truong, 2016), a da se kritični viskozitet postiže na temperaturi od 10 do 20 °C iznad T_g (Roos i Karel, 1991). Može se zaključiti da se manje količine stabilnog praha cvekla mogu dobiti sušenjem u dehidratatoru i da dobijeni DSC termogrami odgovaraju kompleksnom sastavu BP, predstavljenom u našoj prethodnoj publikaciji (Mitreški et al., 2023) sa visokim udelom ukupnih ugljenih hidrata ($57,06 \pm 1,2$), dijetnih vlakana ($19,90 \pm 0,55$) i proteina ($11,4 \pm 0,20$).

4.2.2. Termogravimetrijska analiza praha cvekla

Termalna stabilnost praha cvekla je ispitana termogravimetrijskom analizom u intervalu od 25 do 700 °C, neposredno nakon dehidratacije i nakon jedne godine skladištenja na sobnoj temperaturi. TG i dTG krive na slici 17 pokazuju nekoliko stepena gubitka mase do 700 °C. Kriva dTG daje informaciju o brzini promene gubitka mase pri zagrevanju materijala. Početna i krajnja temperatura svakog uočenog stupnja (Ts i Tend, respektivno), kao i procenat gubitka mase u određenom stupnju degradacije su prikazani u Tabeli 18. Na nižim temperaturama dolazi do isparavanja vode zaostale nakon sušenja.



Slika 17. TG i dTG krive dehidriranog uzorka cvekla, na početku skladištenja (isprekidana linija) i nakon 1 godine skladištenja (puna linija)

Prvi i drugi stupanj su uočeni od 29 do oko 130 °C, i od 130 do oko 180 °C, respektivno, i odgovarali su im gubici mase manji od 4% . Ukupan gubitak mase do 180 °C je manji od $7,5\%$, i odgovara isparavanju adsorbovane vode i lako isparljivih komponenti. Trećem i glavnom stupnju degradacije, koji se odigrava u temperaturnom intervalu od 180 do oko 270 °C, odgovara gubitak mase od oko 40% i on se javlja usled razgradnje organskih jedinjenja manjih molekulskih masa koje ulaze u sastav praha cvekla, kao što su mono- i disaharidi. Iz literature je takođe poznato da se degradacija glukoze, fruktoze i saharoze odigrava u ovom pomenutom intervalu temperatura (Hurtta et al., 2004). Maksimalna brzina promene gubitka mase odgovara temperaturi od oko 210 °C (maksimum na dTG krivoj).

Četvrti stupanj degradacije, koji se javlja između 270 i 700 °C, odnosi se na raspadanje visokomolekularnih proizvoda, koji nastaju reakcijama polimerizacije produkata iz trećeg stupnja degradacije, ili su već prisutni u uzorku (ligninocelulozne komponente). Četvrtom stupnju odgovara gubitak mase od oko 30%, koji ukazuje da je udeo lignoceluloznih jedinjenja značajan (hemiseluloze, celuloze i lignina) s obzirom na to da ona degradiraju u pomenutom opsegu temperatura (Baldinelli et al., 2018; Leal et al., 2015; Yang et al., 2007; Yeng et al., 2015). Nakon skladištenja od godinu dana na dTG krivoj se uočava „rame“ na oko 250 °C, kojeg nema na početku skladištenja, i koje ukazuje da tokom dužeg stajanja dolazi do određenih promena za koje je isključivo odgovorno skladištenje praha cvekle. Maksimum na „ramenu“ odgovara maksimalnoj brzini degradacije jedinjenja koja se javljaju kao posledica dužeg stajanja. Ostatak na 700 °C iznosio je 25% početne mase praha cvekle. Dobijeni rezultati potvrđili su stabilnost praha cvekle na temperaturi pečenja čajnog peciva, koja omogućava širu primenu u proizvodnji konditorskih proizvoda.

Tabela 18. Gubitak mase (%) i temperature različitih stupnjeva degradacije, dobijene iz TG i dTG krivih praha cvekle nakon dehidratacije i nakon skladištenja od 1 godine

TGA	Jun 2021	Jun 2022
$T_s 1$ (°C)	29,0 ± 1,0	29,0 ± 2,0
$T_{end} 1$ (°C)	127 ± 1,0	127 ± 2,0
Gubitak mase 1 (%)	3,7 ± 0,5	3,0 ± 0,7
$T_s 2$ (°C)	127 ± 1,0	127 ± 2,0
$T_{end} 2$ (°C)	177 ± 2,0	174 ± 1,0
Gubitak mase 2 (%)	3,9 ± 0,3	3,5 ± 0,3
$T_s 3$ (°C)	177 ± 2,0	174 ± 1,0
$T_{end} 3$ (°C)	262 ± 1,0	269 ± 1,0
Gubitak mase 3 (%)	39,0 ± 3,0	42,0 ± 3,0
$T_s 4$ (°C)	262 ± 1,0	269 ± 1,0
$T_{end} 4$ (°C)	697 ± 1,0	698 ± 1,0
Gubitak mase 4 (%)	28,0 ± 1,0	27,0 ± 1,0
Ukupni gubitak mase (%)	75,0 ± 1,0	75 ± 1,0
T_{res} (°C)	697 ± 1,0	698 ± 1,0
Ostatak (%)	25,0 ± 1,0	25,0 ± 1,0

4.3. HEMIJSKI SASTAV PRAHA CVEKLE, SPELTINOGLA BRAŠNA I ČAJNOG PECIVA

Za određivanje hemijskog sastava čajnog peciva korišćeni su uzorci pripremljeni na 150 °C. Temperatura je izabrana na osnovu preliminarnih ispitivanja senzornih svojstava čajnog peciva, koja su pokazala da su uzorci pečeni na 150 °C senzorno prihvatljiviji. U Tabeli 19 prikazani su rezultati – hemijski sastav cvekle u prahu, brašna od spelte i čajnog peciva. U poređenju sa prahom cvekle, brašno od spelte sadrži znatno veći udeo masti (2,41% prema 0,59%). Takođe, prah cvekle sadrži znatno veći nivo dijetnih vlakana i pepela od brašna spelte zbog većeg sadržaja minerala u cvekli (Petek et al., 2019). Što se tiče proteina, brašno od spelte ima oko 20% više proteina od cvekle u prahu (Tabela 19.). Sadržaj pepela u prahu cvekle bio je 3,8%, što ukazuje da je cvekla dobar izvor minerala. S druge strane, prah cvekle ima sadržaj vlage od 6,8%, što ukazuje na dobar kapacitet skladištenja. (Lucky et al., 2020) prijavili su slične rezultate gde je sadržaj pepela u uzorcima praha cvekle iznosio 3,57%.

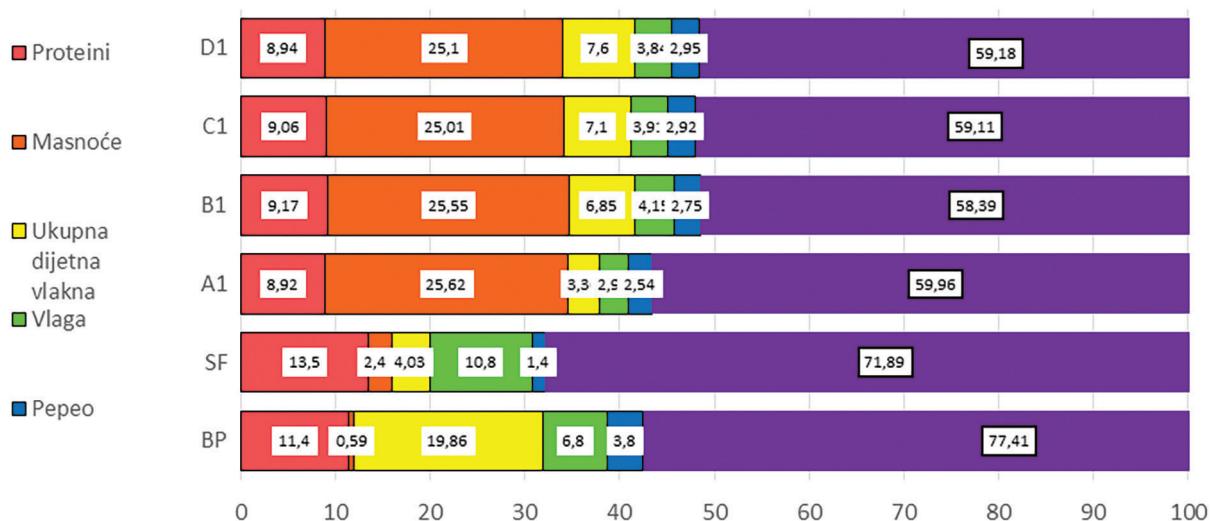
Rezultati u Tabeli 19 pokazuju da je udeo ugljenih hidrata bio veoma sličan za sve uzorke, i da se kretao u rasponu od 58,39% (uzorak B1) do 59,95% (uzorak A1). Kao što je i bilo očekivano, sadržaj proteina u uzorcima se blago smanjivao sa povećanjem sadržaja praha cvekla sa 9,17% (uzorak B1) na 8,94% (uzorak D1). Sličan rezultat su dobili i drugi autori, koji su takođe uočili da se sadržaj proteina kretao oko 12,42%, uz povećanje udela cvekla do 25% (Pinki et al., 2014). Svi uzorci imali su sadržaj masti od približno 25%, dok je najveći sadržaj pepela izmeren u uzorcima C1 i D1 ($> 2,9\%$), koji su sadržali najveći udeo praha cvekla. Sadržaj vlage varirao je sa povećanjem udela cvekla od 4,15% (uzorak B1) do 3,84% (uzorak D1), što se može povezati sa kapacitetom vezivanja vode koji je značajno niži kod praha cvekla u poređenju sa speltinim brašnom (Tabela 16).

Najveći sadržaj dijetnih vlakana je imao uzorak D1 (7,60%), usled visokog udela BP. Sa opadanjem udela cvekla, opadao je i sadržaj dijetnih vlakana (Tabela 19.). Sličan rezultat je dobijen u istraživanju u kojem je primećeno da se količina pepela i vlakana u ispitivanim kolačima povećava sa povećanjem udela cvekla u prahu (Nazni et al., 2011). Dijetna vlakna su prepoznata kao veoma poželjan sastojak prehrambenih proizvoda jer, između ostalog, smanjuju rizik od dijabetesa (Weickert et al., 2018).

Tabela 19. Hemijski sastav uzoraka cvekla u prahu (BP), brašna od spelte (SF) i čajnog peciva (A1, B1, C1, D1) pripremljenih na 150 °C. Prikazane su srednja vrednost i standardna devijacija. Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) između srednjih vrednosti komponenti hemijskog sastava u BP, SF i četiri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superskript slovima (A, B, C, D)

Hemijski parametar [%]	BP	SF	A1	B1	C1	D1
Masnoće	0,59 ± 0,12 ^A	2,41 ± 0,13 ^B	25,62 ± 0,35 ^C	25,55 ± 0,38 ^C	25,01 ± 0,34 ^C	25,10 ± 0,30 ^C
Ukupni ugljeni hidrati	77,41 ± 0,60 ^A	71,89 ± 0,19 ^B	59,95 ± 0,69 ^C	58,39 ± 0,62 ^C	59,11 ± 0,64 ^C	59,18 ± 0,79 ^C
Ukupna dijetna vlakna	19,90 ± 0,55 ^A	4,03 ± 0,21 ^B	3,36 ± 0,23 ^B	6,85 ± 0,20 ^C	7,10 ± 0,21 ^C	7,60 ± 0,41 ^C
Nerastvorljiva dijetna vlakna	14,80 ± 0,26 ^A	3,08 ± 0,32 ^B	2,64 ± 0,14 ^B	5,06 ± 0,29 ^C	5,30 ± 0,28 ^C	5,60 ± 0,39 ^C
Rastvorljiva dijetna vlakna	5,10 ± 0,29 ^A	0,95 ± 0,14 ^B	0,71 ± 0,10 ^B	1,79 ± 0,16 ^C	1,80 ± 0,19 ^C	2,04 ± 0,25 ^C
Ukupni šećeri	57,06 ± 1,21 ^A	1,58 ± 0,19 ^B	22,19 ± 0,32 ^B	30,63 ± 0,33 ^C	33,69 ± 0,35 ^D	35,89 ± 0,53 ^D
Saharoza	51,82 ± 0,54 ^A	0,51 ± 0,08 ^B	20,96 ± 0,18 ^C	28,97 ± 0,22 ^D	31,97 ± 0,20 ^E	33,86 ± 0,20 ^F
Glukoza	3,46 ± 0,42 ^A	0,82 ± 0,11 ^B	0,85 ± 0,09 ^B	1,14 ± 0,06 ^B	1,19 ± 0,09 ^B	1,42 ± 0,21 ^B
Fruktoza	1,78 ± 0,30 ^A	0,25 ± 0,04 ^B	0,38 ± 0,05 ^B	0,53 ± 0,05 ^B	0,53 ± 0,06 ^B	0,61 ± 0,13 ^B
Proteini	11,4 ± 0,20 ^A	13,50 ± 0,11 ^B	8,92 ± 0,12 ^C	9,17 ± 0,08 ^C	9,06 ± 0,13 ^C	8,94 ± 0,18 ^C
Pepeo	3,80 ± 0,18 ^A	1,40 ± 0,07 ^B	2,54 ± 0,10 ^C	2,75 ± 0,08 ^{CD}	2,92 ± 0,11 ^D	2,95 ± 0,14 ^D
Vlaga	6,80 ± 0,18 ^A	10,80 ± 0,18 ^B	2,96 ± 0,14 ^C	4,15 ± 0,06 ^D	3,91 ± 0,07 ^D	3,84 ± 0,18 ^D

Shematski prikaz hemijskog sastava čajnog peciva, kao i praha od cvekla i brašna, prikazan je na slici 18, u cilju jednostavnijeg uvida u sastav novokreiranih prehrambenih proizvoda od strane potencijalnih budućih potrošača.



Slika 18. Shematski prikaz hemijskog sastava čajnog peciva, praha od cvekle i speltinog brašna.

4.4. SADRŽAJ MAKRO- I MIKROELEMENTA

Makro- i mikroelementi su suštinski značajni za funkcionisanje i održavanje ćelije, tkiva, organa, kao i kompletног čovekovog organizma. Veoma su bitni za zdravu i izbalansiranu ishranu ljudi. U zavisnosti od koncentracije, makro- i mikroelementi međusobno stupaju u reakcije. Ovako, oni poboljšavaju ili inhibiraju međusobno dejstvo. Povećan ili prekomeren unos nekog elementa može uticati na metabolizam drugog elementa koji je u niskim koncentracijama. Nedovoljan unos dovodi do deficit-a, a prekomeren unos, opterećivanjem metaboličkih kapaciteta organizma, dovodi do toksičnih efekata. Između ove dve krajnosti nalazi se količina koja je izražena kao preporučeni unos koji sprečava deficit i osigurava kvalitetno funkcionisanje organizma. Preporučeni unos zavisi od populacije, pola, starosti, navika u ishrani, životnog veka. Makroelementi su minerali čije su dnevne potrebe veće od 100 mg/kg telesne mase (Novaković i Todorović, 2014). Makroelementi su strukturne komponente tkiva, a takođe imaju ulogu u regulaciji krvnog pritiska i kiselo-baznoj ravnoteži, kontrakciji mišića i provođenju nervnih impulsa (Imelouane et al., 2011). U ovu grupu spadaju: natrijum, kalijum, kalcijum, fosfor, magnezijum. Minerali zauzimaju oko 5% od ukupne mase tela, od kojih je 50% kalcijum, a 25% fosfor. Samo se u kostima i Zubima nalazi oko 99% kalcijuma i oko 70% fosfora. U organizmu se nalaze u jonskom obliku. Iz svega navedenog sledi da se dovoljnim dnevnim unosom makroelemenata u organizam ne sprečava samo deficit istih, već se doprinosi poboljšanju zdravstvenog stanja i smanjenju nastanka i razvoja hroničnih bolesti i metaboličkih poremećaja. Zbog ovih uloga makroelementi spadaju u grupu regulatornih materija (Novaković i Todorović, 2014).

Natrijum je katjon koji ima deset puta veću koncentraciju u vanćelijskoj tečnosti nego u ćeliji. On održava osmotsku koncentraciju telesnih tečnosti, reguliše balans vode u organizmu i održava akcioni potencijal koji je odgovoran za prenošenje nervnih impulsa i kontrakciju mišića. Veliki deo (90-95%) izlučuje se urinom, a ostatak preko stolice i znoja. Unosi se preko kuhinjske soli (natrijum-hlorid), zatim u obliku bikarbonata, glutaminata i citrata (iz industrijskih proizvoda). Količine natrijuma u mesu, žitaricama, mleku, voću i povrću su znatno manje. Kako visoka koncentracija natrijuma može dovesti do skoka krvnog pritiska, unos odrasle osobe ne bi trebalo da prelazi 2300 mg natrijuma dnevno (tj. 6 g natrijum-hlorida). Bubrezi zdravih osoba mogu izlučiti prekomerno unet natrijum, ali vremenom može doći do disbalansa kalcijuma i pojave osteoporoze. Smanjenje koncentracije natrijuma dolazi usled prekomernog znojenja ili dijareje, i manifestuje se suvoćom usta, jezika, grčeva u mišićima, padom pritiska i ubrzanim pulsom (Strunc i Jop, 2008).

Kalijumov jon se, za razliku od natrijuma, 98% nalazi u ćelijama, a samo je 2% u vanćelijskoj tečnosti. Natrijum zajedno sa kalijumom održava osmotski pritisak, kiselo-baznu ravnotežu i električni potencijal ćelijske membrane. Imaju važnu ulogu u eliminisanju ugljen-dioksida iz pluća. Apsorpcija kalijuma vrši se u tankom crevu i izlučuje urinom i stolicom.

Kalijum se nalazi u biljkama (sveže voće, povrće, žitarice) i namirnicama životinjskog porekla (meso, mleko). U prerađevinama ga ima jako malo. Kao i kod natrijuma, deficit kalijuma ne nastaje njegovim nedovoljnim unosom, već kao posledica upotrebe laksativa, diuretika i obilnog izbacivanja telesne tečnosti, što izaziva slabost i ubrzano lupanje srca. Prekomerni unos kalijuma nije toksičan jer bubrezi regulišu njegovo izbacivanje. Dnevne potrebe za kalijumom su 4700 mg (Strunc i Jop, 2008).

Kalcijum je mineral koji je najzastupljeniji u ljudskom organizmu. U prvom delu životnog veka njegova količina se povećava, dok se starenjem smanjuje. Samo se 1% nalazi unutar ćelija, a 99% u kostima i zubima (Novaković i Todorović, 2014). Pri nedovoljnem unosu kalcijuma, on se izdvaja iz kostiju kako bi se održao normalan nivo u krvi, što može dovesti do osteoporoze. Kalcijum ima ulogu u prevenciji kardiovaskularnih oboljenja, gojaznosti, utiče na funkciju hormona i enzima. Za normalan protok kalcijuma kroz organizam, neophodan je vitamin D. Apsorpcija kalcijuma se smanjuje ako je smanjena kiselina u želucu i povećan unos fosfora, a povećava se većim unosom natrijuma i belančevina. Veliki izvor kalcijuma su: zeleno povrće, sardine, leguminoze, mlečni proizvodi. Na lošu iskoristljivost kalcijuma utiče loš odnos kalcijuma i fosfora. Povećan unos alkohola i kafe utiče na smanjenu apsorpciju kalcijuma. Preporučena dnevna doza je 1200 mg. Veće količine mogu da dovedu do disbalansa gvožđa i cinka (Strunc i Jop, 2008). Fosfor se nalazi u zubima i skeletu (85%) i 15% u metaboličkom delu ćelija. Učestvuje u aktivaciji hormona i enzima, prenosu energije i održavanju kiselo-bazne ravnoteže. Bogat izvor fosfora su: jaja, riba, meso, mlečni proizvodi, sirevi, jezgrasto voće, leguminoze, cerealije, tako da je deficit fosfora jako redak. Preporučeni dnevni unos ne bi trebalo da pređe 4000 mg (Stojanović et al., 2012). Magnezijum se nalazi u kostima (oko 60%), mišićima (oko 26%) i drugim tkivima i tečnostima. Manjak magezijuma manifestuje se napetošću, grčevima u mišićima i manjkom energije i može izazvati pojavu bubrežnih bolesti i bolesti endokrinog sistema.

Magnezijum je važan za održavanje potencijala ćelijske membrane, odnosa Na-K, mineralizaciji kostiju i koagulaciji krvi. Dobar izvor magnezijuma su: semenke, jezgrasto voće, žitarice, tamno-zeleno povrće, leguminoze. Nepravilnom ishranom, fizičkim i psihičkim stresom, kao i visokim unosom kalcijuma i vitamina D, povećavaju se potrebe za magnezijumom. Dnevne preporučene doze su 350 mg (Stojanović et al., 2012).

S druge strane, mikroelementi su u ljudskom organizmu prisutni u mnogo manjoj količini od makroelemenata, mada imaju veoma značajnu ulogu u mnogim biohemiskim procesima. U mikroelemente spadaju: gvožđe, mangan, bakar, jod, cink, kobalt, fluor, selen itd. (Mihaljev et al., 2015; Tuzen, 2003). Gvožđe u organizmu prenosi kiseonik iz pluća u krv i najveći deo gvožđa se nalazi u hemoglobinu. Višak gvožđa smešten je u jetri, slezini i koštanoj srži. Raznovrsnom ishranom dnevno se unese 10-30 mg gvožđa. Veliki izvor gvožđa su: riba, jaja, meso, soja, ovas, bundeva, grašak. Deficit se može javiti usled hroničnih krvarenja, loše apsorpcije ili nedovoljnog unosa putem hrane, kada dolazi do anemije i javljaju se simptomi kao što su: umor, malaksalost, otežano disanje, glavobolja, lupanje srca (Kovačević et al., 2006). Nedostatak gvožđa je jedan od glavnih faktora nastanka svih bolesti, a posebno pogađa žene u premenopauzi (25% od ukupne populacije) i decu (30-47%). Dugotrajna anemija, koja se ne leči, može dovesti do funkcionalnih oštećenja u organizmu (Sant-Rayn et al., 2021).

Cink je izuzetno jak antioksidans. Učestvuje u odbrambenom mehanizmu organizma sprečavanjem toksičnih delovanja slobodnih radikala. Utiče na bolju koncentraciju i pamćenje, pa tako

njegov deficit može dovesti do emotivnih problema, kao i do problema sa učenjem i ponašanjem. Ima ulogu u podsticaju hormona i proizvodnji testosterona. Cink se svakodnevno mora unositi pošto ga u organizmu nema u rezervama. Nalazi se u: ostrigama, jajima, ribi, integralnim žitarićama, orasima i mahunarkama. Nedostatak cinka se najčešće javlja kod žena i tinejdžera i dovodi do: pojave peruti, opadanja i lomljena kose i sušenja kože. Njegov nedostatak se može javiti zbog nepravilne ishrane, zatim dugotrajne upotrebe antibiotika i laksativa, ili nakon učestale terapije gvožđem i bakrom. (Daničić, 2002). Značaj makro- i mikroelemenata za metabolizam biljaka je jednak kao i za ljude, ali je njihova fiziološka uloga u biljkama različita. Mnoga istraživanja koja su rađena na ispitivanju mikro- i makroelemenata pokazala su da je njihov sadržaj u biljnim materijalima veliki. Tako je i u ovom radu nađeno da cvekla, kao i proizvodi sa brašnom cvekle, sadrže značajnu količinu različitih mikro- i makroelemenata. Od makroelemenata su određeni: kalijum (K), magnezijum (Mg), kalcijum (Ca), fosfor (P), natrijum (Na) i sumpor (S), a od mikroelemenata i elemenata u tragovima su ispitani cink (Zn), mangan (Mn), gvožđe (Fe), bakar (Cu), selen (Se), bor (B), hrom (Cr), kobalt (Co), aluminijum (Al), arsen (As), barijum (Ba), kadmijum (Cd), litijum (Li), nikl (Ni), stroncijum (Sr) i olovo (Pb). Sadržaj makro- i mikroelemenata u brašnu od cvekle, speltinom brašnu i uzorcima čajnog peciva prikazan je u Tabelama 20 i 21. Sadržaj kalijuma, koji dominantno potiče iz cvekle, u kojoj je njegova koncentracija bila 7180 mg/kg, povećavao se sa povećanjem sadržaja brašna od cvekle u uzorcima i kretao se od 1059 mg/kg do 2743 mg/kg. Statistički značajno povećanje uočeno je između slepe probe i uzorka sa 15 i 20% brašna od cvekle. Povećanje udela brašna od cvekle sa 20 na 25% u uzorcima čajnog peciva, pri nižoj temperaturi pečenja, nije pokazao značajnu statističku razliku, ali je u uzorku sa 25% cvekle uočen statistički značajan uticaj temperature pečenja. Slična količina kalijuma pronađena je i u brašnu od tropske jabuke (4228-6398 mg/kg) (Gorjanović et al., 2020). Kako kalijum deluje na održavanje kiselo-bazne ravnoteže organizma, smanjuje rizik od koronarnih oboljenja i moždanog udara i kako su dnevne potrebe odrasle osobe za kalijumom oko 4700 mg/dan, brašno od cvekle može biti veoma dobar izvor kalijuma. U poređenju sa drugim izvorima kalijuma, brašno od cvekle ima do 7 puta veću količinu kalijuma od brašna pirinča (974 mg/kg) i oko pet puta veću količinu od brašna pšenice (1500 mg/kg) (Hager et al., 2012). Dovoljnom količinom kalijuma poboljšava se metabolizam i sprečava gojaznost (Cai et al., 2016).

Najveći sadržaj kalcijuma pronađen je u uzorku sa 25% brašna od cvekle, gde je iznosio 270 mg/kg. U poređenju sa kontrolnim uzorkom, sadržaj kalcijuma statistički se značajno povećavao сразмерno povećanju sadržaja cvekle u uzorcima. Kalcijum je izuzetno bitan mineral koji sprečava razvoj osteoporoze, utiče na poboljšanje rada hormona i enzima i sprečava gojaznost. S obzirom na preporučene dnevne potrebe odraslog организма за kalcijumom (1200 mg/kg), uzorak sa 25% praha od cvekle umnogome može doprineti zadovoljenju ovih potreba. U istraživanju koje su radili Pinki i Avasthi (2014), pokazali su da je sadržaj Ca povećan u ispitanim uzorcima keksa sa 32,0 na 52,0 (mg/100 g), сразмерno povećanjem udela cvekle u prahu od 0 do 25%. Uthira i Lakmi (2009) razvili su formulacije čajnog peciva bogate proteinima koje sadrže koncentrat proteina surutke (10 i 15%) i pokazali da je inkorporacija rezultirala četverostrukim povećanjem sadržaja kalcijuma, od 25,10 do 91,50 mg/100 g.

Brašno od cvekle je bogat izvor fosfora (2602 mg/kg) – Tabela 21, ali s obzirom na znatnu količinu fosfora i u brašnu od spelte (3763 mg/kg), primećno je statistički značajno smanjenje koncentracije fosfora sa povećanjem sadržaja cvekle (i smanjenjem sadržaja speltinog brašna) u uzorcima (do 3255-2750 mg/kg). Iz ovoga se može uočiti da fosfor dominantno potiče od spelte. Da cvekla ipak nije zanemarljivi izvor fosfora, pokazali su Pinki i Avasthi (2014), u čijem je istraživanju pronađeno povećanje sadržaja fosfora (310 na 532 mg/100 g), sa povećanjem udela cvekle u prahu od 0 do 25%.

Natrijum je potreban kako bi se provodili nervni impulsi i održao balans vode u organizmu (maksimalno dozvoljena količina je do 2300 mg dnevno).

U ispitivanim uzorcima koncentracija natrijuma se statistički značajno povećavala. U prahu od cvekla je bila 2733 mg/kg, a u uzorcima od 564 do 1220 mg/kg, srazmerno povećanju udela praha od cvekla.

Od mikroelemenata, najdominantniji su bili gvožđe i cink.

Koncentracija gvožđa koja je u prahu cvekla bila 13,66 mg/kg, statistički se značajno smanjivala sa povećanjem udela brašna od cvekla i smanjenjem udela speltinog brašna (15,46-11,83 mg/kg). Razlog ovome je visoka koncentracija gvožđa u brašnu od spelte (23,32 mg/kg). Slična situacija je uočena kod cinka. Speltino brašno sadrži veću količinu cinka (23,78 mg/kg) od brašna od cvekla (19,66 mg/kg), pa se povećanjem udela brašna od cvekla (i smanjenjem udela speltinog brašna), značajno smanjivao sadržaj cinka u uzorcima (16,45-13,32 mg/kg).

Arsen, kobalt, kadmijum i olovo su toksični i fiziološki nepotrebni elementi, i spadaju u grupu teških metala. Kao nerazgradivi, dugo ostaju u zemljištu i tako dospevaju u biljke. Zemlja se kontaminira teškim metalima preko hemijskih đubriva, blizine industrija i saobraćajnica. Teški metali su u izuzetno malim koncentracijama otrovni za žive organizme, a pretpostavlja se da imaju i kancerogena svojstva. Dospevajući u zemljište, zadržavaju se uglavnom u korenju biljaka, što oštećuje koren sistem i usporava rast, a još veća je opasnost što preko biljka (pogotovo onih čije korenje se koristi za ishranu, kao što je cvekla), dospevaju u ljudski organizam (Mihaljev et al., 2015).

Koncentracije toksičnih elemenata (olovo, arsen, kobalt) u uzorcima brašna od spelte, brašna od cvekla, pa tako i u čajnom pecivu, nisu detektovane. Aluminijum se prirodno pojavljuje u mnogim namirnicama u niskim koncentracijama, a prisutan je i u mnogim lekovima i vodi za piće. Prosečna odrasla osoba unese oko 7-9 mg aluminijuma dnevno kroz hranu. Koncentracija aluminijuma u ispitivanim uzorcima čajnog peciva je bila do 0,81 mg/kg, što je ispod granica dnevnih unosa. Koncentracija kadmijuma je takođe bila jako niska (od 0,01 do 0,05 mg/kg) – Tabela 21.

S obzirom na rezultate koji su dobijeni, i visok sadržaj kalijuma, kalcijuma i fosfora u čajnom pecivu sa dodatkom praha od cvekla, možemo zaključiti da je pecivo dobar izvor ovih minerala i da se može naći u svakodnevnoj ishrani kako bi doprineo očuvanju zdravlja kako odraslih, tako i dece.

Tabela 20. Sadržaj makroelemenata u prahu cvekle (BP), brašnu od spelte (SF) i čajnom pecivu (A1, B1, C1, D1) pripremljenom na 150 °C i 170 °C. Prikazana je srednja vrednost sa standardnom devijacijom. Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) između srednjih vrednosti komponenti sastava u BP, SF i četiri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superskriptnim slovima (A, B, C, D)

uzorak mg/kg	K	Na	P	S	Ca	Mg
SF	1410 ± 28,00	10,45 ± 0,06	3763 ± 57,85	1271 ± 13,42	127 ± 1,18	500 ± 13,19
BP	7180 ± 144,13	2733 ± 10,45	2602 ± 10,23	908 ± 3,02	647 ± 18,83	580 ± 3,72
A1	1059 ^A ± 9,63	564 ^A ± 5,16	3255 ^A ± 14,09	780 ^A ± 1,17	121 ^A ± 4,46	409 ^A ± 5,63
B1	2303 ^B ± 24,28	1077 ^B ± 6,54	2750 ^B ± 15,64	667 ^B ± 3,97	222 ^B ± 4,59	438 ^B ± 6,30
C1	2608 ^C ± 14,97	1225 ^C ± 29,72	2760 ^C ± 0,70	646 ^C ± 2,11	237 ^C ± 6,24	484 ^C ± 5,14
D1	2637 ^C ± 68,42	1196 ^D ± 0,23	2750 ^B ± 14,11	622 ^D ± 0,00	260 ^D ± 5,76	430 ^D ± 7,99
A2	1074 ^A ± 10,01	569 ^A ± 5,19	3279 ^A ± 15,03	786 ^A ± 1,21	125 ^A ± 5,32	424 ^A ± 6,12
B2	2283 ^B ± 26,82	1069 ^B ± 9,41	2787 ^B ± 10,58	659 ^B ± 1,88	275 ^B ± 9,91	436 ^B ± 11,05
C2	2660 ^C ± 13,74	1250 ^C ± 1,86	2750 ^C ± 6,75	639 ^C ± 2,56	238 ^C ± 2,07	478 ^C ± 9,79
D2	2743 ^D ± 13,63	1220 ^D ± 15,51	2961 ^D ± 0,94	642 ^C ± 2,35	270 ^D ± 1,62	470 ^D ± 0,70

Tabela 21. Sadržaj mikroelemenata i elemenata u tragovima u prahu cvekla (BP), brašnu od spelta (SF) i čajnom pecivu (A1, B1, C1, D1) pripremljenom na 150 °C i 170 °C. Prikazana je srednja vrednost sa standardnom devijacijom. Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) između srednjih vrednosti komponenti sastava u BP, SF i četiri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superskriptnim slovima (A, B, C, D)

uzorak mg/kg	Zn	Mn	Cu	Fe	Cr	Se	B	Al	Li	Ni	Sr	Ba	Ca	Pb
SF	23,78 ± 0,47	14,05 ± 0,32	3,553 ± 0,06	23,322 ± 0,63	n.d.	0,41 ± 0,06	0,21 ± 0,03	2,00 ± 0,09	0,07 ± 0,00	0,36 ± 0,00	0,31 ± 0,00	0,31 ± 0,11	0,02 ± 0,00	n.d.
BP	19,66 ± 0,05	19,38 ± 3,72	4,73 ± 0,16	13,66 ± 0,94	n.d.	0,28 ± 0,02	12,94 ± 0,01	0,62 ± 0,15	0,92 ± 0,00	1,42 ± 0,00	8,61 ± 0,05	12,72 ± 0,04	0,20 ± 0,00	n.d.
A1	16,45 ^A ± 0,04	7,84 ^A ± 0,05	2,28 ^A ± 0,00	15,46 ^A ± 0,43	0,06 ^A ± 0,00	0,60 ^A ± 0,05	n.d.	0,79 ^A ± 0,10	0,06 ^A ± 0,00	0,26 ^A ± 0,00	0,21 ^A ± 0,00	0,27 ^A ± 0,03	0,01 ^A ± 0,00	n.d.
B1	13,25 ^B ± 0,09	6,85 ^B ± 0,15	2,15 ^B ± 0,03	12,78 ^B ± 0,41	0,40 ^B ± 0,35	0,68 ^B ± 0,03	1,96 ^B ± 0,02	0,50 ^B ± 0,04	0,14 ^B ± 0,00	0,33 ^B ± 0,00	1,45 ^B ± 0,01	2,15 ^B ± 0,00	0,02 ^B ± 0,00	n.d.
C1	13,40 ^C ± 0,03	5,43 ^C ± 0,07	2,61 ^C ± 0,02	12,02 ^C ± 0,01	0,32 ^C ± 0,04	0,63 ^C ± 0,15	2,77 ^C ± 0,01	0,74 ^C ± 0,18	0,20 ^C ± 0,00	0,19 ^C ± 0,00	1,96 ^C ± 0,02	3,09 ^C ± 0,07	0,05 ^C ± 0,00	n.d.
D1	13,32 ^B ± 0,06	6,61 ^D ± 0,27	2,24 ^A ± 0,02	11,83 ^D ± 0,48	n.d.	0,68 ^B ± 0,00	2,71 ^C ± 0,01	0,44 ^D ± 0,21	0,18 ^D ± 0,00	0,42 ^D ± 0,00	1,90 ^D ± 0,06	3,12 ^C ± 0,07	0,02 ^D ± 0,00	n.d.
A2	16,56 ^A ± 0,02	8,16 ^A ± 0,05	2,33 ^A ± 0,00	15,98 ^A ± 0,42	0,26 ^A ± 0,00	0,68 ^A ± 0,04	n.d.	0,81 ^A ± 0,11	0,06 ^A ± 0,00	0,25 ^A ± 0,00	0,22 ^A ± 0,00	0,26 ^A ± 0,02	0,01 ^A ± 0,00	0,006 ± 0,00
B2	14,77 ^B ± 0,11	6,54 ^B ± 0,04	2,20 ^B ± 0,00	14,67 ^B ± 0,48	n.d.	0,57 ^B ± 0,00	1,94 ^B ± 0,01	0,79 ^B ± 0,02	0,17 ^B ± 0,00	0,36 ^B ± 0,00	1,43 ^B ± 0,00	2,11 ^B ± 0,03	0,02 ^B ± 0,00	n.d.
C2	13,51 ^C ± 0,03	5,27 ^C ± 0,05	2,64 ^C ± 0,01	11,69 ^C ± 0,44	0,25 ^C ± 0,08	0,69 ^A ± 0,13	2,71 ^C ± 0,00	0,90 ^C ± 0,08	0,20 ^C ± 0,00	0,20 ^C ± 0,00	1,88 ^C ± 0,00	2,99 ^C ± 0,01	0,05 ^C ± 0,00	n.d.
D2	13,85 ^D ± 0,03	7,18 ^D ± 0,10	2,32 ^A ± 0,00	13,33 ^D ± 0,16	0,15 ^D ± 0,21	0,66 ^C ± 0,05	2,65 ^D ± 0,02	0,77 ^D ± 0,06	0,18 ^D ± 0,00	0,42 ^D ± 0,00	1,95 ^D ± 0,01	3,12 ^D ± 0,03	0,02 ^D ± 0,00	n.d.

n.d. nije detektovano

As, Co su bili van granice detekcije u svim ispitivanim uzorcima

4.5. SADRŽAJ BETAINA

Betain je neesencijalni nutrijent čija je glavna fiziološka funkcija donacija metil grupa u reakcijama transmetilacije i zaštiti ćelija od osmotskog stresa. Pošto se ne može formirati endogeno, potrebno ga je uneti putem hrane. Unos betaina ishranom smanjuje metabolički sindrom, snižava sadržaj ukupnog homocisteina i rizik od kardiovaskularnih bolesti (Craig, 2004; Olthof et al., 2003; Zwart de et al., 2003). Takođe, betain može smanjiti rizik od razvoja kancera, bolesti jetre, depresije i periferne neuropatije (Filipčev et al., 2016). Zbog velikog uticaja na zdravlje, sadržaj betaina u čajnom pecivu je bio predmet mnogih istraživanja.

Uredba Komisije (EU) br. 432/2012 u popisu dopuštenih zdravstvenih tvrdnji navodi da hrana koja sadrži najmanje 500 mg betaina po kvantifikovanoj porciji doprinosi normalnom metabolizmu homocisteina, pod uslovom da ukupan dnevni unos betaina dostigne 1,5 g.

Melasa šećerne repe, pšenične mekinje, pšenične klice, kinoa, spanać, cvekla i školjke (Craig, 2004; Ross, et al., 2014; Zwart de et al., 2003) bogat su izvor betaina.

U istraživanju (Ross et al., 2014) pokazano je da su žitarice glavni izvor betaina u zapadnjačkoj ishrani i ukazano je na važnost upotrebe pšenice, posebno proizvoda od celog zrna, za zadovoljavanje dnevnih potreba za betainom. Takođe je naglašeno da ljudi koji izbegavaju hranu bogatu glutenom verovatno imaju nizak unos betaina. Konzumiranjem 100 g čajnog peciva koje je obogaćeno betainom, može se očekivati unos od 280 do 1370 mg betaina, pokazano je u istraživanju koje su sproveli Slow et al. (2005). Zdravstveni efekti se mogu očekivati pri dozama većim od 1,00 do 1,50 g dnevno (Slow et al., 2005), mada su mnogi autori naglasili da je teško postići prihvativljiv ukus sa više od 800 mg betaina dnevno (Lever i Slow, 2010). U istraživanju koje su sproveli Kojić et al. (2017), dobijeni su rezultati za sadržaj betaina u različitim uzorcima žitarica. Pšenične mekinje i čajno pecivo obogaćeni melasom su pokazali najveći sadržaj betaina. Betain je varirao u žitaricama za doručak zbog samog sastava koji nije uvek isti (voće, žitarice). Ross et al. (2014) našli su nizak sadržaj betaina u musliju (< 150 mg/g), koji je bio baziran na ovsu i suvom voću, koji i sami imaju nizak sadržaj betaina. U pšeničnim proizvodima od celog zrna, u poređenju sa rafinisanim pšeničnim proizvodima, nađeno je dva do četiri puta više betaina.

U istraživanju koje su obavili Kojić et al. (2017) pokazano je da speltino zrno i brašno od celog zrna spelte imaju više betaina od brašna obične pšenice (56,52-81,46 mg/100 g, 125,640 mg/100 g i 31,00 mg/g). Zaključeno je da speltino zrno predstavlja bolji izvor betaina u poređenju sa običnom pšenicom. U istraživanju Slow et al. (2005) utvrđeno je da klimatski uslovi utiču na sadržaj betaina u zrnu, pa uslovi suše mogu dovesti do većeg nivoa betaina. Takođe, viši sadržaj betaina pronađen je u žitaricama kao što su tritikale, ječam i raž u poređenju sa običnom pšenicom (Corol et al., 2012). Bezglutenski proizvodi imaju dosta niži sadržaj betaina od proizvoda sa glutenom. U najvećem broju komercijalno dostupnih bezglutenskih proizvoda zabeležen je sadržaj niži od 150 µg/g betaina (Ross et al., 2014).

S obzirom na visok nivo betaina u prahu cvekli, koji se tokom 6 skladištenja značajno povećavao, od 909 preko 898 do 1197 mg/100 g ($p < 0,05$) i nivo betaina u speltinom brašnu, koji se nije značajno smanjio tokom skladištenja, očekivano je da čajno pecivo na bazi cvekli ima visok sadržaj betaina. Sa povećanjem udela praha cvekli srazmerno je rastao i sadržaj betaina. Uzorci sa 25% praha cvekli pokazali su najveći sadržaj betaina, 307 mg/100 g na početku skladištenja i 403 mg/100 g u šestom mesecu skladištenja. Uzorci sa 25 i 20% praha cvekli pokazali su isti trend povećanja sadržaja betaina tokom skladištenja, i to: 258-329 mg/100 g (B1), 179-196 mg/100 g (B2), 283-375 mg/100 g (C1) i 276-365 mg/100 g (C2), kao što je prikazano u Tabeli 22.

Tabela 22. Sadržaj betaina u uzorcima čajnog peciva pečenih na različitim temperaturama u različitim periodima skladištenja. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C). Značajne razlike u srednjim vrednostima između četiri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superskriptnim brojevima (1, 2, 3, 4).

Uzorak	Sadržaj betaina u uzorku (mg/100 g)		
	Početak skladištenja	3. mesec	6. mesec
SF	131 ^A	141 ^B	128 ^A
BP	909 ^A	898 ^B	1197 ^C
A1	74,6 ^{1AB}	72,2 ^{1A}	76,5 ^{1B}
B1	258 ^{2A}	217 ^{2B}	329 ^{2C}
C1	283 ^{2A}	279 ^{3A}	375 ^{3B}
D1	307 ^{3A}	292 ^{3B}	403 ^{4C}
A2	74,9 ^{1A}	77,9 ^{1A}	82,3 ^{1A}
B2	179 ^{2A}	135 ^{2B}	196 ^{2C}
C2	276 ^{3A}	266 ^{3A}	365 ^{3B}
D2	289 ^{4A}	274 ^{3B}	387 ^{3C}

Temperatura pečenja je uticala na promenu sadržaja betaina u uzorcima sa 20 i 25% praha cvekle. Naime, na početku skladištenja značajno manje betaina ($p < 0,05$) imalo je čajno pecivo pečeno na 170 °C (C1 i D1 u odnosu na C2 i D2). U trećem mesecu nije bilo statistički značajnih razlika, da bi u šestom mesecu jedino uzorak D2 pokazao značajni pad betaina u odnosu na uzorak D1.

S obzirom na to da prema Uredbi Komisije (EU) br. 432/2012, hrana koja sadrži najmanje 500 mg betaina po kvantifikovanoj porciji doprinosi normalnom metabolizmu homocisteina, može se zaključiti da čajno pecivo iz ovog rada, sa 25% praha cvekle, pečeno na 150 °C i sadržajem betaina od 403 mg/100 g, može da se svrsta u ovu kategoriju i doprinese poboljšanju zdravstvenog stanja konzumenata.

4.6. SADRŽAJ BETALAINA, POLIFENOLA I FLAVONOIDA

4.6.1. Sadržaj ukupnih betalaina

Zdravstveni efekti biljnih pigmenata, kao što su betalaini i antocijanini rastvorni u vodi, kao i karotenoidi i hlorofili rastvorni u mastima, ispitani su u okviru brojnih studija (Kavalcova et al., 2015; Zinp et al., 2021). Betalaini i antocijanini su strukturno i hemijski različiti pigmenti, koji se nalaze u vakuolama biljnih ćelija, ali nikada u istoj biljci zajedno. Betalaini se mogu naći u relativno malom broju biljaka, kao što su crvena cvekla, amarant, kaktusna kruška, pitaja i neke krtole (Albano et al., 2015; Faridah et al., 2015; Miguel et al., 2018). Betalaini se sastoje od betacijanina, koji obezbeđuju crveno-ljubičastu boju, i betaksantina, koji daju žutu boju voću i povrću. Sa nutritivne perspektive betalaini su grupa fitohemikalija sa ograničenim učešćem u ishrani. Sadržaj betacijanina i betaksantina u svežoj cvekli varira od 0,04 do 0,21% i 0,02–0,14%, redok, u zavisnosti od sorte, a betacijanini su stabilniji od betaksantina (Kayin et al., 2019). U betalainima su prisutni brojni endogeni enzimi, uključujući glukozidaze, polifenoloksidaze i peroksidaze, koje, ako nisu pravilno inaktivirane npr. tokom blanširanja, mogu biti odgovorne

za degradaciju pigmenata i posledično degradaciju boje (Azeredo et al., 2006). S druge strane, betalaini su pogodni za upotrebu u širokom rasponu pH vrednosti (pH = 3-7) i manje su podložni hidrolitičkom cepanju od antocijanina.

Sadržaj ukupnih betacijanina i betaksantina u prahu cvekla, kao i čajnom pecivu pečenom na 150 °C i 170 °C, određen je tokom skladištenja i prikazan u Tabeli 23. Tokom šestomesečnog skladištenja sadržaj betaksantina je smanjen za 30%, dok je sadržaj betacijanina opao za 36%. Ovo ukazuje da su betaksantini bili nešto stabilniji tokom skladištenja od betacijanina. Takođe, dobijeni rezultati ukazuju da se količina betacijanina i betaksantina u čajnom pecivu značajno povećava sa povećanjem udela praha cvekla (Tabela 23). Ove razlike su bile veće na početku skladištenja kao i nakon tri meseca, ali su se smanjile nakon šest meseci skladištenja.

Tabela 23. Sadržaj betacijanina i betaksantina u prahu cvekla (BP) i uzorcima čajnog peciva pečenih na različitim temperaturama u različitim periodima skladištenja. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C). Značajne razlike u srednjim vrednostima između tri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superskriptnim brojevima (1, 2, 3).

Uzorak	Ukupni betacijanini ($\text{mg}_{\text{betanin}}/100 \text{ g}$)			Ukupni betaksantini ($\text{mg}_{\text{vulgaxantin}}/100 \text{ g}$)		
	Početak skladištenja	3. mesec	6. mesec	Početak skladištenja	3. mesec	6. mesec
B1	$3,19 \pm 0,00^{\text{A};1}$	$1,47 \pm 0,01^{\text{B};1}$	$1,27 \pm 0,02^{\text{C};1}$	$2,23 \pm 0,03^{\text{A};1}$	$1,41 \pm 0,34^{\text{B};1}$	$1,01 \pm 0,00^{\text{C};1}$
C1	$3,43 \pm 0,01^{\text{A};1}$	$2,28 \pm 0,00^{\text{B};2}$	$1,13 \pm 0,01^{\text{C};2}$	$3,31 \pm 0,71^{\text{A};2}$	$2,11 \pm 0,02^{\text{B};2}$	$0,97 \pm 01^{\text{C};1}$
D1	$3,88 \pm 0,05^{\text{A};2}$	$3,24 \pm 0,04^{\text{B};3}$	$1,23 \pm 0,01^{\text{C};12}$	$3,28 \pm 0,06^{\text{A};2}$	$2,74 \pm 0,05^{\text{B};3}$	$0,95 \pm 0,02^{\text{C};1}$
B2	$1,78 \pm 0,01^{\text{A};1}$	$1,27 \pm 0,01^{\text{B};1}$	$1,15 \pm 0,01^{\text{C};1}$	$1,65 \pm 0,04^{\text{A};1}$	$1,18 \pm 0,03^{\text{B};1}$	$0,92 \pm 0,19^{\text{C};1}$
C2	$1,90 \pm 0,05^{\text{A};1}$	$1,36 \pm 0,04^{\text{B};12}$	$1,61 \pm 0,02^{\text{C};2}$	$1,49 \pm 0,04^{\text{A};2}$	$1,06 \pm 0,02^{\text{B};2}$	$1,11 \pm 0,02^{\text{C};2}$
D2	$2,30 \pm 0,01^{\text{A};2}$	$1,64 \pm 0,01^{\text{B};2}$	$1,11 \pm 0,01^{\text{C};1}$	$2,18 \pm 0,03^{\text{A};3}$	$1,56 \pm 0,02^{\text{B};3}$	$1,10 \pm 0,02^{\text{C};2}$
BP ^a	$12,79 \pm 0,10$	$10,59 \pm 0,16$	$8,14 \pm 0,12$	$9,17 \pm 0,54$	$8,88 \pm 0,26$	$6,34 \pm 0,18$

^a Temperatura pečenja se ne odnosi na uzorak praha cvekle (BP)

Poznato je da je temperatura faktor koji utiče na stabilnost betalaina i opisano je da se stepen degradacije betalaina povećava sa povišenjem temperature (Azeredo et al., 2006), što je uočeno i u ovom radu (Tabela 23). Statistički značajan gubitak betacijanina i betaksantina uočen je u uzorcima pečenim na obe temperature, koji su sadržali različit ideo cvekle. Najveće smanjenje betacijanina tokom skladištenja na sobnoj temperaturi uočeno je u uzorcima koji sadrže 25% cvekle u prahu (D1 i D2). U uzorku D1, pečenom na 150 °C, 70% betacijanina se razgradilo nakon tri meseca, dok je u uzorku D2, pečenom na 170 °C, 52% betacijanina izgubljeno nakon tri meseca. Rezultati pokazuju da uzorci pečeni na nižoj temperaturi imaju veću početnu vrednost betacijanina, ali veći statistički značajan gubitak (57-70%) tokom skladištenja, dok uzorci pečeni na višoj temperaturi imaju nižu početnu vrednost betacijanina i manji gubitak tokom vremena (16-52%) – Tabela 21. Takođe, uočeno je da su uzorci pečeni na nižim temperaturama imali veću početnu vrednost betaksantina, ali i značajno veći gubitak tokom skladištenja (54%-71%), dok su uzorci pečeni na višim temperaturama imali nižu početnu vrednost betaksantina, ali je njihov gubitak tokom vremena bio manji (27%-53%). Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da su betalaini u čajnom pecivu nestabilni tokom dugotrajnog skladištenja na sobnoj temperaturi. Njihov gubitak je manji kod proizvoda pečenih na višim temperaturama, što može biti povezano sa sadržajem vlage (Besbes et al., 2014) i u korelaciji je sa nižim vrednostima aktivnosti vode (odeljak 4.9). Aktivnost vode značajno utiče na stabilnost betalaina. Nakon što se cvekla podvrgne metodama za smanjenje aktivnosti vode, kao što je sušenje, povećava se

stabilnost betacijanina. Prema Azeredo et al., 2006, nađeno je da do najizraženije degradacije inkapsuliranih pigmenata cvekla dolazi pri $aw = 0,64$.

4.6.2. Sadržaj ukupnih polifenola i flavonoida

Brojna istraživanja su pokazala da je cvekla bogat izvor fenolnih jedinjenja, uključujući fenolne kiseline i flavonoide, pa se zbog toga smatra da postoje različite zdravstvene koristi od njenog konzumiranja (Skrovankova et al., 2015). Naime, ove biološki aktivne supstance mogu da uklopane slobodne radikale u ćelijama koji mogu izazvati mnoga patološka stanja kao što su formiranje ćelija raka, upalni procesi i kardiovaskularna oboljenja (Lorenzo et al., 2021; Pap et al., 2021). Određivanje sadržaja ukupnih polifenola (TPC) i ukupnih flavonoida (TFC) u uzorcima tokom skladištenja izvršena je spektrofotometrijski, a rezultati su prikazani na slici 19 (TPC na 150 °C i 170 °C, redom) i slici 20 (TFC na 150 °C i 170 °C, redom). Nađeni sadržaj polifenola i flavonoida u velikoj meri zavisi od vrste primjenjenog rastvarača za ekstrakciju. Prema literaturnim podacima, za ekstrakciju fenolnih jedinjenja iz ovih vrsta uzoraka najefikasnija ekstrakciona sredstva su metanol, zakišljeni metanol i etanol (Marak et al., 2019).

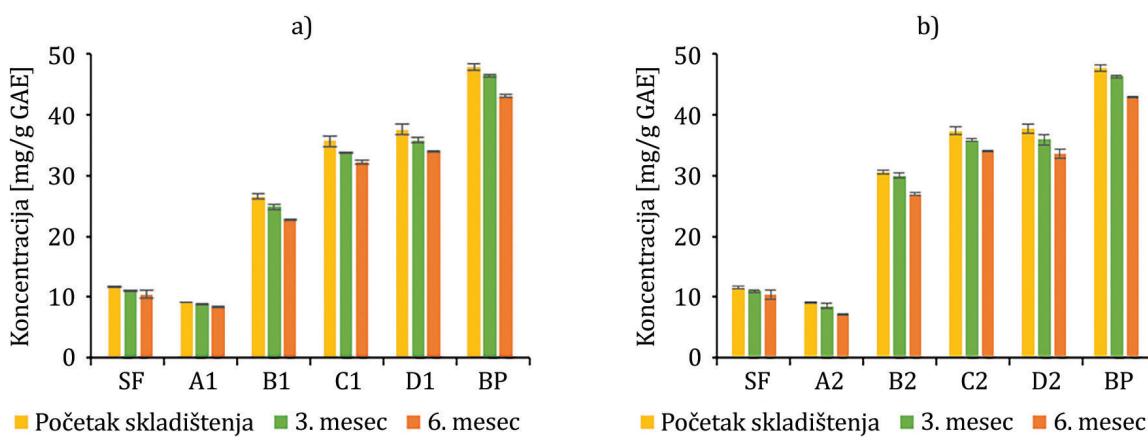
Rezultati istraživanja su pokazali da se ukupni sadržaj polifenola kretao u intervalu od 9,08 do 34,14 mg GAE/g u uzorcima pečenih na 150 °C, dok su se vrednosti ovog parametra kretale između 9,24 i 33,94 mg GAE/g kod čajnog peciva pečenog na 170 °C. Posmatranjem dobijenih rezultata može se zaključiti da sadržaj ukupnih polifenola zavisi od količine cvekle u uzorku. Povećanje udela cvekle rezultiralo je većim sadržajem ukupnih polifenola. Zamena speltinog brašna istom količinom praha cvekle dovodi do značajnog povećanja sadržaja polifenola u uzorcima sa 15% cvekle, pečenim na obe primjenjene temperature. Dalje, značajno povećanje sadržaja polifenola primećeno je pri povećanju udela cvekle u zamesu do 20%. Međutim, nema statistički značajnog povećanja sadržaja polifenola u uzorcima sa 25% praha cvekle u poređenju sa uzorcima sa 20% ovog sastojka. Pored toga, primećeno je da se ukupni sadržaj polifenola značajno smanjuje tokom skladištenja na sobnoj temperaturi. Najveće smanjenje sadržaja polifenola od 14% tokom šest meseci skladištenja zabeleženo je u uzorku čajnog peciva obogaćenom sa 15% cvekle, koji je pečen na višoj temperaturi (B2), dok je najmanje opadanje od 9% zabeleženo u uzorku koji sadrži 20% cvekle pečene na 170 °C (C2). Zanimljivo je da uzorci pečeni na 170 °C imaju veći sadržaj ukupnih polifenola od onih pečenih na 150 °C sa istim delom praha cvekle. Razlog za to bi mogla biti nehomogenost sastojaka u čajnom pecivu. Statistička obrada podataka pokazala je da se sadržaj polifenola u uzorcima A1 i A2 tokom skladištenja značajno razlikuje od svih ostalih vrsta čajnog peciva ($p < 0,05$) – slika 19. Takođe, analizom je utvrđeno da nema statistički značajnih razlika u sadržaju polifenola između peciva sa 20% (C1 i C2) i 25% (D1 i D2) praha cvekle, dok su značajne razlike ($p < 0,05$) utvrđene između uzoraka B1, B2 i C1, C2, kao i uzoraka B1, B2 i D1, D2 (Tabela 24). Razlike dobijene u uzorcima sa istim udelom cvekle, koji su pečeni na različitim temperaturama, nisu statistički značajne.

Doprinos praha cvekle sadržaju polifenola u čajnom pecivu publikovan je u literaturi (Najjar et al., 2022). Čajno pecivo pripremljeno zamenom 15% pšeničnog brašna korom banane i prahom pčelinjeg polena pokazao je TPC od 0,921 i 4,01 mg GAE/g, redom (Dundar et al., 2021; Shafi et al., 2022). Pored toga, TPC od 3,07 mg GAE/g nađen je u uzorcima sa 10% kajsije kao funkcionalnog sastojka (Aziz et al., 2020). Rezultati za sadržaj ukupnih polifenola u okviru našeg istraživanja ne mogu se direktno porebiti sa literaturnim podacima zbog razlika u upotrebљenim sastojcima (voće, povrće, brašno) i sastavima smeša tokom pripreme uzoraka, kao i temperaturama pečenja. Međutim, može se zaključiti da prah cvekle, kao funkcionalni sastojak čajnog peciva, značajnije utiče na sadržaj ukupnih polifenola od ostalih funkcionalnih sastojaka opisanih u literaturi.

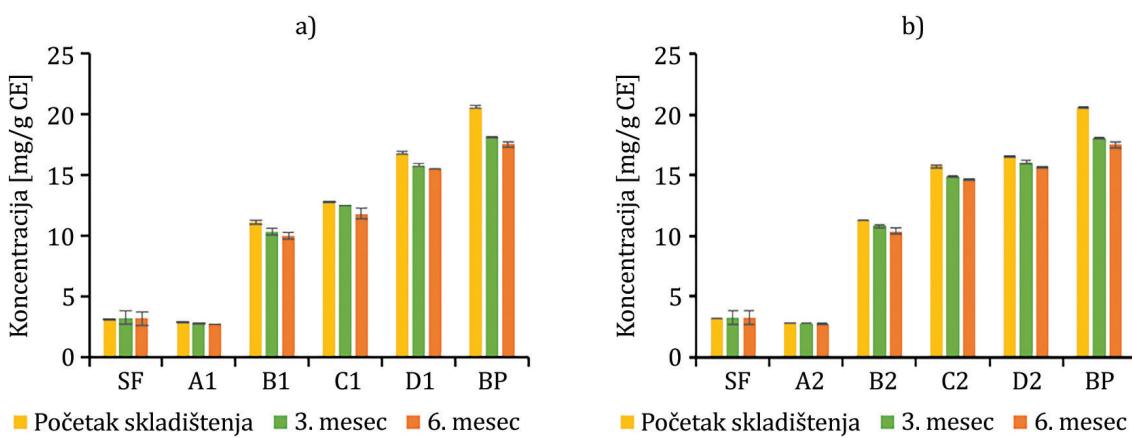
Flavonoidi su važna klasa prirodnih proizvoda i predstavljaju značajan parametar za procenu nutritivne vrednosti sastojaka hrane zbog svoje antioksidativne aktivnosti (Panche et al., 2016). Ukupan sadržaj flavonoida u uzorcima kretao se od 2,93 do 16,57 mg CE/g. Slično kao i TPC, sadržaj flavonoida zavisi od udela cvekla u analiziranim uzorcima. Najveća vrednost je zabeležena u uzorku sa 20% i 25% praha cvekla (slika 20). Uočene su značajne razlike između različitih perioda skladištenja kod svih vrsta čajnog peciva. Tokom šest meseci skladištenja količina ukupnih flavonoida se značajno smanjila (slika 20). Dobijene razlike u uzorcima sa istim udelom cvekla, pečenim na različitim temperaturama, nije bio statistički značajan.

Tabela 24. Ukupan sadržaj polifenola i flavonoida u prahu cvekle (BP), speltinom brašnu (SF) i uzorcima čajnog peciva pečenim na različitim temperaturama (A1, B1, C1 i D1 na 150 °C; A2, B2, C2 i D2 na 170 °C) tokom skladištenja. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C). Značajne razlike u srednjim vrednostima između tri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superskriptnim brojevima (1, 2, 3).

Uzorak	Sadržaj ukupnih polifenola (mg GAE/g)			Sadržaj ukupnih flavonoida (mg CE/g)		
	Početak skladištenja	3. mesec	6. mesec	Početak skladištenja	3. mesec	6. mesec
SF	11,69 ± 0,14 ^A	11,08 ± 0,14 ^B	10,46 ± 0,72 ^C	3,14 ± 0,02 ^A	3,28 ± 0,58 ^B	3,20 ± 0,55 ^B
BP	48,12 ± 0,57 ^A	46,69 ± 0,28 ^B	43,32 ± 0,14 ^C	20,61 ± 0,07 ^A	18,09 ± 0,05 ^B	17,52 ± 0,25 ^C
A1	9,08 ± 0,02 ^{A1}	8,84 ± 0,07 ^{B1}	8,37 ± 0,07 ^{C1}	2,93 ± 0,07 ^{A1}	2,82 ± 0,02 ^{B1}	2,77 ± 0,00 ^{C1}
B1	26,59 ± 0,43 ^{A2}	24,95 ± 0,43 ^{B2}	22,86 ± 0,07 ^{C2}	11,09 ± 0,15 ^{A2}	10,37 ± 0,25 ^{B2}	10,02 ± 0,25 ^{C2}
C1	35,87 ± 0,86 ^{A3}	33,93 ± 0,14 ^{B3}	32,40 ± 0,28 ^{C3}	12,77 ± 0,05 ^{A3}	12,53 ± 0,02 ^{B3}	11,84 ± 0,45 ^{C3}
D1	37,71 ± 0,86 ^{A3}	35,97 ± 0,43 ^{B3}	34,14 ± 0,14 ^{C3}	16,84 ± 0,15 ^{A4}	15,84 ± 0,10 ^{B4}	15,53 ± 0,02 ^{C4}
A2	9,24 ± 0,14 ^{A1}	8,63 ± 0,43 ^{B1}	7,20 ± 0,14 ^{C1}	2,820,02 ^{A1}	2,77 ± 0,00 ^{B1}	2,71 ± 0,02 ^{C1}
B2	30,77 ± 0,28 ^{A2}	30,26 ± 0,43 ^{B2}	27,20 ± 0,14 ^{C2}	11,23 ± 0,00 ^{A2}	10,82 ± 0,12 ^{B2}	10,37 ± 0,25 ^{C2}
C2	37,710,57 ^{A3}	36,18 ± 0,14 ^{B3}	34,34 ± 0,14 ^{C3}	15,73 ± 0,15 ^{A3}	14,87 ± 0,05 ^{B3}	14,610,07 ^{C3}
D2	38,02 ± 0,72 ^{A3}	36,280,86 ^{B3}	33,93 ± 0,72 ^{C3}	16,57 ± 0,07 ^{A3}	16,05 ± 0,10 ^{B3}	15,61 ± 0,07 ^{C3}



Slika 19. Sadržaj ukupnih polifenola u analiziranom čajnom pecivu tokom 6 meseci skladištenja na sobnoj temperaturi: (a) uzorci pečeni na 150 °C; (b) uzorci pečeni na 170 °C. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C).



Slika 20. Sadržaj ukupnih flavonoida u analiziranom čajnom pecivu tokom 6 meseci skladištenja na sobnoj temperaturi: (a) uzorci pečeni na 150 °C; (b) uzorci pečeni na 170 °C. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C).

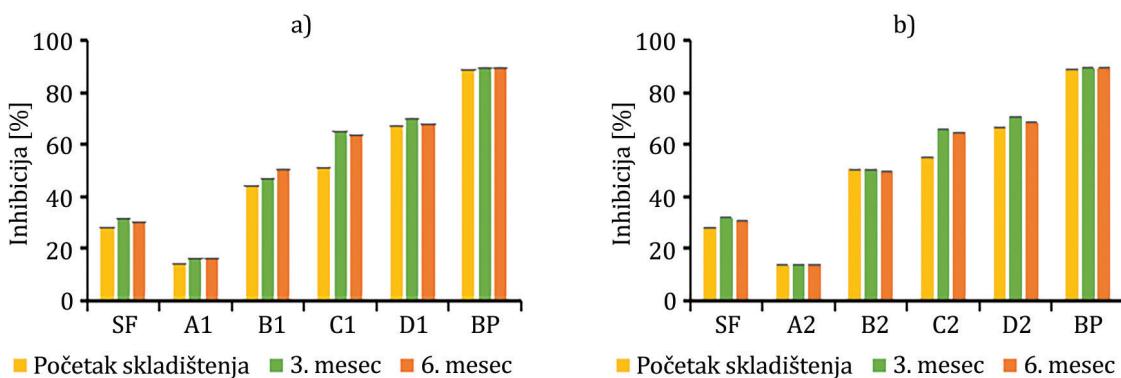
4.7. ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNIH SVOJSTAVA

4.7.1. Rezultati DPPH testa

U okviru ovog rada, antioksidativni potencijal uzorka određen je merenjem njihove sposobnosti da uklanjaju 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikale (Brand-Williams et al., 1955). Rezultati istraživanja su predstavljeni na slici 21 i Tabeli 25, gde se može uočiti da je najveću antioksidativnu aktivnost pokazao prah cvekle u čistom stanju, koji inhibira 90% slobodnih radikala, sa malim varijacijama tokom šest meseci skladištenja. Utvrđeno je da uzorci D1 i D2, sa 25% praha cvekle, imaju veću značajnu antioksidativnu aktivnost u odnosu na kontrolni uzorak, što je povezano sa samim prisustvom cvekla. Uzorci A1 i A2, koji ne sadrže cveklu u prahu, pokazali su najmanju antioksidativnu aktivnost na početku skladištenja (14,40 i 13,70% inhibicije). Uočen je trend porasta antioksidativne aktivnosti u obe serije uzorka (pripremljenih na obe temperature) sa povećanjem udela cvekla u uzorcima (slika 21). Temperatura pečenja nije značajno uticala na inhibiciju DPPH radikala. Antioksidansi iz različitih sastojaka imaju i sinergističko dejstvo, koje je određeno njihovom strukturom, kao i međusobnom interakcijom. Na osnovu dobijenih rezultata može se prepostaviti da će zamena dela speltinog brašna prahom cvekla, koji poseduje izražena antioksidativna svojstva, sprečiti ili odložiti oksidaciju lipida u čajnom pecivu, što je pokazano u studiji (Ju et al., 2015), gde je utvrđeno značajno povećanje oksidativne stabilnosti mesnih proizvoda koji sadrže funkcionalne aditive, kao što je jabukov fenol. U literaturi je takođe opisan uticaj funkcionalnih sastojaka čajnog peciva na njihovu antioksidativnu aktivnost. Čajno pecivo obogaćeno sa 15% praha od listova moringe pokazao je inhibiciju DPPH radikala od 15,25% u poređenju sa 1,56% kod kontrolnog uzorka (Nurminah et al., 2019), dok je prah makui bobica u količini od 2,5 do 10% značajno povećao antioksidativni potencijal čajnog peciva. Takođe, studija koju su sproveli Ju et al. (2021) je pokazala da čajno pecivo pripremljeno zamenom 15% pšeničnog brašna prahom od kore banane pokazuje inhibiciju DPPH radikala od 70,30%. Pored toga, čajno pecivo sa brusnicom (Choi et al., 2015), *acai* bobicama (Choi et al., 2014) pokazala su slična povećanja antioksidativnog kapaciteta.

Tabela 25. Inhibicija DPPH radikala prahom cvekli (BP), speltinim brašnom (SF) i uzorcima čajnog peciva pečenim na različitim temperaturama (A1, B1, C1 i D1 na 150 °C; A2, B2, C2 i D2 na 170 °C) tokom skladištenja. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C). Značajne razlike u srednjim vrednostima između tri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superskriptnim brojevima (1, 2, 3).

Uzorak	Inhibicija DPPH radikala (%)		
	Početak skladištenja	3. mesec	6. mesec
SF	28,10 ± 0,007 ^A	31,80 ± 0,002 ^B	30,50 ± 0,058 ^C
BP	88,90 ± 0,002 ^A	89,60 ± 0,010 ^B	89,40 ± 0,009 ^B
A1	14,40 ± 0,001 ^{A1}	16,20 ± 0,005 ^{B1}	16,70 ± 0,020 ^{C1}
B1	44,10 ± 0,008 ^{A2}	46,90 ± 0,003 ^{B2}	50,27 ± 0,004 ^{C2}
C1	51,20 ± 0,000 ^{A3}	64,89 ± 0,004 ^{B3}	63,95 ± 0,028 ^{C3}
D1	67,40 ± 0,001 ^{A4}	69,90 ± 0,077 ^{B3}	67,80 ± 0,051 ^{C3}
A2	13,70 ± 0,000 ^{A1}	13,80 ± 0,004 ^{B1}	13,80 ± 0,022 ^{B1}
B2	50,49 ± 0,004 ^{A2}	50,23 ± 0,001 ^{B2}	49,37 ± 0,000 ^{C2}
C2	55,41 ± 0,005 ^{A2}	65,90 ± 0,034 ^{B3}	64,40 ± 0,045 ^{C3}
D2	66,80 ± 0,001 ^{A3}	70,50 ± 0,043 ^{B3}	68,50 ± 0,048 ^{C3}



Slika 21. Inhibicija DPPH radikala (%) analiziranim čajnim pecivom tokom 6 meseci skladištenja na sobnoj temperaturi: (a) uzorci pečeni na 150 °C; (b) uzorci pečeni na 170 °C. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C).

4.7.2. Rezultati FRAP testa

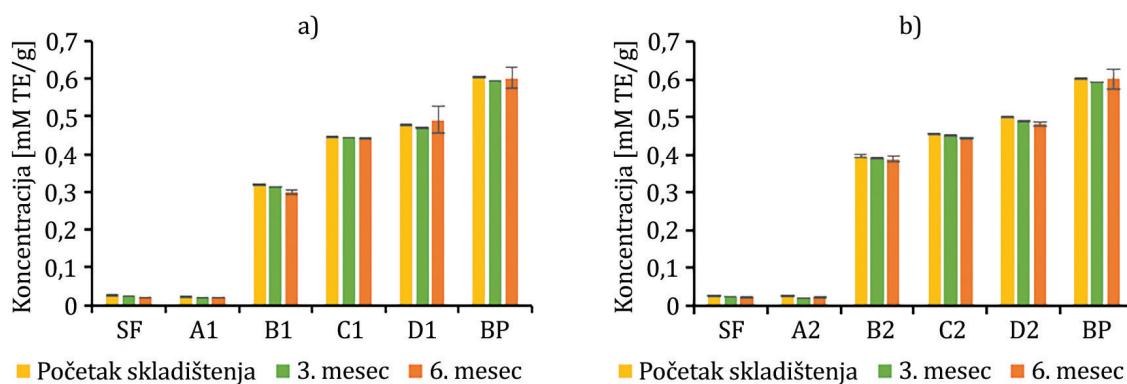
FRAP metoda se zasniva na redukciji žutog kompleksa feri-tripiridiltriazina (Fe(III)-TPTZ), u prisustvu antioksidanata koji doniraju elektrone u intenzivno plavi fero kompleks (Fe(II)-TPTZ). FRAP jedinica se definiše kao količina antioksidansa koja je potrebna da se 1 mol Fe(III) redukuje u Fe(II). Za razliku od DPPH metode, koja se zasniva na sposobnosti antioksidansa vezuje slobodne radikale, FRAP metoda zasniva se na sposobnosti antioksidansa da redukuje jone gvožđa (Benzie et al., 1996). U obe reakcije je uključen mehanizam razmene elektrona.

Rezultati određivanja antioksidativne aktivnosti u analiziranim uzorcima korišćenjem FRAP reagensa prikazani su na slici 22 i u Tabeli 26. Dobijeni rezultati pokazuju da količina praha cvekli direktno utiče na antioksidativni kapacitet uzorka. Uzorci bez dodatog praha cvekli su imali najmanju redukcionu sposobnost od oko 0,02 mM TE/g. Uzorak sa 15% praha cvekli

povećava aktivnost približno 16 puta (slika 22). Sa daljim povećanjem udela cvekla na 20 i 25% postiže se redukcioni kapacitet od 0,45 i 0,50 mM TE/g, respektivno. Pored toga, primećeno je da se antioksidativni potencijal smanjuje tokom skladištenja na sobnoj temperaturi. Statistički značajna razlika ($p < 0,05$) uočena je od početka skladištenja do trećeg meseca u uzorcima A1 i A2. U ostalim uzorcima tokom skladištenja nije bilo statistički značajnih razlika (Tabela 26).

Tabela 26. Sposobnost redukcije gvožđa (FRAP) za prah cvekle (BP), speltino brašno (SF) i uzorke čajnog peciva pečene na različitim temperaturama (A1, B1, C1 i D1 na 150 °C; A2, B2, C2 i D2 na 170 °C) tokom skladištenja. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C). Značajne razlike u srednjim vrednostima između tri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superskriptnim brojevima (1, 2, 3).

FRAP		Koncentracija (mM TE/g)	
Uzorak	Početak skladištenja	3. mesec	6. mesec
SF	0,025 ± 0,001 ^A	0,022 ± 0,000 ^B	0,021 ± 0,000 ^C
BP	0,603 ± 0,001 ^A	0,594 ± 0,000 ^B	0,602 ± 0,026 ^C
A1	0,022 ± 0,001 ^{A1}	0,019 ± 0,000 ^{B1}	0,018 ± 0,000 ^{C1}
B1	0,319 ± 0,001 ^{A2}	0,313 ± 0,000 ^{B2}	0,297 ± 0,005 ^{C2}
C1	0,447 ± 0,001 ^{A3}	0,443 ± 0,000 ^{B3}	0,441 ± 0,000 ^{C3}
D1	0,477 ± 0,001 ^{A3}	0,470 ± 0,000 ^{B3}	0,490 ± 0,035 ^{C4}
A2	0,024 ± 0,001 ^{A1}	0,021 ± 0,000 ^{B1}	0,021 ± 0,002 ^{B1}
B2	0,395 ± 0,003 ^{A2}	0,391 ± 0,001 ^{B2}	0,389 ± 0,008 ^{C2}
C2	0,456 ± 0,001 ^{A3}	0,451 ± 0,000 ^{B3}	0,444 ± 0,002 ^{C3}
D2	0,501 ± 0,001 ^{A3}	0,488 ± 0,001 ^{B3}	0,482 ± 0,006 ^{C3}



Slika 22. Sposobnost redukcije gvožđa (FRAP) za analizirano čajno pecivo tokom 6 meseci skladištenja na sobnoj temperaturi: (a) uzorci pečeni na 150 °C; (b) uzorci pečeni na 170 °C. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C).

4.8. KVALITATIVNA I KVANTITATIVNA ANALIZA POLIFENOLA

Rezultati kvalitativne i kvantitativne HPLC analize praha cvekle, brašna od spelte i čajnog peciva prikazani su u Tabelama 27 i 28. HPLC analiza praha cvekle je pokazala prisustvo epikatehina, katehina, protokatehina, *p*-kumarinske, kafene, galne, hlorogenske i vanilinske kiseline. U speltonom brašnu nađene su galna, protokatehinska, kafeinska, hlorogena i vanilinska kiselina. Kao

što je prikazano u Tabeli 27, koncentracija epikatehina, katehina i *p*-kumarinske kiselina bili su ispod granice detekcije u brašnu od spelte. U prahu cvekle su bila prisutna ova tri polifenolna jedinjenja, bez trenda opadanja u dužem periodu skladištenja. Kao što je prikazano u Tabeli 27, samo galna, protokatehinska i vanilinska kiselina su kontinuirano opadale tokom skladištenja, dok su epikatehin i katehin, kao i hlorogena kiselina, pokazivali porast nakon tri meseca, a zatim pad u šestom mesecu, pri čemu je finalna koncentracija na kraju šestog meseca skladištenja bila iznad početnog nivoa. Došlo je takođe do naglog pada koncentracije *p*-kumarinske i kafeinske kiseline u trećem mesecu skladištenja, a zatim do povećanja njihove koncentracije u šestom mesecu. Kvantitativna analiza je pokazala da se koncentracija fenolnih jedinjenja u sušenoj cvekli smanjuje za oko 35% tokom skladištenja. Speltino brašno, koje sadrži deset puta manji sadržaj polifenola od cvekle u prahu, pokazalo je postepeno smanjenje koncentracije detektovanih jedinjenja tokom vremena. Koncentracija polifenola se smanjila za 14% nakon šest meseci skladištenja. Na početku i nakon tri meseca skladištenja kontrolnog uzorka bez cvekle (A1 i A2), epikatehin, katehin i *p*-kumarinska kiselina nisu detektovani, ali se posle šest meseci skladištenja ova polifenolna jedinjenja pojavljuju u čajnom pecivu pečenom na obe temperature. Koncentracija nekih fenolnih jedinjenja, kao što su epikatehin, katehin, kao i *p*-kumarinska kiselina se povećala, verovatno zato što tokom procesa proizvodnje čajnog peciva dolazi do destabilizacije njihovih interakcija sa određenim molekulima, npr. arabinozom, kratkim lancima arabinoksilana, celulozom i ligninom (Dvorakova et al., 2008). Tokom skladištenja se primećuje smanjenje koncentracije ukupnih polifenolnih jedinjenja u uzorku B1 (15% praha cvekle), i to od 74,40 do 59,59 mg/100 g, dok je u uzorku B2 primećen blagi porast polifenola, sa 42,80 na 54,51 mg/100 g. U uzorku B2, koncentracija galne, protokatehinske i kafeinske kiseline značajno je porasla tokom skladištenja (Tabela 28). U poređenju sa početnom vrednošću, uzorci C1 i C2 (20% cvekle), kao i D1 i D2 (25% cvekle), pokazali su statistički značajno ($p < 0,05$) smanjenje ukupnih polifenola i u trećem i u šestom mesecu. Uzorak pečen na 170 °C, koji je sadržao 25% cvekle (D2), pokazao je najviši sadržaj ukupnih polifenola, 110,13 mg/100 g.

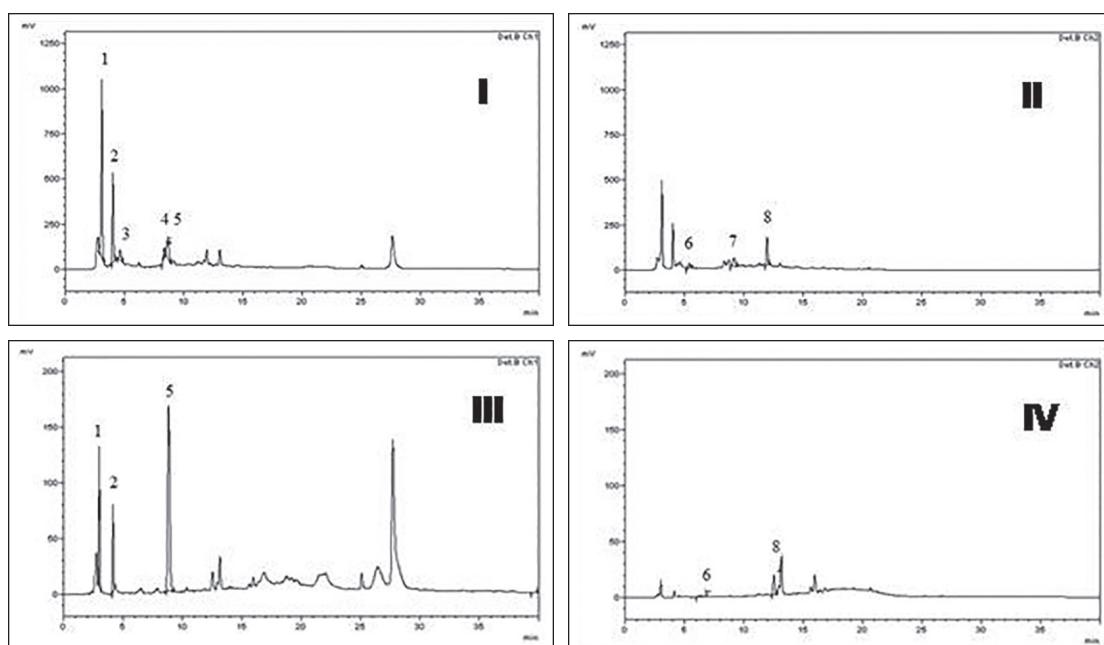
Na početku skladištenja nijedan uzorak nije sadržao katehin i *p*-kumarinsku kiselinu. Nakon tri meseca skladištenja, katehin se prvo javlja u čajnom pecivu koje sadrži cveklu, a nakon šest meseci i u čajnom pecivu bez cvekle, slično kao u studiji (Dvorakova et al., 2008). Statistički značajno povećanje sadržaja katehina uočeno je u čajnom pecivu sa većim sadržajem cvekle na obe temperature pečenja (Tabela 28). Kiselina *p*-kumarinska je nađena u čajnom pecivu pečenom na 150 °C, koje sadrži cveklu, nakon tri meseca skladištenja, dok je njena koncentracija bila ispod granice detekcije nakon šest meseci skladištenja. U uzorcima C1, D1, B2 i C2, epikatehin je bio detektovan na početku skladištenja, ali je do kraja skladištenja bio ispod granice kvantifikacije metode. U uzorku sa većim sadržajem cvekle, na obe temperature pečenja, zabeležena je značajno veća koncentracija epikatehina (Tabela 28). Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da su katehin, epikatehin i *p*-kumarinska kiselina najnestabilniji polifenoli u uzorcima. U radu (Georgiev et al., 2010) je pokazano da cvekla sadrži pomenuta fenolna jedinjenja, kao i da ona nisu otkrivena u uzorcima čajnog peciva nakon šest meseci skladištenja. U istraživanju Castro-Lopez et al. (2016) različita jedinjenja u uzorku čajnog peciva (šećeri i vitamin C) mogu uticati na promenu sadržaja fenolnih jedinjenja. Najzastupljenije kiseline pronađene u uzorcima bile su galna, protokatehinska i vanilinska kiselina. Polifenoli, kao što su *p*-kumarinska i ferulinska kiselina identifikovali su u ekstraktu cvekle i proizvodima od cvekle i od strane drugih autora (Georgiev et al., 2010; Kujala et al., 2001), identifikovali su *p*-kumarinsku i ferulinsku kiselinu u ekstraktu cvekle. Dalje, Georgiev et al. (2010) su pokazali da ekstrakt cvekle Detroit sadrži kafeinsku kiselinu (3,7-20,3 mg/100 g), *p*-hidroksibenzoevu kiselinu (1,22-39,6 mg/100 g), hlorogenu kiselinu (1,8 mg/100 g), epikatehin (3,2-85 mg/100 g), katehin hidrat (4,7-37,2 mg/100 g) i rutin (109,6 mg/100 g).

Tabela 27. Kvalitativni i kvantitativni sastav polifenolnih jedinjenja prisutnih u prahu cvekla i brašnu od spalte tokom skladištenja. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) ukupnog polifenolnog sastava između tri vremenska perioda u prahu cvekla kao i u brašnu od spalte prikazane su kao različita nadnaslovna slova (A, B, C).

Sadržaj polifenola	Prah cvekla			Speltino brašno		
	Početak skladištenja	3. mesec	6. mesec	Početak skladištenja	3. mesec	6. mesec
Galna kiselina	106,36 ± 5,01	79,76 ± 3,87	78,29 ± 1,12	4,28 ± 0,19	4,00 ± 0,19	3,10 ± 0,16
Protokatehinska kiselina	88,04 ± 3,98	49,17 ± 2,34	32,76 ± 1,01	4,47 ± 0,18	4,33 ± 0,20	3,62 ± 0,20
Epikatehin	17,57 ± 0,69	18,71 ± 0,78	16,92 ± 0,54	n.d.	n.d.	n.d.
Katehin	45,28 ± 2,11	68,05 ± 2,98	48,19 ± 2,01	n.d.	n.d.	n.d.
p-kumarinska kiselina	4,66 ± 0,19	2,63 ± 0,09	4,22 ± 0,08	n.d.	n.d.	n.d.
Kafena kiselina	11,47 ± 0,43	4,75 ± 0,21	6,80 ± 0,31	0,58 ± 0,02	0,28 ± 0,01	0,29 ± 0,01
Hlorogena kiselina	3,93 ± 0,13	6,28 ± 0,28	5,63 ± 0,21	0,20 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Vanilinska kiselina	43,62 ± 1,79	30,01 ± 1,43	14,04 ± 0,77	25,92 ± 1,12	23,95 ± 1,13	20,52 ± 1,11
Total	320,93 ^A	259,37 ^B	206,85 ^C	35,44 ^A	32,74 ^B	30,45 ^C

n.d. – nije detektovano

Na slici 23 prikazan je HPLC hromatogram fenolnih jedinjenja ekstrahovanih iz praha cvekla i speltinog brašna, koja su navedena u Tabeli 27.



Slika 23. HPLC hromatografi ekstrakata praha cvekla (I i II) i brašna od spalte (III i IV) na početku skladištenja. I i II na 280 nm: 1 – galna kiselina; 2 – protokatehinska kiselina; 3 – katehin; 4 – epikatehin; 5 – vanilna kiselina, i III i IV na 320 nm 6 – hlorogena kiselina; 7 – p-kumarinska kiselina; 8 – kafena kiselina.

Tabela 28. Kvalitativni i kvantitativni sastav polifenolnih jedinjenja prisutnih u čajnom pecivu sa cveklom u prahu pečenom na različitim temperaturama (A1, B1, C1 i D1 na 150°C; A2, B2, C2 i D2 na 170°C) tokom skladištenja. Značajne razlike u srednjim vrednostima (p < 0,05) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C). Značajne razlike u srednjim vrednostima između četiri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superskriptnim brojevima (1, 2, 3, 4).

Sadržaj polifena mg/100 g	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	Uzorak
<i>Početak skladištenja</i>									
<i>Galna kiselina</i>	2,76 ± 1,11 ^{A,1}	2,97 ± 0,12 ^{A,1}	22,19 ± 1,06 ^{A,2}	15,15 ± 0,69 ^{A,2}	25,16 ± 1,20 ^{A,3}	31,02 ± 1,45 ^{A,3}	32,04 ± 1,56 ^{A,4}	41,51 ± 2,16 ^{A,4}	
<i>Protokatehinska kiselina</i>	3,33 ± 0,09 ^{A,1}	5,11 ± 0,28 ^{A,1}	21,11 ± 1,01 ^{A,2}	13,51 ± 0,64 ^{A,2}	18,16 ± 0,83 ^{A,3}	29,73 ± 1,45 ^{A,3}	24,86 ± 1,12 ^{A,4}	40,36 ± 2,06 ^{A,4}	
<i>Epikatehin</i>	n.d.	n.d.	n.d.	0,71 ± 0,02 ¹	2,20 ± 0,10 ¹	2,07 ± 0,08 ²	3,56 ± 0,14 ²	n.d.	
<i>Katehin</i>	n.d.								
<i>p-kumarinska kiselina</i>	n.d.								
<i>Kafena kiselina</i>	0,14 ± 0,01 ^{A,1}	0,19 ± 0,01 ^{A,1}	1,37 ± 0,05 ^{A,2}	0,85 ± 0,03 ^{A,2}	1,27 ± 0,09 ^{A,2}	2,32 ± 0,06 ^{A,3}	6,29 ± 0,29 ^{A,3}	2,71 ± 0,09 ^{A,4}	
<i>Hlorogena kiselina</i>	n.d.	0,14 ± 0,01 ^{A,1}	5,29 ± 0,21 ^{A,1}	1,45 ± 0,06 ^{A,2}	4,28 ± 0,19 ^{A,2}	4,22 ± 0,15 ^{A,3}	2,25 ± 0,09 ^{A,3}	4,33 ± 0,20 ^{A,3}	
<i>Vanilinska kiselina</i>	13,54 ± 0,61 ^{A,1}	11,74 ± 0,43 ^{A,1}	24,45 ± 1,23 ^{A,2}	11,12 ± 0,51 ^{A,1}	25,85 ± 1,11 ^{A,2}	18,03 ± 0,90 ^{A,2}	20,83 ± 0,98 ^{A,3}	21,22 ± 0,82 ^{A,3}	
<i>Total</i>	19,77	20,15	74,40	42,80	76,92	87,40	89,82	110,13	
3. mesec									
<i>Galna kiselina</i>	4,26 ± 0,17 ^{B,1}	5,52 ± 0,23 ^{B,1}	18,34 ± 0,89 ^{B,2}	20,00 ± 0,99 ^{B,2}	23,73 ± 1,16 ^{B,3}	23,69 ± 1,01 ^{B,3}	23,36 ± 1,13 ^{B,3}	24,02 ± 1,95 ^{B,3}	
<i>Protokatehinska kiselina</i>	7,86 ± 0,42 ^{B,1}	7,15 ± 0,27 ^{B,1}	10,88 ± 0,51 ^{B,2}	14,79 ± 0,07 ^{B,2}	16,68 ± 0,76 ^{B,3}	13,81 ± 0,56 ^{B,2}	19,97 ± 1,09 ^{B,4}	19,38 ± 0,87 ^{B,3}	
<i>Epikatehin</i>	n.d.								
<i>Katehin</i>	n.d.	n.d.	1,54 ± 0,06 ^{A,1}	0,18 ± 0,01 ^{A,1}	7,46 ± 0,28 ^{A,2}	4,88 ± 0,21 ^{A,2}	13,09 ± 0,54 ^{A,3}	4,48 ± 0,21 ^{A,2}	
<i>p-kumarinska kiselina</i>	n.d.	n.d.	0,60 ± 0,03 ¹	n.d.	0,77 ± 0,02 ²	n.d.	0,47 ± 0,01 ³	n.d.	
<i>Kafena kiselina</i>	0,97 ± 0,03 ^{B,1}	0,14 ± 0,01 ^{B,1}	1,97 ± 0,08 ^{B,2}	1,71 ± 1,07 ^{B,2}	0,29 ± 0,01 ^{B,3}	2,45 ± 0,09 ^{B,3}	2,36 ± 0,11	2,32 ± 0,07 ^{B,3}	
<i>Hlorogena kiselina</i>	0,22 ± 0,01 ^{A,1}	1,11 ± 0,04 ^{B,1}	1,74 ± 0,05 ^{B,2}	4,75 ± 0,19 ^{B,2}	1,41 ± 0,04 ^{B,3}	3,26 ± 0,14 ^{B,3}	1,82 ± 0,08 ^{B,4}	4,51 ± 0,20 ^{B,2}	
<i>Vanilinska kiselina</i>	6,24 ± 0,29 ^{B,1}	6,24 ± 0,61 ^{B,1}	18,02 ± 0,86 ^{B,2}	18,00 ± 0,84 ^{B,2}	19,19 ± 0,93 ^{B,2}	20,60 ± 0,91 ^{B,3}	25,86 ± 1,17 ^{B,3}	24,68 ± 1,15 ^{B,4}	
<i>Total</i>	19,56	20,17	53,09	59,44	69,53	68,69	86,93	79,39	

Sadržaj polifenola mg/100 g	Uzorak					
	A1	A2	B1	B2	C1	C2
	6. mesec					
<i>Galna kiselina</i>	2,41 ± 0,11 ^{C;1}	2,67 ± 0,21 ^{C;1}	21,16 ± 0,79 ^{C;2}	23,45 ± 0,86 ^{C;2}	23,79 ± 1,15 ^{C;3}	28,39 ± 1,03 ^{C;3}
<i>Protokatehinska kiselina</i>	3,26 ± 0,13 ^{C;1}	3,76 ± 0,28 ^{C;1}	17,32 ± 0,48 ^{C;2}	16,09 ± 0,06 ^{C;2}	20,00 ± 0,66 ^{C;3}	25,79 ± 0,58 ^{C;3}
<i>Epikatehin</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Katehin</i>	0,86 ± 0,02 ¹	1,36 ± 0,08 ¹	2,19 ± 0,04 ^{B;2}	1,21 ± 0,02 ^{B;2}	2,26 ± 0,06 ^{B;2}	1,93 ± 0,11 ^{B;3}
<i>p-kumarinska kiselina</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Kafena kiselina</i>	1,82 ± 0,06 ^{C;1}	0,30 ± 0,02 ^{C;1}	2,20 ± 0,06 ^{C;2;3}	2,47 ± 1,05 ^{C;2}	2,05 ± 0,04 ^{C;2}	2,79 ± 0,08 ^{C;3}
<i>Hlorogena kiselina</i>	0,11 ± 0,01 ^{B;1}	0,11 ± 0,01 ^{A;1}	5,87 ± 0,15 ^{C;2}	2,98 ± 0,17 ^{C;2}	6,60 ± 0,11 ^{C;3}	3,08 ± 0,13 ^{C;2}
<i>Vanilinska kiselina</i>	11,23 ± 0,54 ^{C;1}	9,98 ± 0,88 ^{C;1}	10,84 ± 0,45 ^{C;1}	8,27 ± 0,64 ^{C;2}	12,97 ± 0,44 ^{C;2}	8,19 ± 0,41 ^{C;2}
<i>Total</i>	19,69	18,18	59,59	54,51	67,75	70,18
	<i>Total</i> 78,13					

n.d. – nije detektovano

4.9. AKTIVNOST VODE (*aw*) I MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST POLAZNIH SIROVINA I ČAJNOG PECIVA

Aktivnost vode (*aw*) koristi se kao kritična kontrolna tačka za konditorske proizvode jer daje veoma važne informacije o stabilnosti uzoraka, površinskom razmnožavanju mikroorganizama i roku trajanja. Kontrolom *aw* postiže se kontrola očuvanja strukture i teksture proizvoda. Optimalna vrednost *aw* za rast velikog broja mikroorganizama je 0,99. Bakterije imaju najveću potrebu za visokim vrednostima *aw* od svih ostalih mikroorganizama. Kvascima je za razmnožavanje potrebna niža vrednost *aw*, a plesnima najniža. Većina bakterija koje uzrokuju kvarenje hrane raste kada je *aw* veća od 0,91, ali plesni i kvasci mogu da rastu i na vrednostima *aw* nižem od 0,80 (Marriott i Gravani, 2006).

U okviru svog istraživanja Pitalua et al., 2010. su zaključili da stabilnost betalaina u mikrokapsulama zavisi od *aw*. Autori su pokazali da nema značajnih razlika u sadržaju betalaina tokom 45 dana skladištenja, kada su vrednosti *aw* u opsegu 0,11-0,52. Međutim, tokom skladištenja inkapsulata sa *aw* u opsegu 0,75-0,90 koncentracija betalaina je bila značajno smanjena. Kod uzoraka iz ovog rada, vrednost *aw* se nalazila u opsegu 0,355-0,559 (Tabela 29), što je više nego prihvatljivo da bi se očuvala mikrobiološka, hemijska i fizička stabilnost proizvoda. Nakon skladištenja od 3 meseca, vrednost *aw* se dodatno smanjila i kod svih uzoraka dostigla vrednost od oko 0,35, što ide u prilog mogućnosti dužeg skladištenja čajnog peciva sa cveklom.

Tabela 29. Vrednost *aw* za uzorke čajnog peciva na početku i nakon 3 meseca skladištenja

	Početak skladištenja	3. mesec
	<i>aw</i>	<i>aw</i>
A1	0,429 ± 0,006	0,355 ± 0,000
A2	0,327 ± 0,000	0,356 ± 0,001
B1	0,559 ± 0,001	0,349 ± 0,001
B2	0,387 ± 0,002	0,350 ± 0,000
C1	0,501 ± 0,004	0,347 ± 0,003
C2	0,415 ± 0,005	0,344 ± 0,001
D1	0,450 ± 0,002	0,335 ± 0,004
D2	0,379 ± 0,001	0,341 ± 0,001

Čajno pecivo je mikrobiološki stabilan proizvod sa dugim rokom trajanja, a ako ima nešto veći sadržaj vlage, treba voditi računa o pakovanju i skladištenju kako bi se izbegao razvoj plesni. Mikrobiološka analiza čajnog peciva sa dodatkom cvekla rađena je na početku skladištenja, i zatim nakon trećeg i šestog meseca skladištenja pod konstantnim uslovima. Na čajnom pecivu su rađene analize na kvasce i plesni, *Enterobacteriaceae* i aerobne mezofilne bakterije. Speltino brašno je ispitano na kvasce i plesni, *Enterobacteriaceae*, *Bacillus* i aerobne mezofilne bakterije, a prah od cvekla na *Salmonella*, *Escherichiju coli*, *Enterobacteriaceae* i aerobne mezofilne bakterije. Od svakog uzorka čajnog peciva uzeto je po 5 ispitivanih jedinica (*n* = 5). Granične vrednosti su izražene u cfu/g i prihvatljive su ako se nalaze između m i M vrednosti, koje su karakteristične za određene sojeve. Broj uzoraka koji treba da bude u intervalu između **m** i **M**, označen je u narednim tabelama slovom **c**.

Uočeno je da se u uzorku B2 u trećem i šestom mesecu povećala količina kvasca i plesni. Ovo je posledica upotrebe speltinog brašna, kod koga se u istim vremenskim intervalima takođe povećao

broj kvasca i plesni (Tabela 30). S obzirom na to da je aktivnost vode u toku skladištenja imala tendenciju opadanja, a uočen je porast kvasca i plesni u speltinom brašnu – Tabela 31 – (do 1600 cfu/g) može se sa priličnom sigurnošću zaključiti da kvasci i plesni potiču od speltinog brašna.

Tabela 30. Sadržaj kvasaca i plesni u čajnom pecivu

Uzorak Plan uzorkovanja	Kvasci i plesni u čajnom pecivu																			
	Rezultati ispitivanja (n) – nulta tačka					Rezultati ispitivanja (n) – 3. mesec					Rezultati ispitivanja (n) – 6. mesec									
	N	c	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5			
A1	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
A2	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	10	<10	20	10	<10	<10	<10	<10	20		
B1	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	10	<10	10	<10	<10	10	<10	10	<10	10	<10	<10
B2	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	1600	800	400	<10	400	600	1800	900	<10	500			
C1	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
C2	5	1	80	<10	<10	<10	<10	160	<10	80	<10	80	100	<10	<10	<10	<10	80		
D1	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
D2	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Granične vrednosti m – 10^2 cfu/g M – 10^3 cfu/g

Tabela 31. Sadržaj kvasaca i plesni u speltinom brašnu

Plan uzorkovanja	Rezultati ispitivanja (n) – nulta tačka					Rezultati ispitivanja (n) – 3. mesec					Rezultati ispitivanja (n) – 6. mesec						
	n	c	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
	5	2	50	<10	<10	<10	<10	1900	1000	800	600	700	600	800	1200	600	700

Granične vrednosti m – 10^2 cfu/g M – 10^3 cfu/g

Na osnovu rezultata koji su prikazani u Tabeli 32, može se videti da u čajnom pecivu nije utvrđeno prisustvo *Enterobacteriaceae*.

Tabela 32. Sadržaj Enterobacteriaceae u čajnom pecivu

Uzorak Plan uzorkovanja	Rezultati ispitivanja (n) – nulta tačka					Rezultati ispitivanja (n) – 3. mesec					Rezultati ispitivanja (n) – 6. mesec						
	n	c	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
A1	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
A2	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
B1	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
B2	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
C1	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
C2	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
D1	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
D2	5	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Granične vrednosti m – 10 cfu/g M – 10 cfu/g

Sadržaj aerobnih mezofilnih bakterija prikazan je u Tabeli 33. Primećeno je da je u najvećem broju izolovana bakterija *Bacillus species*, i to u uzorku D1, u šestom mesecu skladištenja (250 od ukupno 350 aerobnih bakterija). U uzorku A2 primećeno je da je broj aerobnih mezofilnih bakterija u trećem mesecu porastao, a zatim se u šestom mesecu smanjio na nivo koji je niži od nulte tačke. Ovakav rezultat se na osnovu istraživanja Marriott et al., 2018. može objasniti time da metabolički nusproizvodi bakterija i borba za prostor i ishranu smanjuju brzinu njihovog razmnožavanja ili ga gotovo zaustavljaju.

Tabela 33. Sadržaj aerobnih mezofilnih bakterija u čajnom pecivu

Uzorak	Plan uzorkovanja		Rezultati ispitivanja (n) – nulta tačka	Rezultati ispitivanja (n) – 3. mesec	Rezultati ispitivanja (n) – 6. mesec
	n	c	n (1-5)	n (1-5)	n (1-5)
A1	5	5	25	50 (<i>Bacillus species</i> 10)	50 (<i>Bacillus species</i> 10)
A2	5	5	60	100	10
B1	5	5	15	20 (<i>Bacillus cereus</i> 5)	30
B2	5	5	10	40	40
C1	5	5	15 (<i>Bacillus cereus</i> 10)	20 (<i>Bacillus cereus</i> 10)	20
C2	5	5	10 (<i>Bacillus megaterium</i> 10)	20 (<i>Bacillus megaterium</i> 10)	20
D1	5	5	30 (<i>Bacillus megaterium</i> 20, <i>Bacillus simplex</i> 10)	250 (<i>Bacillus species</i> 40)	350 (<i>Bacillus species</i> 250)
D2	5	5	10 (<i>Bacillus megaterium</i> 10)	110 (<i>Bacillus megaterium</i> 30)	350 (<i>Bacillus species</i> 40)

Granične vrednosti m – n.d. M – n.d.

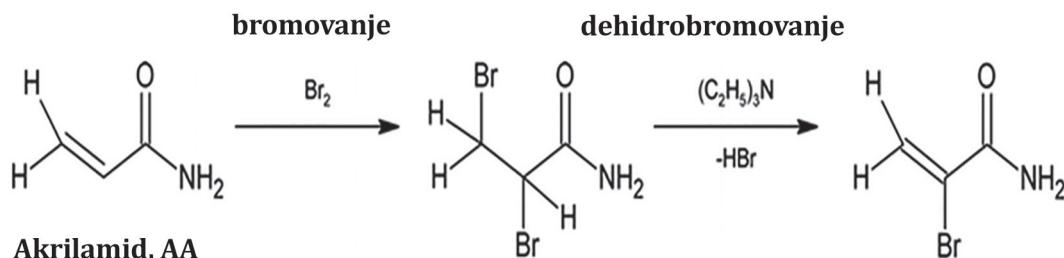
Važan rezultat ispitivanja mikrobiološke ispravnosti praha cvekle je da *Salmonella* i *Escherichia coli* nisu izolovane u prahu od cvekle. Takođe, ove bakterije nisu detektovane ni u jednom uzorku čajnog peciva, kao ni *Enterobacteriaceae*. Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da su uzorci zadovoljavajući po kriterijumima bezbednosti hrane (Vodič za primenu mikrobioloških kriterijuma za hranu, 2011), a da kvasci i plesni koji su pronađeni u uzorku B2 ne utiču na generalnu mikrobiološku sliku o ispravnosti krajnjeg proizvoda.

4.10. SADRŽAJ AKRILAMIDA

Akrilamid (AA) je organsko jedinjenje male molekulske mase, koje se rastvara u vodi, a nastaje *Maillardovim* reakcijama tokom termičke obrade i izlaganja hrane temperaturama iznad 120 °C. AA se uglavnom nalazi u pečenoj ili prženoj hrani bogatoj ugljenim hidratima, gde nastaje reakcijama između amino-kiselina asparagina i redukujućih šećera kao što su glukoza, fruktoza i laktosa. Sadržaj AA zavisi od vremena i temperature pečenja/prženja, količine asparagina i dostupnosti šećera u hrani. Namirnice kao što su čips, pomfrit, kafa, keks i pekarski proizvodi najviše doprinose ukupnom unosu AA u organizam ljudi. Evropska agencija za bezbednost hrane (EFSA) objavila je 2015. godine da AA u hrani predstavlja problem javnog zdravlja (EFSA CONTAM Panel, 2015). EFSA upozorava da sadržaj AA u hrani potencijalno povećava rizik od raka kod ljudi svih starosnih grupa. Zbog njegovog štetnog dejstva, neophodno je smanjiti prisustvo AA u hrani koja u sirovom obliku sadrži njegove prekursore. AA i njegovi metaboliti su

genotoksični i kancerogeni. Kako bilo koji nivo izloženosti genotoksičnim supstancama može potencijalno oštetiti DNK i dovesti do raka, EFSA zaključuje da se ne može definisati tolerabilni dnevni unos (TDI) za AA u hrani. Umesto toga, stručnjaci EFSA su procenili opseg doza u okviru kojih AA može izazvati malu, ali merljivu incidencu tumora (takozvani „neoplastični“ efekat) ili drugih potencijalnih neželjenih efekata, kao što su neurološki i razvojni efekti i efekti štetni po reproduktivno zdravlje. Referentni nivo za akrilamid u keksima je 350 µg/kg (Pravilnik o maksimalnim koncentracijama određenih kontaminenata u hrani, Službeni glasnik RS, 2022)

U ovom radu akrilamid je određen u čajnom pecivu pripremljenom od speltinog brašna i praha cvekle. Ispitan je uticaj sadržaja praha cvekle (15-25% u smeši za pečenje) i temperature pečenja (150 i 170 °C) na formiranje AA. Uzorci su odmašćeni heksanom, a zatim je sadržaj AA ekstrahovan vodom i određen standardnom metodom bromovanja (FprCEN/TS 17083:2017). Akrilamid je derivatizacijom (bromovanje i dehidrobromovanje) preveden u stabilan brom-derivat, kao što je prikazano na slici 24. Derivatizacijom AA dobija se nepolarnije jedinjenje manje isparljivosti u odnosu na akrilamid, što je od posebne važnosti prilikom GC-MS analize. Prevođenjem 2,3-dibrompropanamide u 2-brom-2-propenamid, izbegnut je potencijalni rizik od dehidrobromovanja u injektoru ili koloni instrumenta, što može značajno uticati na osetljivost i selektivnost metode. Interni standard se bromovanjem derivatizuje u 2,3-dibrom-2-metilpropanamid, koji je krajnji proizvod, s obzirom na to da ne može podleći reakciji dehidrobromovanja. Prisustvo AA je potvrđeno u svim ispitanim uzorcima, a identifikovan je kao 2-brom-2-propenamid sa retencionim vremenom 6,55 minuta pod zadatim hromatografskim uslovima. Na slici 25 prikazan je primer identifikacije AA u uzorku B2 čajnog peciva, kao i u njegovom spajku.



Slika 24. Postupak bromovanja i dehidrobromovanja AA

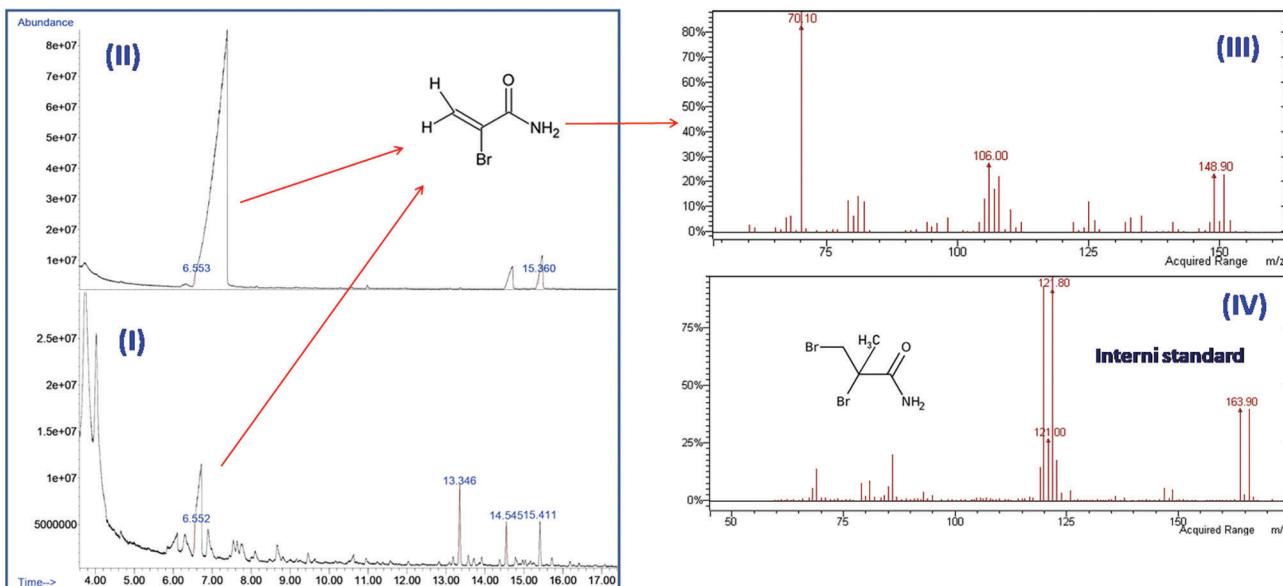
Fragmentacioni joni koji su korišćeni za identifikaciju 2-brom-2-propenamida su bili: $[C_3H_4NO]^+$ = 70 i $[C_3H_4BrNO]^+$ = 149, dok su za identifikaciju 2,3-dibrom-2-metilpropanamide korišćeni: $[C_4H_7BrNO]^+$ = 164 i $[C_3H_5Br]^+$ = 120 bromovanja (FprCEN/TS 17083:2017). Zastupljenost ovih jona u uzorku čajnog peciva kao i uzorku njegovog spajka prikazani su na slici 25. Na osnovu odnosa površina pikova brom-derivata AA i internog standarda, određena je nepoznata koncentracija AA očitavanjem sa kalibracione krive, dobijene hromatografisanjem brom-derivata standardnih smeša akrilamida i metakrilamida. Dobijeni rezultati su prikazani u Tabeli 34.

Tabela 34. Koncentracija AA u serijama čajnog peciva pripremljenim na 150 i 170 °C. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) između četiri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C)

Uzorak	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2
Temperatura		150 °C				170 °C		
AA, µg/kg	48,0 ± 7,1 ^A	30,0 ± 5,6 ^B	27,8 ± 7,2 ^{BC}	15,4 ± 6,9 ^C	76,3 ± 8,5 ^A	50,0 ± 6,3 ^B	38,1 ± 4,4 ^C	35,6 ± 9,0 ^C

Sadržaj akrilamida u svim uzorcima iz ovog rada bio je daleko ispod referentne vrednosti od 350 µg/kg (Pravilnik o maksimalnim koncentracijama određenih kontaminenata u hrani, Službeni glasnik RS, 2022). U kontrolnim uzorcima sadržaj AA je bio viši na obe temperature pečenja

(48 i 76 µg/kg na 150 i 170 °C, respektivno) u poređenju sa vrednostima AA u uzorcima sa cveklom. Takođe je utvrđeno da se u uzorcima čajnog peciva pripremljenim na višoj temperaturi pečenja stvara nešto veća količina AA (36-50 µg/kg) u poređenju sa uzorcima pripremljenim na nižoj temperaturi (15-30 µg/kg) – statistički značajna razlika, $p = 0,0132$. Sa povećanjem sadržaja cvekla koncentracija AA je opadala na obe temperature pečenja. S obzirom na to da je udeo proteina u svim uzorcima iznosio oko 9%, a udeo glukoze i fruktoze je bio veoma nizak (Tabela 19), može se zaključiti da je najverovatniji razlog opadanju koncentracije AA sa povećanjem udela cvekla prisustvo značajne količine antioksidanasa, što je opisano u radu Sabolović et al. (2016). Generalno, može se zaključiti da je sadržaj AA u uzorcima čajnog peciva mali, kako zbog niskih temperatura pečenja, tako i zbog prisustva antioksidanasa iz cvekla.



Slika 25. GC-MS hromatogrami (I) bromovanog ekstrakta uzorka B2 i (II) spajkovanih bromovanog uzorka B2; Maseni spektri (III) 2-brom-2-propenamida i (IV) 2,3-dibrom-2-metilpropanamida

4.11. ODREĐIVANJE SENZORNIH SVOJSTAVA I TEKSTURE

4.11.1. Rezultati određivanja boje

Boja je važan parametar u proceni prihvatanja proizvoda od strane krajnjeg potrošača. Određeni su parametri boje čajnog peciva sa prahom od cvekla i upoređene su vrednosti L* (svetloća), a* (učešće crvenog tona) i b* (učešće žutog tona) za različite udele cvekla (Tabela 35). Zamenom speltinog brašna prahom cvekla dobijeno je čajno pecivo tamnije boje. Tokom skladištenja, vrednost L* koordinate je rasla. Bilo je očekivano da će do ovog efekta doći usled pojave tamno obojenih jedinjenja, koja kod čajnog peciva sa cveklom mogu biti produkti degradacije betalaina (Purlis i Salvadori, 2007). U poređenju sa kontrolnim uzorkom bez cvekla, a* koordinatna vrednost je povećana, a b* koordinatna vrednost smanjena. L* koordinata kontrolnih uzoraka bila je 53,91 za uzorak A1 i 53,14 za uzorak A2. Sa povećanjem temperature pečenja boja čajnog peciva je postajala tamnija, što se opet može pripisati manjem udelu betalaina usled njihove degradacije na višim temperaturama. U trećem mesecu skladištenja utvrđena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) L*koordinate čajnog peciva, dok u šestom mesecu nije bilo statistički značajnih razlika. Kod čajnog peciva sa cveklom vrednost koordinate L* blago opada sa povećanjem udelja cvekla od uzorka B1 (26,80, 27,72 i 30,55 za početak skladištenja, 3 i 6 meseci skladištenja), preko C1 (26,57, 26,23 i 27,46 za početak skladištenja, 3 i 6 meseci skladištenja) do uzorka D1 (25,88, 25,47 i 27,16 za početak skladištenja, 3 i 6 meseci skladištenja). Do statistički

Tabela 35. Vrednost L^* , a^* i b^* u uzorcima čajnog peciva pečenih na različitim temperaturama ($A1, B1, C1$ i $D1$ na 150°C ; $A2, B2, C2$ i $D2$ na 170°C) tokom tri perioda skladištenja. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C). Značajne razlike u srednjim vrednostima između četiri vrste a prikazane su različitim superskriptnim brojevima (1, 2, 3, 4).

	Početak skladištenja			3. Mesec			6. Mesec		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
<i>A1</i>	$53,91 \pm 0,05_{\text{A};3}^{+}$	$9,05 \pm 0,35_{\text{A};1}^{+}$	$25,48 \pm 0,96_{\text{A};5}^{+}$	$55,10 \pm 1,58_{\text{B};4}^{+}$	$9,45 \pm 0,38_{\text{A};1}^{+}$	$24,73 \pm 0,54_{\text{A};3}^{+}$	$56,74 \pm 1,34_{\text{C};4}^{+}$	$9,22 \pm 0,42_{\text{A};1}^{+}$	$24,32 \pm 0,40_{\text{A};3}^{+}$
<i>B1</i>	$26,80 \pm 0,36_{\text{A};1}^{+}$	$23,70 \pm 0,88_{\text{A};4}^{+}$	$10,62 \pm 0,40_{\text{A};2}^{+}$	$27,72 \pm 1,13_{\text{A};3}^{+}$	$24,00 \pm 1,55_{\text{A};2}^{+}$	$10,49 \pm 1,01_{\text{A};2}^{+}$	$30,55 \pm 1,32_{\text{B};3}^{+}$	$26,60 \pm 1,29_{\text{B};2}^{+}$	$11,59 \pm 1,11_{\text{B};2}^{+}$
<i>C1</i>	$26,57 \pm 1,39_{\text{A};1}^{+}$	$24,49 \pm 0,87_{\text{A};4}^{+}$	$11,51 \pm 0,62_{\text{C};3}^{+}$	$26,23 \pm 0,90_{\text{A};2;3}^{+}$	$26,12 \pm 0,74_{\text{B};3}^{+}$	$8,54 \pm 0,46_{\text{A};1}^{+}$	$27,46 \pm 2,12_{\text{A};1;2}^{+}$	$26,08 \pm 3,29_{\text{B};2}^{+}$	$9,80 \pm 0,95_{\text{B};1}^{+}$
<i>D1</i>	$25,88 \pm 0,48_{\text{A};1}^{+}$	$22,13 \pm 2,17_{\text{A};3}^{+}$	$9,94 \pm 0,76_{\text{B};1}^{+}$	$25,47 \pm 1,30_{\text{A};2}^{+}$	$24,36 \pm 0,69_{\text{B};2}^{+}$	$9,14 \pm 0,56_{\text{A};1}^{+}$	$27,16 \pm 0,89_{\text{B};1;2}^{+}$	$24,49 \pm 0,84_{\text{B};2}^{+}$	$9,97 \pm 0,63_{\text{B};1}^{+}$
<i>A2</i>	$53,14 \pm 0,33_{\text{A};3}^{+}$	$10,04 \pm 0,49_{\text{B};2}^{+}$	$27,14 \pm 1,17_{\text{B};6}^{+}$	$56,82 \pm 1,03_{\text{C};4}^{+}$	$9,13 \pm 0,53_{\text{A};1}^{+}$	$24,41 \pm 0,47_{\text{A};3}^{+}$	$55,61 \pm 0,83_{\text{B};4}^{+}$	$9,49 \pm 0,37_{\text{A};1}^{+}$	$26,09 \pm 2,04_{\text{B};3}^{+}$
<i>B2</i>	$28,83 \pm 0,78_{\text{B};2}^{+}$	$23,99 \pm 0,52_{\text{A};4}^{+}$	$13,42 \pm 0,58_{\text{B};4}^{+}$	$26,67 \pm 0,78_{\text{A};2;3}^{+}$	$26,33 \pm 0,64_{\text{B};3}^{+}$	$10,68 \pm 0,77_{\text{A};2}^{+}$	$28,44 \pm 1,27_{\text{B};2}^{+}$	$26,81 \pm 1,54_{\text{B};2}^{+}$	$10,88 \pm 1,75_{\text{A};2}^{+}$
<i>C2</i>	$25,99 \pm 0,98_{\text{A};1}^{+}$	$22,22 \pm 1,21_{\text{A};3}^{+}$	$10,73 \pm 1,13_{\text{A};2}^{+}$	$25,22 \pm 1,82_{\text{A};2}^{+}$	$24,80 \pm 1,66_{\text{B};2}^{+}$	$10,21 \pm 1,59_{\text{A};2}^{+}$	$26,58 \pm 1,26_{\text{A};1;2}^{+}$	$25,01 \pm 2,45_{\text{C};2}^{+}$	$10,14 \pm 1,54_{\text{A};2}^{+}$
<i>D2</i>	$25,21 \pm 0,51_{\text{B};1}^{+}$	$21,32 \pm 1,62_{\text{A};3}^{+}$	$9,05 \pm 0,98_{\text{A};1}^{+}$	$24,55 \pm 0,83_{\text{A};1}^{+}$	$24,76 \pm 0,95_{\text{B};2}^{+}$	$9,49 \pm 1,25_{\text{AB};1;2}^{+}$	$25,88 \pm 0,58_{\text{B};1}^{+}$	$25,75 \pm 0,87_{\text{B};2}^{+}$	$10,69 \pm 1,22_{\text{B};2}^{+}$

značajnog smanjenja L* koordinate ($p < 0,05$) sa smanjenjem udela speltinog brašna dolazi zbog gubitka bele boje brašna (Kayin et al., 2019). Uzorak bez cvekla u prahu (A1 i A2) ima značajno niže vrednosti crvenila (vrednost a* oko 10) u poređenju sa uzorcima čajnog peciva sa cveklom (vrednost a* iznad 20, Tabela 35). Ovo ukazuje da je kod čajnog peciva sa cveklom u prahu ideo crvene boje statistički značajno povećan ($p < 0,05$). U pogledu žute boje i b* koordinate ona je značajno viša u kontrolnim uzorcima A1 i A2 (vrednost b* oko 25), u poređenju sa uzorcima sa cveklom (vrednost b* oko 10). Ranijim istraživanjima je takođe primećeno da se vrednost L* koordinate smanjuje, kako se ideo dijetnih vlakana u odgovarajućem proizvodu povećava (Filipčev et al., 2015). Razlike u boji mogu biti uzrokovane neujednačenim izlaganjem površine čajnog peciva temperaturi pečenja ili hemijskim reakcijama kao što su karamelizacija i *Maillardova reakcija* (Purlis i Salvadori, 2007). U ranijim istraživanjima dokazano je da je temperatura najvažniji faktor koji utiče na stabilnost betalaina tokom skladištenja i obrade (Herbach et al., 2004). Međutim, na njihovu stabilnost utiču i pH vrednost, kiseonik, svetlost, aktivnost vode (aw), enzimi i neki metalni joni (Kayin et al., 2019), što može biti razlog promene boje čajnog peciva tokom skladištenja u našem istraživanju.

4.11.2. Rezultati određivanja tvrdoće

Tvrdoća je jedan od bitnih parametara kvaliteta čajnog peciva na koju prvenstveno može uticati njegov sastav. Tvrdoća bi trebalo da bude dovoljno velika da se čajno pecivo ne bi lomio prilikom transporta, a sa druge strane dovoljno niska kako bi bio prikladan za konzumiranje. Prihvatljiva tvrdoća čajnog peciva, napravljenog od rafinisanog brašna, optimalne količine masti i šećera, trebalo bi da bude oko 2000-3000 g (Filipčev et al., 2015.)

Istraživanje koje je objavljeno dokazalo je da se sa povećanjem sadržaja pšeničnog brašna povećava tvrdoća, zbog osobina glutena. Varijacije u tvrdoći mogu se pojaviti kao posledica sadržaja lipida, proteina i skroba (Singh et al., 2015).

Pokazano je da mast koja oblaže površinu čestica brašna, inhibira formiranje glutena (Sudha et al., 2007), a sa druge strane, u nedostatku masnoće, dolazi do većeg upijanja vode, što rezultira većoj tvrdoći testa (O'Brien et al., 2003). Takođe je pokazano da druge komponente brašna, kao što su skrob i lipidi, zajedno sa saharozom mogu uticati na distribuciju vode u testu za čajna peciva (Fustier et al., 2009). U istraživanjima je opisano da dodatak prehrambenih vlakana iz voća značajno utiče na povećanje tvrdoće čajnog peciva (Uysal et al., 2007), a slični rezultati dobijeni su primenom vlakna iz povrća (Singh et al., 2003).

Pozitivnu korelaciju sadržaja vlakana i proteina sa vrednošću tvrdoće kolačića dokazali su i Piazza i Masi (1997). Ovo je takođe bilo u skladu sa rezultatima koji su dobijeni u istraživanju u kome je korišćeno brašno od patlidžana kao važan izvor vlakana (Jenkins et al., 2003). Prema Collar et al. (2007), dodavanje vlakana utiče na mehanička svojstva kao što su povećana tvrdoća i smanjena kohezivnost testa. Nandeesh et al. (2011) su takođe konstatovali povećanu tvrdoću testa za čajno pecivo i smanjenje kohezivnosti, elastičnosti i lepljivosti uz dodatak 30% različito tretiranih pšeničnih mekinja.

Visok sadržaj vlakana u prahu cvekla je očigledno bio osnova za proizvodnju čajnog peciva sa tvrdom teksturom. Prah cvekla je imao presudan uticaj na tvrdoću jer je kod uzorka sa cveklom izmerena veća vrednost tvrdoće u poređenju sa uzorcima bez cvekla. Veća vrednost tvrdoće ispitivanih uzorka čajnog peciva povezuje se takođe sa krupnim česticama mekinja koje potiču od speltinog brašna, koje je bilo osnova za proizvodnju čajnog peciva.

Rezultati kod kojih se uočava povećanje vrednosti tvrdoće sa povećanjem udela praha cvekla prikazani su u Tabeli 36. Međutim, svi uzorci su pokazali značajno smanjenje tvrdoće ($p < 0,05$)

tokom perioda skladištenja od šest meseci. Najveći pad pokazali su uzorci sa 20% praha cvekle, pečeni na nižoj temperaturi, i to za 58% u šestom mesecu, dok je uzorak D2 pokazao pad za 50%. Kako tokom skladištenja dolazi do gubitka vlage, varijacije u tvrdoći tokom šest meseci mogu biti posledica promene sadržaja lipida, proteina i skroba, koji utiču na distribuciju vode u testu za čajno pecivo. Prilikom upijanja vode od strane brašna, u nedostatku dovoljne količine masti, dolazi do povećanja tvrdoće čajnog peciva, što je pokazano i u studiji Singh et al. (2015).

Tabela 36. Tvrdoća uzoraka čajnog peciva pečenih na različitim temperaturama tokom skladištenja. Značajne razlike u srednjim vrednostima ($p < 0,05$) u okviru jedne vrste čajnog peciva između tri vremenska perioda prikazane su različitim superkriptnim slovima (A, B, C). Značajne razlike u srednjim vrednostima između četiri vrste čajnog peciva prikazane su različitim superskriptnim brojevima (1, 2, 3, 4).

Tvrdoća (kg)			
Uzorak	Početak skladištenja	3. mesec	6. mesec
A1	4,32 ^{1A}	4,15 ^{12B}	13,20 ^{1C}
B1	5,75 ^{1A}	3,94 ^{1B}	7,95 ^{2C}
C1	27,94 ^{2A}	7,15 ^{3B}	12,00 ^{3C}
D1	11,39 ^{3A}	4,48 ^{2B}	6,33 ^{4C}
A2	5,55 ^{1A}	6,88 ^{1B}	7,61 ^{1C}
B2	21,30 ^{2A}	15,33 ^{2B}	14,74 ^{2B}
C2	26,36 ^{3A}	9,02 ^{3B}	13,38 ^{2B}
D2	21,87 ^{3A}	11,45 ^{2B}	11,49 ^{2B}

4.11.3. Rezultati senzorne analize

U nastavku su rezultati ocenjivanja senzornog kvaliteta čajnog peciva sa dodatkom cvekle. Ispitivani su uzorci sa 15, 20 i 25% praha od cvekle, pečenih na 150 i 170 °C. (Tabela 14). Podaci su prikazani tabelarno za dva perioda ispitivanja (sveže čajno pecivo, neposredno posle proizvodnje i posle 90 dana skladištenja). Čajno pecivo je skladišteno na sobnoj temperaturi u zatvorenim PET posudama. U senzornom ocenjivanju je učestvovalo 8 obučenih ocenjivača koji poseduju sertifikate o obuci prema zahtevima standarda ISO 8586:2012.

U prvom periodu ispitivanja, odmah nakon proizvodnje, ističu se uzorci sa 20 i 15% pečeni na višoj temperaturi; C2 ($X_{sr} = 4,69$) i B2 ($X_{sr} = 4,52$) koji su imali odličan ukupan kvalitet. Navedeni uzorci su bili najbolje ocenjeni u pogledu teksture-strukture, ispečenosti i preloma neposredno nakon proizvodnje, čemu je doprinelo pečenje na višoj temperaturi. Uzorak C2 je dobio odlične ocene i za ostale ocenjivane parametre, od čega posebno visoke za ukus, miris i izgled (Tabela 37). Navedeni atributi bili su ocenjeni visokim ocenama i kod uzorka B2 u prvom periodu ispitivanja. Uzorak B1, 15% cvekle, pečen na nižoj temperaturi, po dobijenim ocenama je bio na granici vrlo dobrog i odličnog kvaliteta ($X_{sr} = 4,47$), dok su ostali ispitivani uzorci u svežem stanju pripadali kategoriji vrlo dobrog kvaliteta.

Evidentno je da je kod svih uzoraka došlo do pada senzornog kvaliteta tokom skladištenja, što je uobičajeno i očekivano. Uočeni pad nije bio drastičan i svi ispitivani uzorci su bili u kategoriji vrlo dobrog ukupnog kvaliteta posle 90 dana čuvanja. Iz dobijenih rezultata primećeno je da je čajno pecivo sa 20% praha od cvekle imalo najsladji ukus, dok je uzorak sa 25% cvekle (D) imao blago zemljani ukus cvekle (Tabela 37). Boja je mestimično bila neujednačena, što je verovatno

posledica neujednačenog zamesa. Bolju ocenu za svojstvo izgleda – boje dobili su uzorci pečeni na nižoj temperaturi. Struktura u uzorcima A, B i C je definisana kao blago hrskava, dok je kod uzorka D uočena žilavost. Miris svih uzoraka je bio svojstven, manje ili više izražen. Najbolju ocenu za miris dobio je uzorak sa 20% praha od cvekla (C). Temperatura pečenja i vreme skladištenja nisu značajno uticali na parametre senzornog kvaliteta (Tabela 37). Može se uočiti da je uzorak C2 u najvećoj meri zadržao senzorni kvalitet i posle tromesečnog stajanja, budući da je i u drugom periodu ocenjivanja imao najvišu ukupnu ocenu ($X_{sr} = 4,03$), što ga čini najbolje ocenjenim uzorkom u ovom istraživanju. Uzorci C1 i C2 su pokazali izuzetno dobru AO na početku skladištenja, kao i dobar trend povećanja betaina tokom perioda skladištenja. Temperatura pečenja nije uticala na smanjenje AO i sadržaja betaina. Iako je bio ocenjen najnižom srednjom ocenom za ukupan kvalitet u svežem stanju ($X_{sr} = 4,13$), uzorak D2 je ispoljio najmanji pad senzornog kvaliteta tokom skladištenja, pošto je na kraju perioda ispitivanja rangiran ($X_{sr} = 4,01$) odmah posle uzorka C2 (Tabela 37). Senzorna svojstva kvaliteta uzorka B2 takođe se nisu značajno promenila tokom skladištenja (Tabela 37).

Tabela 37. Rezultati senzornog ocenjivanja čajnog peciva sa cveklom tokom skladištenja

Uzorak	Period skladištenja	Izračunati pokazateli	Ispitivana svojstva kvaliteta					% od maksimalno mogućeg kvaliteta	Ponderisana srednja vrednost ocene
			IZGLED		TEKSTURA		AROMA		
			Boja površina veličina i oblik	Struktura, ispečenost i prelom	Žvakljivost	Miris	Ukus		
			KOEFICIJENT VAŽNOSTI (KV)						
			3	4	4	4	5		
A1	sveži	X_{sr}	4,40 ± 0,38	4,09 ± 0,13	4,25 ± 0,30	4,50 ± 0,42	4,16 ± 0,32	4,27	85,36
	posle 90 dana	X_{sr}	3,87 ± 0,57	3,87 ± 0,53	3,81 ± 0,22	3,91 ± 0,42	3,12 ± 0,13	3,68	73,57
B1	sveži	X_{sr}	4,87 ± 0,19	4,16 ± 0,26	4,16 ± 0,26	4,62 ± 0,23	4,59 ± 0,35	4,47	89,32
	posle 90 dana	X_{sr}	4,22 ± 0,21	3,78 ± 0,36	3,84 ± 0,38	3,81 ± 0,61	3,37 ± 0,46	3,76	75,23
C1	sveži	X_{sr}	4,84 ± 0,19	4,34 ± 0,19	4,22 ± 0,21	4,53 ± 0,09	4,53 ± 0,36	4,33	86,53
	posle 90 dana	X_{sr}	4,22 ± 0,34	3,84 ± 0,26	3,91 ± 0,23	4,00 ± 0,30	3,72 ± 0,28	3,91	78,26
D1	sveži	X_{sr}	4,37 ± 0,35	4,25 ± 0,27	4,06 ± 0,22	4,47 ± 0,16	4,28 ± 0,28	4,28	85,64
	posle 90 dana	X_{sr}	3,69 ± 0,46	3,62 ± 0,30	3,69 ± 0,22	3,81 ± 0,42	3,62 ± 0,35	3,68	73,65
A2	sveži	X_{sr}	4,44 ± 0,37	3,90 ± 0,19	3,97 ± 0,16	4,37 ± 0,23	4,09 ± 0,13	4,14	82,73
	posle 90 dana	X_{sr}	4,16 ± 0,19	3,97 ± 0,36	3,91 ± 0,19	3,66 ± 0,32	3,28 ± 0,39	3,75	75,04
B2	sveži	X_{sr}	4,72 ± 0,25	4,37 ± 0,19	4,19 ± 0,18	4,69 ± 0,26	4,66 ± 0,23	4,52	90,46
	posle 90 dana	X_{sr}	4,22 ± 0,25	3,94 ± 0,32	3,87 ± 0,27	3,91 ± 0,42	3,69 ± 0,39	3,90	77,99
C2	sveži	X_{sr}	4,75 ± 0,33	4,56 ± 0,18	4,56 ± 0,18	4,69 ± 0,26	4,87 ± 0,13	4,69	93,84
	posle 90 dana	X_{sr}	4,28 ± 0,16	4,00 ± 0,19	4,00 ± 0,27	4,06 ± 0,29	3,91 ± 0,30	4,03	80,63
D2	sveži	X_{sr}	4,25 ± 0,40	4,00 ± 0,13	3,72 ± 0,16	4,41 ± 0,23	4,25 ± 0,00	4,13	82,52
	posle 90 dana	X_{sr}	4,12 ± 0,40	3,94 ± 0,26	4,00 ± 0,27	4,10 ± 0,23	3,94 ± 0,42	4,01	80,22

Uzorci A1 i D1 su, prema mišljenju učesnika panela, ispoljili vrlo sličan profil senzornog kvaliteta tokom istraživanja, sa gotovo identičnim ocenama za ukupni senzorni kvalitet tokom oba perioda ispitivanja. Ovim možemo zaključiti da je čajno pecivo sa dodatkom cvekla pokazalo poboljšanje ukusa, što se može pripisati posebnom ukusu cvekla, koji je dao specifičan ukus kolačićima. Smanjenje ocena za svojstvo ukusa sa daljim povećanjem udela praha od cvekla u uzorcima posledica je dominacije zemljjanog i drvenastog ukusa koji je karakterističan za cveklu. Takođe, opadanje ocena za ukus je donekle uzrokovano razvojem gorkih nota koje se mogu pripisati visokom sadržaju tanina u prahu cvekla. Slične rezultate su dobili Sahn et al. (2016), gde je čajno pecivo sa 10% praha od cvekla imalo bolja senzorna svojstva od čajnog peciva sa 25% cvekla.

4.12. UTICAJ DODATKA PRAHA CVEKLE NA GLIKEMIJSKI INDEKS ČAJNOG PECIVA

Unos namirnica sa visokim glikemijskim indeksom (GI) povezan je sa povećanim rizikom od gojaznosti i dijabetesa tipa 2. Procena glikemijskog indeksa (GI) je važan parametar koji treba uzeti u obzir kako bi se bolje razumeli fiziološki efekti hrane sa visokim nivoom ugljenih hidrata. Iako se spelta (*Triticum spelta L.*) smatra posebno zanimljivom sa nutritivne tačke gledišta, studije pokazuju da je glikemijski odgovor na pekarske proizvode od brašna spelte sličan odgovoru na proizvode od brašna pšenice (Marques et al., 2007). Konzumiranje brašna od celog zrna spelte može imati preventivno dejstvo na pojavu dijabetesa i gojaznosti dok belo brašno od spelte ima veći glikemijski indeks, sličan belom pšeničnom brašnu. Prema Savetu za dijabetes (*The Diabetes Council*), brašno od celog zrna spelte ima nešto niži glikemijski indeks od brašna od cele pšenice, heljde, kukuruza i prosa. Glikemijski indeks integralnog speltinog brašna je procenjen na 55 do 67, što znači da ima umeren uticaj na nivo šećera u krvi. Visok GI (više od 70) i GL (više od 20) karakterišu većinu standardnih konditorskih proizvoda.

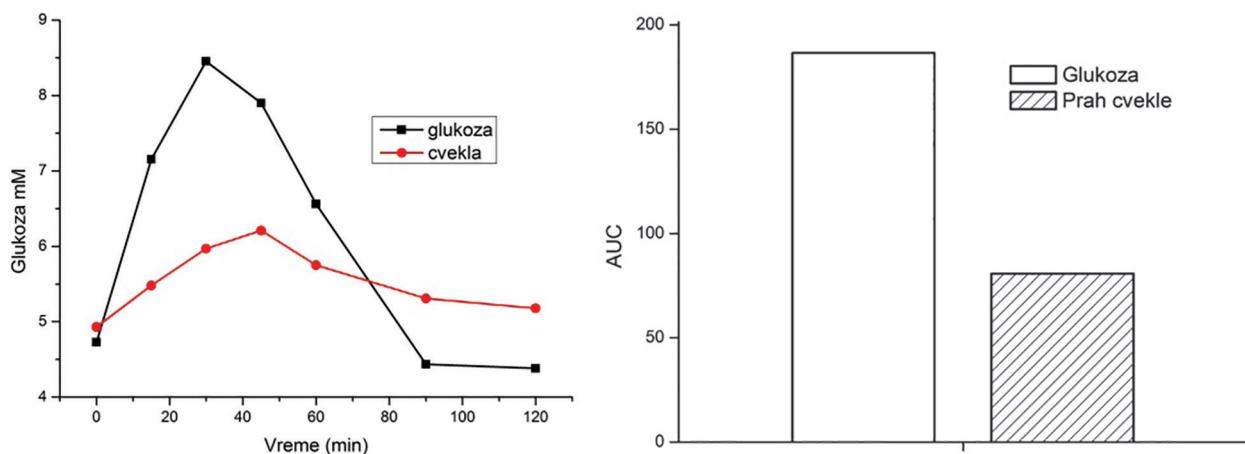
Povišen sadržaj dijetnih vlakana, kao i polifenola, značajno doprinosi kvalitetu konditorskih proizvoda, što se, između ostalog, odražava na sniženje GI. Studija koja je obuhvatila 26 zdravih dobrovoljaca je pokazala da pecivo obogaćeno vlaknima ima GI od 58,9, u odnosu na hleb. Glukoza se sporije oslobađala i tokom *in vitro* digestije obogaćenog peciva. Niži glikemijski i insulinemijski odgovor može se objasniti višim sadržajem dijetnih vlakana i nižim stepenom gelatinizacije granula skroba kod peciva od celog brašna ječma, spelte i ovsenih pahuljica, što je potvrdila i konfokalna mikroskopija (Schuchardt et al., 2016).

Sveža cvekla se svrstava u povrće sa niskim glikemijskim indeksom (30) (<https://glycemic-index.net/beetroot-fresh/>) i niskim glikemijskim opterećenjem (4), dok barena ima dvostruko viši GI i spada u namirnice sa srednjim glikemijskim indeksom (<https://foodstruct.com/food/beetroot>). Ona sadrži fitohemikalije koje doprinose smanjenju nivoa šećera u krvi i boljoj kontroli nivoa insulina, ali je takođe i povrće sa visokim sadržajem saharoze.

In vivo studija sprovedena u okviru ove doktorske teze na zdravim ispitanicima oba pola je pokazala efekat dodatka praha od cvekla na glikemijski odgovor. Glikemije su izmerene u 0', 15', 30', 45', 60', 90' i 120' nakon konzumiranja 25,0 g glukoze i ~ 42,0 g peciva, što je količina koja sadrži 25,0 g dostupnih ugljenih hidrata.

Kriva i površina ispod krive (AUC) oralnog testa tolerancije glukoze (OGTT) za obogaćeni keks su pokazali značajno poboljšanu toleranciju u poređenju sa čistom glukozom. Na slici 26A je prikazana kriva zavisnosti koncentracije postprandijalne glukoze (OGTT) nakon konzumiranja 25,0 g čiste glukoze i one količine keksa sa 20% praha od cvekla koja sadrži 25,0 g dostupnih ugljenih hidrata (42,0 g). Vrednosti glukoze u krvi nakon konzumiranja keksa su bile značajno niže od vrednosti izmerenih nakon konzumiranja glukoze. Najviša vrednost nakon konzumiranja glukoze dostignuta u 30. minutu iznosila je skoro 9 mM, nakon čega je usledio nagli pad. Vrlo

blagi porast koncentracije glukoze nakon konzumiranja keksa dostigao je maksimum od oko 6 mM u 45. minutu, da bi se nakon toga vratio na početnu vrednost. Površine ispod dobijenih krivih su prikazane na slici 26B. Više nego dvostruko veća površina je dobijena za krvu vremenske zavisnosti koncentracije glukoze u krvi nakon konzumiranja 25,0 g čiste glukoze. Na osnovu dobijenih površina je izračunata vrednost GI peciva sa cveklom, koja je iznosila 49 ± 11 . Na osnovu dobijenih rezultata ovaj inovativni konditorski proizvod se može svrstati u hranu sa nižim GI. Glikemijsko opterećenje (*glycaemic load – GL*) je iznosilo 16,5, što svrstava čajno pecivo u kategoriju srednjeg glikemijskog opterećenja.



Slika 26. Kriva zavisnosti koncentracije postprandijalne glukoze (OGTT) nakon konzumiranja 25,0 g čiste glukoze i količine keksa sa 20% praha od cvekla koji sadrži 25,0 g dostupnih ugljenih hidrata (A); Površine ispod krivih vremenske zavisnosti koncentracije glukoze u krvi (AUC) nakon konzumiranja glukoze i keksa (B)

Dobijeni rezultati ukazuju da se pecivo sa cveklom može preporučiti kao zdrava zamena za standardne konditorske proizvode onim kategorijama potrošača koji vode računa o ishrani. Takva zamena bi doprinela prevenciji pojave gojaznosti i dijabetesa. Obogaćivanje keksa prahom od cvekla kao drugim brašnima na bazi voća i povrća će biti spovedeno u nastavku ovog istraživanja i na industrijskom nivou. Takođe, biće ispitani relevantni komercijalni i marketinški aspekti. Imajući u vidu popularnost i masovnu potrošnju ovog konditorskog proizvoda, njegovo obogaćivanje brašnima voća i povrća bi se moglo odraziti na javno zdravlje.

5. ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata u okviru ovog istraživanja, može se zaključiti sledeće:

1. Ispitivanjem cvekla u prahu (BP) i speltinog brašna (SF) utvrđeno je da su kapaciteti vezivanja vode i ulja, kao i kapaciteti bubrežnog i hidriranja, u korelaciji sa sadržajem dijetnih vlakana. Tehno-funkcionalne osobine praha cvekla ukazuju na široku mogućnosti upotrebe u prehrambenoj industriji, posebno u proizvodnji hrane za osobe intolerantne na gluten.
2. Temperatura ostakljivanja praha cvekla koja je iznad uobičajene temperature skladištenja ($T_g = 37,4\text{--}41,0\text{ }^{\circ}\text{C}$), kao i niska vrednost aktivnosti vode ($aw < 0,4$) obezbeđuju produženu stabilnost praha cvekla. Rezultati termogravimetrijske analize su potvrdili stabilnost praha cvekla na temperaturi pečenja čajnog peciva, koja omogućava njegovu širu primenu u proizvodnji konditorskih proizvoda.
3. Prah cvekla (BP) karakteriše visok sadržaj dijetnih vlakana (19,90%). U poređenju sa brašnom od spelte, prah cvekla znatno manji ideo masti (BP 0,59%, SF 2,41%). Sadržaj vlage u prahu od cvekla (6,8%) ukazuje na dobar kapacitet skladištenja.
Sa porastom udela praha od cvekla u čajnom pecivu povećava se i sadržaj dijetnih vlakana. Najveći sadržaj dijetnih vlakana ima uzorak sa 25% praha od cvekla (7,60%) usled visokog udela BP. Na osnovu ovih rezultata, može se zaključiti da se prah cvekla koji ima nizak sadržaj masti, a visok sadržaj dijetnih vlakana, može koristiti kao funkcionalni dodatak u raznim konditorskim proizvodima.
4. U mineralnom profilu BP, od makroelemenata dominira kalijum (7180 mg/kg), čiji je sadržaj znatno viši od sadržaja kalijuma u speltinom brašnu (1410 mg/kg), dok od mikroelementa dominira cink (19,66 mg/kg).
Sadržaj kalijuma, koji dominantno potiče iz cvekla, povećava se sa povećanjem sadržaja praha cvekla u uzorcima keksa i kreće se od 1059 mg/kg do 2743 mg/kg, tako da se konzumiranjem obogaćenog čajnog peciva može nadoknaditi preporučena doza ovog makroelementa. Koncentracije elemenata kao što su As, Co, Cr i Pb su ispod granice kvantifikacije u svim ispitanim uzorcima.
5. Sa povećanjem udela praha cvekla, srazmerno raste i sadržaj betaina. Uzorci sa 15 i 20% praha cvekla pokazuju isti trend povećanja sadržaja betaina tokom skladištenja. Temperatura pečenja ne utiče na promenu sadržaja betaina u uzorcima sa 20 i 25% praha cvekla. Uzorci sa 25% praha cvekla pokazuju najveći sadržaj betaina (307 mg/100 g), što je polovina od preporučene dnevne doze.
6. Tokom šestomesečnog skladištenja sadržaj betaksantina je smanjen za 30%, dok je sadržaj betacijanina opao za 36%. Ovo ukazuje da su betaksantini nešto stabilniji tokom skladištenja od betacijanina. Ove razlike su veće na početku skladištenja kao i nakon tri meseca, ali se smanjuju nakon šest meseci skladištenja. Rezultati pokazuju da uzorci pečeni na nižoj temperaturi imaju veću početnu vrednost betacijanina, ali veći statistički značajan gubitak (57-70%) tokom skladištenja, dok uzorci pečeni na višoj temperaturi imaju nižu početnu vrednost betacijanina i manji gubitak tokom vremena (16-52%). Takođe, uočeno je da uzorci čajnog peciva pečeni na nižim temperaturama imaju veću početnu vrednost betaksantina, ali i značajno veći gubitak tokom skladištenja (54-71%), dok uzorci pečeni na višim temperaturama imaju nižu početnu vrednost betaksantina, ali je njihov gubitak tokom vremena manji (27-53%). Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da su betalaini u čajnom pecivu nestabilni tokom dugotrajnog skladištenja na sobnoj temperaturi, kao i da je njihov gubitak manji kod proizvoda pečenih na višim temperaturama.

7. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola (TPC) i ukupnih flavonoida (TFC) u uzorcima čajnog peciva tokom skladištenja izvršeno je spektrofotometrijski. Značajno povećanje TPC primećeno je pri povećanju udela cvekla u zamesu do 20%. Pored toga, primećeno je da se TPC značajno smanjuje tokom skladištenja na sobnoj temperaturi. Razlike dobijene u uzorcima sa istim udelom cvekla, koji su pečeni na različitim temperaturama, nisu statistički značajne.
- Ukupan sadržaj flavonoida (TFC) u uzorcima čajnog peciva kreće se od 2,9 do 16,6 mg CE/g. Slično kao i TPC, sadržaj flavonoida zavisi od udela cvekla u analiziranim uzorcima. Uočene su značajne razlike između različitih perioda skladištenja kod svih vrsta čajnog peciva. Tokom šest meseci skladištenja TFC se značajno smanjila. Dobijene razlike u uzorcima sa istim udelom cvekla, pečenim na različitim temperaturama, nisu statistički značajne.
8. Antioksidativna aktivnost određena je standardnim spektrofotometrijskim metodama (DPPH i FRAP test). Potvrđena je značajna antioksidativna aktivnost, koja se povećava sa povećanjem udela praha od cvekla u čajnom pecivu. Temperatura pečenja ne utiče značajno na antioksidativnu aktivnost, ali ona tokom skladištenja opada.
9. HPLC analizom su u prahu od cvekla detektovani epikatehin, katehin, galna, protokatehinska, kafena, hlorogenska, vanilinska i *p*-kumarinska kiselina. Kvantitativna analiza pokazuje da se koncentracija fenolnih jedinjenja u sušenoj cvekli smanjuje za oko 35% tokom skladištenja. U speltinom brašnu, koncentracija epikatehina, katehina i *p*-kumarinske kiseline, bile su ispod granice detekcije, dok se sadržaj galne, protokatehinske, kafene, hlorogene i vanilinske kiseline postepeno smanjivao tokom vremena. HPLC analizom čajnog peciva utvrđeno je prisustvo: epikatehina, katehina, protokatehina, *p*-kumarinske, kafene, galne, hlorogenske i vanilinske kiseline. Uzorak peciva koji je pečen na 170 °C, sa 25% praha od cvekla (D2), pokazuje najveći sadržaj ukupnih polifenola, 110 mg/100 g. Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da su katehin, epikatehin i *p*-kumarinska kiselina najnestabilniji polifenoli u uzorcima. Temperatura pečenja ne utiče na smanjenje njihovog sadržaja.
10. Vrednost *aw* čajnog peciva se nalazi u opsegu 0,35-0,55, što omogućava mikrobiološku i hemijsku stabilnost proizvoda. Nakon skladištenja od 3 meseca, vrednost *aw* se dodatno smanjila i kod svih uzoraka dostigla vrednost od oko 0,35, što ide u prilog mogućnosti dužeg skladištenja čajnog peciva sa cveklom.
11. Na osnovu MB analize može se zaključiti da uzorci keksa zadovoljavaju kriterijume bezbednosti hrane.
12. Sadržaj akrilamida (AA) je bio daleko ispod referentne vrednosti od 350 µg/kg u svim uzorcima čajnog peciva iz ovog rada. U kontrolnim uzorcima sadržaj AA je bio najveći i iznosio je 48 i 76 µg/kg na 150 i 170 °C, respektivno. U uzorcima čajnog peciva pripremljenim na višoj temperaturi pečenja stvara se nešto veća količina AA (36-50 µg/kg) u poređenju sa uzorcima pripremljenim na nižoj temperaturi (15-30 µg/kg). Sa povećanjem sadržaja cvekla koncentracija AA je opadala na obe temperature pečenja, što je, s obzirom na to da je ideo proteina u svim uzorcima iznosio oko 9%, posledica prisustva značajne količine antioksidanasa.
13. Zamenom speltinog brašna prahom cvekla dobijeno je čajno pecivo tamnije boje. Kod čajnog peciva sa cveklom, vrednost svetloće (*L**) blago opada sa povećanjem udela cvekla, što se može povezati sa *Maillardovom* reakcijom u kojoj asparagin reaguje sa šećerom i dovodi do nastanka tamno obojenih jedinjenja. U poređenju sa kontrolnim uzorkom bez cvekla, kod uzoraka čajnog peciva sa cveklom, vrednost udela crvene/zelene boje (*a**) je rasla, dok je vrednost udela žute/plave (*b**) opadala.
14. Najveći pad tvrdoće pokazuju uzorci sa 20% praha cvekla, pečeni na nižoj temperaturi, i to za 58% u šestom mesecu (27,9-12,0 kg), dok je uzorak D2 pokazao pad za 50% (21,9-11,5 kg). Uočava se povećanje vrednosti tvrdoće sa povećanjem udela praha cvekla. Međutim, kod svih uzoraka je dolazilo do značajnog smanjenja tvrdoće ($p < 0,05$) tokom perioda skladištenja od šest meseci.

15. Senzornom analizom je utvrđeno da čajno pecivo sa 20% praha od cvekla (C2) ima najbolje ocene u pogledu izgleda, strukture i žvakljivosti, kao i prijatan slatkast ukus i miris. Ocena koja je na početku skladištenja bila $X_{sr} = 4,69$ nakon 90 dana je opala na $X_{sr} = 4,03$, što govori da je zadržan vrlo dobar kvalitet. Ova konstatacija važi i za sve ostale uzorke.
16. Konzumiranje keksa sa cveklom ne izaziva nagli porast ili izrazit skok postprandijalne glukoze (OGTT). Vrednost površine ispod krive zavisnosti koncentracije glukoze od vremena je gotovo dvostruko niža od vrednosti dobijene za ekvivalentnu količinu čiste glukoze. Standardnom *in vivo* metodom je utvrđeno da keks sa najbolje ocenjenim senzornim svojstvima spada u proizvode sa nižim glikemijskim indeksom i srednjim glikemijskim opterećenjem. Vrednost glikemijskog indeksa keksa sa dodatkom 20% praha cvekla iznosi oko 49 ± 11 , a glikemijskog opterećenja 16,5.

Na osnovu svih dobijenih rezultata može se zaključiti da se cvekla u prahu, zbog svojih antioksidativnih svojstava i prisustva pigmenata, kao i značajnog udela minerala i dijetnih vlakana, kao i visokog kapaciteta vezivanja vode i ulja, može koristiti kao funkcionalni dodatak čajnom pecivu. Zbog svega navedenog prah cvekla ima ulogu prirodnog aditiva i mogao bi se koristiti kao zamena za sintetičke aditive i u drugim vrstama prehrambenih proizvoda, osim čajnog peciva. Sa povećanjem udela cvekla u pecivu (15, 20 i 25% praha), povećan je sadržaj dijetnih vlakana, pa se ova vrsta čajnog peciva može preporučiti kao zamena standardnim konditorskim proizvodima sa niskim sadržajem dijetnih vlakana i antioksidanasa. Sa povećanjem sadržaja praha od cvekla u pecivu, generalno se povećava sadržaja betalaina, ukupnih polifenola, flavonoida, kao i antioksidativna aktivnost, što pokazuje da prah cvekla značajno doprinosi funkcionalnim svojstvima čajnog peciva.

6. LITERATURA

- A.I.Rey, Hopia, R., Kivistö, M., Kahkonen. (2005). Use of natural food/plant extracts: cloud-
berry (*Rubus Chamaemorus*), beetroot (*Beta Vulgaris „Vulgaris”*) or w LWT – *Food Science
and Technology*, Volume 38, Issue 4, Pages 363–370.
- Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J. J., Pacheco-Vargas, G., Osorio-Díaz, P., Bello-Pérez, L.
A. (2012). Starch digestibility and glycemic index of cookies partially substituted with un-
ripe banana flour. *LWT-Food Science and Technology*, 46(1), 177–182.
- Ahmad, S., Ahmed, M. (2014). A review on biscuit, a largest consumed processed product in
India, its fortification and nutritional improvement. *International Journal of Science Inven-
tions Today*, 3(2), 169–186.
- Albano, C., Negro, C., Tommasi, N., Gerardi, C., Mita, G., Miceli, A., De Bellis, L., Blando, F.
(2015). Betalains, Phenols and Antioxidant Capacity in Cactus Pear [*Opuntia ficus-indica*
(L.) Mill.] Fruits from Apulia (South Italy) Genotypes. *Antioxidants*. 4(2), 269–280.
- Alirezai M., Gheisari H.R., Ranjbar V.R., Hajibemani A. (2012). Betaine: a promising antiox-
idant agent for enhancement of broiler meat quality. *British Poultry Science*, 53, 699–707.
- Arai, S. (1996). Studies on functional foods in Japan. State of the art. *Bioscience, Biotechnolo-
gy and Biochemistry*, 60, 9–15.
- Artz, W. E., Warren, C. C., Mohring, A. E., Villota, R. (1990). Incorporation of corn fiber into
sugar snap cookies. *Cereal Chemistry*, 67(3), 303–305.
- Azeredo, H.M.C. (2006). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review,
Food Sci. Technol. 44, 2365–2376.
- Aziz, M., Yasmin, I., Batool, R., Khan, W.A., Naz, S., Ashraf, F., Azam, M., Khaliq, A., Iqbal, R.
(2020). Exploring the effect of apricot addition on nutritional, antioxidant, textural and
sensory characteristics of cookies apricot supplemented functional cookies. *Ital. J. Food
Sci.* 32, 831–844.
- Badanjak Sabolović, M., Rimac Brnčić, S. (2016). Croatian Journal of Food Technology, *Bio-
technology and Nutrition*. 11 (1-2), 79–84.
- Baldinelli, A., Dou, X., Buchholz, D., Marinaro, M., Passerini, S., Barelli, L. (2018). Address-
ing the energy sustainability of biowaste-derived hard carbon materials for battery elec-
trodes. *Green Chemistry*, 20(7), 1527–1537.
- Bchir, B., Rabetafka, N., Paquot, M., Blecker, Ch. (2014) Efect of pear, apple and date fibres
from cooked fruit by-products on dough performance and bread quality. *Food Bioproc
Tech.* 7, 1114–1127.
- Belović M., Torbica A., Škrobot D., Tomić J., Čabarkapa I., Živančev D., Štakić S., Aćin V.,
Kukurova K., Ciesarova Z. (2020). Potential applicationof triticale cultivar „Odisej” for the
productionof cookies, Ratarstvo i Povrtarstvo.
- Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure
of „Antioxidant Power”. *The FRAP Assay*. 76, 70–76.
- Besbes, E., Jury, V., Monteau, J.Y., Le Bail, A. (2014). Effect of baking conditions and storage
with crust on the moisture profile, local textural properties and staling kinetics of pan
bread. *LWT - Food Sci. Technol.* 58(2), 658–666.
- Bloksma, A. J., Bushuk, W. (1988). Rheology and chemistry of dough. Wheat Chemistry and
Technology. Vol. II. Y. Pomeranz,(Ed.), *American Association of Cereal Chemists*, pp. 131–
200, St. Paul, Minnesota
- Brand-Williams W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate
antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*, 28, 25–30.

- Brouwer I.A., Verhoef P., Urgert R. (2000). Betaine supplementation and plasma homocysteine in healthy volunteers. *Archives of Internal Medicine*, 160, 2546–2547.
- Burg M., Ferraris J., Dmitrieva N. (2007). Cellular response to hyperosmotic stresses.
- Burg M.B. (1994). Molecular basis for osmoregulation of organic osmolytes in renal medullary cells. *Journal of Experimental Zoology*, 268, 171–175.
- Cai, X., Li, X., Fan, W., Yu, W., Wang, S., Li, Z., Scott, E.M., Li, X. (2016). Potassium and obesity/metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of the epidemiological evidence. *Nutrients*, 8, 183
- Castro-López, C., Sánchez-Alejoa, E.J., Saucedo-Pompab, S., Rojasa, R., Aranda-Ruiza, J., Martínez-Avilaa, G.C.G. (2016). Fluctuations in phenolic content, ascorbic acid and total carotenoids and antioxidant activity of fruit beverages during storage. *Heliyon*. 2(9), e00152.
- Choi, J.E., Lee, J.H. (2015). Quality and antioxidant attributes of cookies supplemented with cranberry powder. *Korean J Food Sci Technol*. 47, 132–135.
- Choi, Y.S., Kim, S.K., Mo, E.K. (2014). Quality characteristics of cookies with acai berry (*Euterpe oleracea* Mart.) powder added. *Korean J. Food Preserv*. 21, 661–667.
- Clifford, M.N. (1999). Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science the Food and Agriculture*. 79, 362–372.
- Collar, C., Santos, E., Rosell, C.M. (2007). Assessment of the rheological profile of fibre-enriched bread doughs by response surface methodology. *Journal of Food Engineering*. 78, 820–826.
- Corol D.I., Ravel C., Raksegi M., Bedo Z., Charmet G., Beale M.H., Shwery P.R., Ward J.L. (2012). Effects of genotype and environment on the contents of betaine, choline, and trigonelline in cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60, 5471–5481.
- Craig S.A. (2004). Betaine in human nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 539–549.
- Croft, K.D. (1999). Antioxidant Effects of Plant Phenolic Compounds, Antioxidants in Human Health, Basu, T. K., Temple, N. J., Garg, M. L. (Eds.), CAB International.
- Daničić, V. (2002). Vitaminologija, Tarifa, Beograd
- De Zwart F.J., Slow S., Payne R.J., Lever M., George P.M., Gerrard J.A., Chambers S.T. (2003). Glycine betaine and glycine betaine analogues in common foods. *Food Chemistry*, 83, 197–204.
- Decker, E.A. (1995). The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. *Nutrition Reviews* 53, 49–58.
- Delgrado-Vargas F., Jimenez A.R., Lopez O.P. (2000). Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins and betalains characteristics, biosynthesis processing and stability, *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 40, 3, 173–289.
- Dillard, C.J., German, J.B. (2000). Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *Journal of the Science the Food and Agriculture*, 80, 1744–1756.
- Diplock A.T., Aggot P.J., Ashwel M. (1999). Scientific concept of functional foods in Europe, Consensus document, *Br J Nutr* 81, 1–27
- Diplock, A. T., J. L. Charleaux. (1998). Functional Food Science and Defence Against ROS, *Nutr.* 80.
- Dundar, A.N. (2021). Total phenolic and antioxidant bioaccessibilities of cookies enriched with bee pollen. *J. Food Process. Preserv.* 46(6).
- Dvořáková, M., Guido, L.F., Dostálek, P., Skulilová, Z., Moreira, M.M., Barros, A.A. (2008). Antioxidant Properties of Free, Soluble Ester and Insoluble-Bound Phenolic Compounds in Different Barley Varieties and Corresponding Malts. *J. Inst. Brew.* 114, 27–33.
- EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), 2015. Scientific Opinion on acrylamide in food. EFSA Journal (2015) 13(6), 4104, 321 pp.
- Elkhalifa, A. E. O., Schiffler, B., Bernhardt, R. (2005). Effect of fermentation on the functional properties of sorghum flour. *Food Chemistry*, 92(1), 1–5.

- Faridah, A., Holinesti, R., Syukri, D. (2015). Betalains from Red Pitaya Peel (*Hylocereus polyrhizus*): Extraction, Spectrophotometric and HPLC-DAD Identification, Bioactivity and Toxicity Screening. *Pak. J. Nutr.* 14, 976–982.
- Faridi, H., Faubion, J. M. (2012). Dough rheology and baked product texture. *Springer Science Business Media*.
- Filipčev B., Kojić J., Krulj J., Bodroža-Solarov M., Ilić N. (2018). Betaine in cereal grains and grain-based products. *Foods*.
- Filipčev B., Šimurina O., Brkljača J., Krulj J., Bodroža-Solarov M., Popov S. (2016). Nutritional quality and baking performance of bread enriched with betaine. In roceedings of the 11th Symposium „Novel Technologies and Economic Development”, Leskovac, Serbia, 23–24. October 2015; Lazić M. (Ed.); Faculty of Technology in Leskovac, University of Niš, Leskovac, Serbia; 83–88.
- Fleuriet, A., Uhel, C., Dedaldechamp, F. (1996). Phenolic compounds and the quality of plant-derived products for human consumption. *Acta Botanica Gallica*, 143, 493–500.
- Flipcev, B., Šimurina, O., Dapcevic-Hadnađev, T., Jevtić-Mucibabic, R., Filipović, V., Loncar, B. (2015). Effect of liquid (native) and dry molasses originating from sugar beet on physical and textural properties of gluten-free biscuit and biscuit dough. *J. Texture Stud.*
- Foodstuffs (2017). Determination of acrylamide in food and coffee by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), FINAL DRAFT FprCEN/TS 17083.
- Fustier P., Castaigne F., Turgeon S.L., Biliaderis C.G. (2009). Impact of endogenous constituents from different milling streams on dough rheology and semi-sweet biscuit making potential by partial substitution of a commercial soft wheat flour. *LWT-Food Science and Technology*. vol. 42, no. 1, pp. 363–371.
- Gavrilović, M. (2003). Tehnologija konditorskih proizvoda. Tehnološki fakultet, Novi Sad
- Georgiev, V., Weber, J., Kneschke, E.M., Denev, P. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit dark red. *Plant. Foods Hum. Nutr.* 65(2), 105–111.
- Górecka, D., Pachołek, B., Dziedzic, K., Górecka, M. (2010). Raspberry pomace as a potential fiber source for cookies enrichment. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 9(4), 451–461.
- Gorjanović, S., Micić D., Pastor, F., Tosti, T., Kalušević, A., Ristić, S., Zlatanović, S. (2020). Evaluation of Apple Pomace Flour Obtained Industrially by Dehydration as a Source of Biomolecules with Antioxidant, Antidiabetic and Antiobesity Effects. *Antioxidants*. 9(5), 413.
- Gry, J., Black, L., Eriksen, F.D., Pilegaard, K., Plumb, J., Rhodes, M. (2007). EuroFIR-BASIS-a combined composition and biological activity database for bioactivecompounds in plant-based foods. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 434–444.
- Hager, A.S., Wolter, A.; Jacob, F., Zannini, E., Arendt, E.K. (2012). Nutritional properties and ultrastructure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *J. Cereal Sci.* 56, 239–247
- Halliwell, B. (1994a). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. *The Lancet*, 344, 721–724.
- Halliwell, B. (1994b). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, 52, 253–265.
- Halliwell, B., Cross, C.E. (1994c). Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Enviromental Health Perspectives, Supplements*, 10, 5–12.
- Harborne, J.B. (1989). Flavonoids. In *Natural Products of Woody Plants I*; Rowe, J.W. Ed.; Springer-Verlag, Berlin, Germany, 533–556.
- Harborne, J.B., Williams, C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481–504.
- Havsteen, B. (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacology*, 32, 1141–1148.

- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., Carle, R. (2004). Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris L.*) preparations. *Journal of Food Science*. 69, C491–C498.
- Ho, C.T. (1992). Phenolic compounds in food: an overwiev. In Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I: Analysis, Occurrence and Chemistry; Ho, C.- T., Lee, C.Y., Huang, M.-T. Eds.; *American Chemical Society*, Washington, DC, 2–7.
- <http://www.fineli.fi/>
- <https://foodstruct.com/food/beetroot>
- <https://glycemic-index.net/beetroot-fresh/>
- <https://sr.wikipedia.org/wiki/cvekla>
- Hurtta, M., Pitkänen, I., Knuutinen, J. (2004). Melting behaviour of D-sucrose, Dglucose and D-fructose. *Carbohydrate Research*, 339(13), 2267–2273.
- Ilić, Z., Fallik, E., Dardić, M. (2009). Berba, sortiranje, pakovanje i čuvanje povrća.
- Ilić, Z., Fallik, E., Đurovka, M., Martinovski, Đ., Trajković, R. (2007). Fiziologija i tehnologija čuvanja povrća i voća.
- Imelouane B., Tahri M., Elbastrioui M., Aouinti F., Elbachiri A. (2011). Mineral contents of some medicinal and aromatic plants growing in eastern Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*. (2), 104–111.
- ISO 8586:2012
- Ju, H., Kin, C., Zhang, P., Ge, K., Vu, M., Vu, J., Vang, M., Vang, Z. (2015). Antioxidant effect of apple phenolic on lipid peroxidation in Chinese-style sausage. *J. Food Sci. Technol.* 52(2), 1032–1039.
- Iwashina, T. (2000). The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*, 113, 287–299.
- Jaćimović, S., Popović-Đordjević, J., Sarić, B., Krstić, A., Mickovski-Stefanović, V., Pantelić, N. (2022). Antioxidant Activity and Multi-Elemental Analysis of Dark Chocolate. *Foods*. 11, 1445.
- Jackman, R.L., Smith, J.L. (1996). Anthocyanins and betalains. *Natural Food Colorants*, 2nd ed., Hendry, G.F. and Houghton J., D., Eds., Blackie, London, 245.
- Janiszewska-Turak, E., Tracz, K., 1, Bielińska, P., 1, Rybak, K., Pobiega, K., Gniewosz, M., Woźniak, L., Gramza-Michałowska, A. (2022). The Impact of the Fermentation Method on the Pigment Content in Pickled Beetroot and Red Bell Pepper Juices and Freeze-Dried Powders. *Appl. Sci.* 12(12), 5766
- Jenkins, D.J., Kendall, C.W., Marchie, A., Faulkner, D.A., Wong, J.M., De Souza, R., Connelly, P.W. (2003). Effects of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods vs lovastatin on serum lipids and creactive protein. *JAMA*. 290, 502–510.
- Ju, H., Ho Lee, J. (2021). Quality and antioxidant properties of wheat cookies supplemented with maqui berry powder. *J. Korean J. Food Preserv.* 28(4), 480–488.
- Kanner J., Harel S., Granit R. (2001). Betalains – a new class of dietary cationized antioxidants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 11, 5178–5185.
- Kapsak, W. R., Rahavi, E. B., Childs, N. M., White, C. (2011). Functional foods: consumer attitudes, perceptions, and behaviors in a growing market. *Journal of the American Dietetic Association*, 111(6), 806.
- Kavalcova, P., Bystricka, J., Tomas, J., Karovicova, J., Kovarovic, J., Lenkova, M. (2015). The content of total polyphenol and antioxidant activity in red beetroot. *J. Food Sci. Technol.* 9, 77–83.
- Kayın, N.; Atalay, D.; Akcay, T.T.; Erge, H.S. (2019). Color stability and change in bioactive compounds of red beet juice concentrate stored at different temperatures, *J. Food Sci. Technol.* 56(11), 5097–5106.
- Kerckhoffs, D. A., Hornstra, G., Mensink, R. P. (2003). Cholesterol-lowering effect of β-glucan from oat bran in mildly hypercholesterolemic subjects may decrease when βglucan is incorporated into bread and cookies. *The American journal of clinical nutrition*, 78(2), 221–227.

- Kettunen H., Peuranen S., Tiihonen K., Saarinen M. (2001). Intestinal uptake of betaine in vitro and the distribution of methyl groups from betaine, choline, and methionine in the body of broiler chicks. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 128, 269–278.
- Kohajdova, Z., Karovicova. J., Magala, M., Laukova, M. (2018). Utilisation of beetroot powder for bakery applications. *Chem.Paper.* 72, 1507–1515.
- Kojić J. (2018). Optimizacija procesa ekstrudiranja spalte za kreiranje funkcionalnih proizvoda sa dodatkom betaina, Doktorska disertacija. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija
- Kojić, J., Krulj, J., Ilić, N., Pezo, L., Mandić, A., Bodroža Solarov, M. (2017). Analysis of betaine levels in cereals, pseudocereals and their products, *Journal of Functional Foods* 37 157–163.
- Kotilainen, L., Rajalahti, R., Ragasa, C., Pehu, E. (2006). Health enhancing foods: Opportunities for strengthening the sector in developing countries. *Agriculture and Rural Development Discussion Paper 30*.
- Kovačević, D., Bjelaković, G., Đorđević, J., Nikolić, J., Pavlović D. (2006). Biohemija, Savremena administracija, Beograd.
- Kristýna Št'astná, Sumczynski, D., Yalcin, E., (2021). Nutritional Composition, In Vitro Antioxidant Activity and Phenolic Profile of Shortcrust Cookies Supplemented by Edible Flowers, *Foods*. 10, 2531.
- Kujala, T.S., Loponen, J.M., Pihlaja, K. (2001). Betalains and Phenolics in Red Beetroot (*Beta vulgaris*) Peel Extracts: Extraction and Characterization. *Z. Naturforsch. C J. Biosci.* 56, 343–348.
- L.Van de Berg, E.A. Rooke, (1981). Performance of Jacketed Vegetable Storages, *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 14(3), 171
- Larrauri, J. A. (1999). New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. *Trends in Food Science Technology*, 10(1), 3–8
- Lazic, B., Djurovka, M., Markovic, V., Ilin, Z. (1998). Povrtarstvo. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet.
- Leal, G. F., Ramos, L. A., Barrett, D. H., Curvelo, A. A. S., Rodella, C. B. (2015). A thermogravimetric analysis (TGA) method to determine the catalytic conversion of cellulose from carbon-supported hydrogenolysis process. *Thermochimica Acta*, 616, 9–13.
- Lee, S. C.; Prosky, L.; DeVries, J.W. (1992). Determination of total, soluble, and insoluble, dietary fiber in foods – enzymatic gravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 75, 395–416.
- Lever, M., Slow, S. (2010): The clinical significance of betaine, an osmolyte with a key role in methyl group metabolism. *Clinical Biochem.* 43(9), 732–744.
- Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S. Stockley, C., Restani, P. (2021). Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability. *Nutrients*. 13(1), 273.
- Lucky, A.R., Al-Mamun, A., Hosen, A., Toma, M.A. and Mazumder, M.A.R., (2020). Nutritional and sensory quality assessment of plain cake enriched with beetroot powder. *Food Research.* 4 (6), 2049–2053.
- Mabry, T.J., Dreiding A.S. (1968). The betalains. In: Mabry TJ, Alstom RE, Runeckles VC (eds) *Recent Advances in Phytochemistry*. Appleton-Century-Crofts, NY.
- Macheix, J., Fleuriet, J., Billot, A. (1990). *Journal of Fruit Phenolics*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Manley D. (2001). Technology of biscuits, crackers and cookies, 3th ed, *Woodhead Publishing*, UK.
- Marak, N., Malemnganbi, C.C., Marak, C.R., Mishra, L.K. (2019). Functional and antioxidant properties of cookies incorporated with foxtail millet and ginger powder. *J. Food Sci. Technol.* 56(11), 5087–5096.
- Markham, K.R. Techniques of flavonoid identification. Academic Press, New York, 1–14, 1982.

- Marques, A., D'auria, L., Cani, P.D., Baccelli, C., Rozenberg, R., Ruibal-Mendieta, N., Petitjean, G., Delacroix, D.L., Quetin-Leclercq, J., Habib-Jiwan, J.L., Meurens, M., Delzenne, N.M. (2007). Comparison of glycemic index of spelt and wheat bread in human volunteers. *Food Chemistry*. 100, 1265–1271.
- Marriott, N.G., Schilling, M.W., Gravani, R.B. (2018). In Principles of Food Sanitation, 6th ed.; Springer: 6630 Cham, Switzerland. pp. 437.
- Miguel, M.G. (2018). Betalains in some species of the Amaranthaceae Family. *Antioxidants*. 7(4), 53.
- Mihaljev Z., Živkov-Baloš M., Cupic Z., Jakšić S. (2014). Levels of some microelements and essential heavy metals in herbal teas in Serbia. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 71(3), 385–391.
- Mihaljev, Ž., Čupić, Ž., Živkov-Baloš, M., Jakšić, S. (2015). Nivoi makroelemenata i toksičnih elemenata u biljnim čajevima. *Hem. Ind.* 69 (2) 143–153.
- Mildner-Szkudlarz, S., Bajerska, J., Zawirska-Wojtasiak, R., Górecka, D. (2013). White grape pomace as a source of dietary fibre and polyphenols and its effect on physical and nutraceutical characteristics of wheat biscuits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 389–395.
- Mišan, A., Šariš, B., Nedeljkoviš, N., Pestoriš, M., Jovanov, P., Pojiš, M., Mandiš, A. (2014). Gluten-free cookies enriched with blueberry pomace: Optimization of baking process. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 8(4), 340–343.
- Mitrevski, J., Pantelić, N., Dodevska, M., Kojić, J., Vulić, J., Zlatanović, S., Gorjanović, S., Laličić, J., Marjanović S., Antić, V. (2023). Effect of Beetroot Powder Incorporation on Functional Properties and Shelf Life of Biscuits. *Foods*. 12(2), 322.
- Mohammad A. (2017). Antimicrobial agents, *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*, (4), Issue 3
- Mora, Y.N., Contreras, J.C., Aguilar, C.N., Meléndez, P., Dela Garya, H., Rodríguez, R. (2013) Chemical composition and functional properties form different sources of dietary fiber. *Am J Food Nutr.* 1, 27–33.
- Murlidhar Ingle, S.S., Thorat, P.M., Kotecha., C.A. Nimbalkar (2017). Nutritional assessment of beetroot (*Beta vulgaris L.*) powder cookies, *Asian J. Dairy & Food Res*, 36(3), 222–228.
- Naim, M., Zehavi, U., Nagy, S., Rouseff, R.L. (1992). Hydroxycinnamic acids as off-flavor precursors in citrus fruits and their products. In Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I: Analysis, Occurrence and Chemistry; Ho, C.-T., Lee, C.Y., Huang, M.-T. Eds.; American Chemical Society, Washington, DC, 180–191.
- Najjar, Z., Kizhakkayil, J., Shakoor, H., Platat, C., Stathopoulos, C., Ranasinghe, M. (2022). Antioxidant Potential of Cookies Formulated with Date Seed Powder. *Foods*. 11, 448.
- Nandeesh, K., Jyotsna, R., Venkateswara, R.G. (2011). Effect of differently treated wheat bran on rheology, microstructure and quality characteristics of soft dough biscuits. *Journal of Food Processing and Preservation*. 35 (2), 179–200.
- Nasir, M., Siddiq, M., Ravi, R., Harte, J. B., Dolan, K. D., Butt, M. S. (2010). Physical quality characteristics and sensory evaluation of cookies made with added defatted maize germ flour. *Journal of Food Quality*, 33(1), 72–84.
- Nazni, P. Thara, D. (2011). Optimization of beetroot peel osmotic dehydration process using response surface methodology. *Int. J. Curr. Res.* 3(8), 027–032.
- Nilsson, T. (1970). Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris L. ssp. vulgaris var. rubra L.*), *Lanthbruksog, Annual*, 36, 179–219.
- Noguchi, A., Cheftel, J. C. (1983). Extrusion-cooking of protein-enriched cookies. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 30(2), 114–124.
- Novaković, B., Torović, Lj. (2014). Bromatologija Nutritivna vrednost i bezbednost hrane. Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet

- Nurminah, M., Sinaga, H., Sahrina Gultomm, N. (2019). The effect of the additional of Moringa leaves flour (*Moringa oleifera*) on the physicochemical properties of cup cake from composite flour. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 305, 012–031.
- O'Brien CM., Chapmen D., Neville D.P., Keogh M.K., Arendt E.K. (2003). Effect of varying the microencapsulation process on the functionality of hydrogenated vegetable fat in short dough biscuits. *Food Res Int.* 36, 215–221.
- Olthof, M., Vliet van, T., Boelsma, E., Verhoef, P. (2003): Low dose betaine supplementation leads to immediate and long term lowering of plasma homocysteine in healthy men and women. *J. Nutr.* 133, 4135–4138.
- Pajin, B. (2009). Praktikum iz tehnologije konditorskih proizvoda. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Panche, N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: an overview. *J.Nutr.Sci.* 5.
- Pap, N., Fidelis, M., Azevedo, L., Araújo, M., Carmo, V., Wang, D., Mocan, A., Penha, E., Pereira, R., Xavier-Santos, D., SSant'Ana, A., Yang, B., Granato, D. (2021). Berry polyphenols and human health: evidence of antioxidant, anti-inflammatory, microbiota modulation, and cell-protecting effects. *Curr. Opin. Food Sci.* 42, 167–186.
- Park, J., Choi, I., Kim, Y. (2015). Cookies formulated from fresh okara using starch, soy flour and hydroxypropyl methylcellulose have high quality and nutritional value. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 660–666.
- Parr, A.J., Bolwell, G.P. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 80, 985–1012.
- Pasch, J.H., von Elbe, J.H. (1979). Betanine stability in buffered solutions containing organic acids, metal cations, antioxidants, or sequestrants. *Journal of Food Science*, 44, 72–74.
- Pasricha, S.R., Tye-Din, J., Muckenthaler, M., Swinkels, D. (2021). Iron deficiency, *Lancet*, 16, 397(10270),233–248.
- Pedreno, M.A. and Escribano, J. (2001). Correlation between Antiradical Activity and Stability of Betanine from Beta vulgaris L. Roots under Different pH, Temperature and Light Conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 627–631.
- Pejin, J. D., Radosavljević, M. S., Gruijić, O. S., Mojović, L. V., Kocić-Tanackov, S. D., Nikolić, S. B., Đukić-Vuković, A. P. (2013). Possible application of brewer's spent grain in biotechnology. *Association of Chemical Engineers of Serbia*, 67(2), 277–291.
- Petek, M., Toth, N., Pecina, M., Karazija, T., Lazarević, B., Palčić, I. (2019). Beetroot mineral composition affected by mineral and organic fertilization. *PLoS One.* 14(9).
- Petrović J. (2018). Valorizacija nutritivnog profila keksa proizvedenog sa dodatkom sporednih proizvoda prehrambene industrije. doktorska disertacija. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, Srbija.
- Piattelli, M.(1981). The Biochemistry of Plants. In Stumpf, P.K., Conn, E.E. (Eds.), The betalains: structure, biosynthesis, and chemical taxonomy, 557–575, New York: Academic Press.
- Piazza, L., Masi, P. (1997). Development of crispness in cookies during baking in an industrial oven. *Cereal Chemistry.* 74, 135–140.
- Pinki and Pratima Awasthi (2014). Sensory and nutritional evaluation of value added cakes formulated by incorporating beetroot powder. *International Journal of Food and Nutritional Sciences.* 3(6),145–148.
- Pinki, P.A. (2014). Sensory and nutritional evaluation of value added cakes formulated by incorporating beetroot powder. *Int. J. Food Sci Nutr.* 3(60), 145–148.
- Pirjo Mattila, Jarkko Hellström. (2006). Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products, *Journal of Food Composition and Analysis* 20, pp. 152–160.
- Pitalua, E., Jimenez, M., Vernon-Carter, E.J., Beristain, C.I. (2010). Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. *Food Bioprod. Process.* 88(C2-3), 253–258.

Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za fine pekarske proizvode, žita za doručak i snek proizvode, Službeni list SCG, 12/2005 i Službeni glasnik RS, 43/2013 i 68/2016.

Pravilnik o maksimalnim koncentracijama određenih kontaminenata u hrani Zakona o bezbednosti hrane (Službeni glasnik RS, br. 41/09 i 17/19), Ministar poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, uz saglasnost ministra zdravlja.

Pravilnik o opštim i posebnim usovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa (Sl. glasnik RS br. 72/10, 62/18).

Purlis, E.; Salvadori, V.O. (2007). Bread browning kinetics during baking. *J. Food Eng.* 80, 1107–1115.

Rana, S., Gupta, S., Rana, A., Bhushan, S. (2015). Functional properties, phenolic constituents and antioxidant potential of industrial apple pomace for utilization as active food ingredient. *Food Science and Human Wellness*, 4(4), 180–187.

Robards, K., Antolovich, M. (1997). Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. *Analyst*, 122, 11R–34R.

Robards, K., Prenzel, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits, *Food Chem.* 66, 401–436.

Robertson, J. A., Monredon, F. D. d., Dysseler, P., Guillou, F., Amadò, R., Thibault, J.-F. (2000). Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: A European collaborative study. *LWT - Food Science and Technology*, 33(2), 72–79.

Rodriguez, N. R., DiMarco, N. M., Langley, S. (2009). Position of the American dietetic association, dietitians of Canada, and the American college of sports medicine: nutrition and athletic performance. *Journal of the American Dietetic Association*, 109(3), 509–527.

Roos, Y. H. (2003). Thermal analysis, state transitions and food quality. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 71(1), 197–203.

Roos, Yrjö H., Karel, M. (1991). Plasticizing Effect of Water on Thermal Behavior and Crystallization of Amorphous Food Models. *Journal of Food Science*, 56(1), 38–43.

Ross A.B., Zanger A., Guiraud S.P. (2014). Cereal foods are the major source of betaine in the Western diet—analysis of betaine and free choline in cereal foods and updated assessments of betaine intake. *Food Chemistry*, 145, 859–865.

Sahni, P., Shere, D.M. (2016). Physico-chemical and Sensory Characteristics of Beet Root Pomace Powder Incorporated Fibre Rich Cookies, *Intl. J. Food. Ferment. Technol.* 6(2), 309–315.

Schuchardt, J.P., Wonik, J., Bindrich, U., Heinemann, M., Kohrs, H., Schneider, I., Möller, K., Hahn, A. (2016). Glycemic index and microstructure analysis of a newly developed fiber enriched cookie, *Food Funct.* 7, 464

Schwahn B.C., Hafner D., Hohlfeld T., Balkenhol N., Laryea M.D., Wendel U. (2003). Pharmacokinetics of oral betaine in healthy subjects and patients with homocystinuria. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 55, 6–13.

Sepúlveda-Jiménez, G., Rueda-Benítez, P., Porta, H., Rocha-Sosa, M. (2004). Betacyanin synthesis in red beet (*Beta vulgaris*) leaves induced by wounding and bacterial infiltration is preceded by an oxidative burst. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 64, 125–133.

Seshadri S., Beiser A., Selhub J., Jacques P. F., Rosenberg I. H., D'Agostino R. B., Wilson P. W. F., Wolf P. A. (2002). Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine*, 346, 476–483.

Shafi, A., Ahmad, F., Mohammed, Z.H. (2022). Effect of the Addition of Banana Peel Flour on the Shelf Life and Antioxidant Properties of Cookies. *ACS Food Sci. Technol.* 2(8) 1355–1363.

Shahidi, F., Naczk, M. (1995). Food phenolics: an overview, *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications*, Technomic Publishing Co, Pennsylvania, USA, 1–4.

Shaoying Gong, Chaoqin Jiao, Ling Guo. (2022). Antibacterial mechanism of beetroot (*Beta vulgaris*) extract against *Listeria monocytogenes* through apoptosis-like death and its application in cooked pork, *Science Direkt*, volume 165.

- Singh, J., Singh, N., Sharma, T. R., Saxena, S. K. (2003). Physicochemical, rheological and cooking properties of corn and potato flours. *Food chemistry*, 83(3), 387–393.
- Singh, P., Singh, R., Jha, A., corresponding author Rasane, P., Gautam, A. (2015). Optimization of a process for high fibre and high protein biscuit. *J Food Sci Technol.* 52(3), 1394–1403.
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., Sochor, A. (2015). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *Int. J. Mol. Sci.* 16(10), 24673–24706.
- Sloan, A.E. (2000). The top ten functional food trends. *Food Technology*, 54, 33–62.
- Sloan, A.E. (2004). The top ten functional food trends. *Food Technology*, 58, 28–51.
- Slow S., Donaggio M., Cressey P.J., Lever M., George P.M., Chambers S.T. (2005). The betaine content of New Zealand foods and estimated intake in the New Zealand diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 473–485.
- Socaciu C., (2007). Food colorants, *Chemical and functional properties*.
- Spence, J.T. (2006). Challenges related to the composition of functional foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 4–6.
- Steglich, W., Strack, D. (1990). Betalains In: Brossi A. (Ed.), *The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology*, 39, 1–62.
- Stojanović, D., Stanković, A., Nikolić, M., Rađen, S., Radaković, S., Milošević, Z., Jovanović, J. (2012). Higijena sa medicinskom ekologijom. Niš: Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet.
- Strack, D. (1997). Phenolic metabolism, U: *Plant Biochemistry*, Dey, P.M., Harborne, J.B. (Eds.), Academic Press, New York, 387–437.
- Strube, M., Dragsted, L.O., Larsen, J.C. (Eds.) (1992). Naturally occurring antimourigens I. Plant phenols. *The Nordic Council of Ministers*, Copenhagen, 25–42.
- Štrunc. U., Jop, A. (2008). Minerali. Beograd: Omladinska knjiga.
- Sudha M.L., Srivastava A.K., Vetrimani R., Leelavathi K. (2007). Fat replacement in soft dough biscuits: its implications on dough rheology and biscuit quality. *J Food Eng.* 80, 922–930.
- Tesoriere L., Butera D., Allegra M., Fazzari M., Livrera M.A. (2005). Distribution of Betalain Pigments in Red Blood Cells after Consumption of Cactus Pear Fruits and Increased Resistance of the Cells to ex Vivo Induced Oxidative Hemolysis in Humans, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1266–1270.
- Tesoriere, L., Butera, D., D'Arpa, D., Di Gaudio, F., Allegra, M., Gentile C., Livrea, M. A. (2003). Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low density lipoproteins, *Free Radical Research*, 37, 689–696.
- Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A. M., Allegra, M., Livrea, M. A. (2004). Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruits decreases oxidative stress in healthy humans. A comparative study with vitamin C. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 391–395.
- Tumbas-Šaponjac, V., Ćetković, G., Čanadanoviš-Brunet, J., Pajin, B., Đilas, S., Petrović, J., Lončarević, I., Vulić, J. (2016). Sour cherry pomace extract encapsulated in whey and soy proteins: Incorporation in cookies. *Food Chem.* 207:27–33.
- Tuzen, M. (2003). Determination of heavy metals in soil, mushroom and plant samples by atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*. (74), 289–297.
- Tytti S. Kujala, Jyrki M. Loponen, Karel D. Klika, Kalevi Pihlaja (2000). Phenolics and Betacyanins in Red Beetroot (*Beta vulgaris*) Root: Distribution and Effect of Cold Storage on the Content of Total Phenolics and Three Individual Compounds, *J. Agric. Food Chem.*, 48 (11), pp 5338–5342.
- Uthira, L., Laxmi, U.K. (2009). Value addition in biscuits using whey protein concentrate (WPC). *Ind. J. Nutr. Dietet.* 46, 14–18.
- Uysal, H., Bilgiçli, N., Elgün, A., İbanoğlu, Ş., Herken, E. N., Demir, M. K. (2007). Effect of dietary fibre and xylanase enzyme addition on the selected properties of wire-cut cookies. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1074–1078.

- Vergara-Valencia, N., Granados-Pérez, E., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., Ruales, J., Bello-Pérez, L. A. (2007). Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *LWT Food Science and Technology*, 40(4), 722–729.
- Villemejane, C., Wahl, R., Aymard, P., Denis, S., Michon, C. (2015). In vitro digestion of short-dough biscuits enriched in proteins and/or fibres, using a multi-compartmental and dynamic system (1): Viscosity measurement and prediction. *Food Chemistry*, 182, 55–63.
- Vitali, D., Dragojević, V. I., Šebečić, B. (2009.). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 114, 1462–1469.
- Vogt, T., Ibdah, M., Schmidt, J., Wray, V., Nimtz, M., Strak, D. (1999). Light-induced betacyanin and flavonol accumulation in bladder cells of *Mesembryanthemum crystallinum*. *Phytochemistry*, 52, 583–592.
- Von Elbe, J.H. (2003). Betalains. *Curr. Protoc. Food Anal. Chem.* 00(1), F3.1.1–F3.1.7.
- Vračar, Lj. (2001). Priručnik za kontrolu kvaliteta svežeg i prerađenog voća, povrća, pečurki i bezalkoholnih pića, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Vulić J. (2012). Funkcionalne i antioksidativne osobine tropa cvekla (*Beta vulgaris*). Doktorska disertacija. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, Srbija.
- Vulić, J. (2010). Sastav cvekla, Tehnologija hrane
- Wang, H. J., Thomas, R. L. (1989). Direct use of apple pomace in bakery products. *Journal of Food Science*, 54(3), 618–620.
- Wang, Y., Truong, T. (2016). Glass Transition and Crystallization in Foods. In Non-Equilibrium States and Glass Transitions in Foods. *Processing Effects and Product-Specific Implications*, pp. 153–172.
- Waterman, P.G., Mole, S. (1994). (Eds.) Analysis of phenolic plant metabolites. *Blackwell Scientific Publications*, Oxford.
- Weickert, M.O., Pfeiffer, A.F. (2018). Impact of Dietary Fiber Consumption on Insulin Resistance and the Prevention of Type 2 Diabetes. *J. Nutr.* 148, 7–12.
- Wilken D.E., Wilken B., Dudman N.P., Tyrell P.A. (1983). Homocystenuria-The effects of betaine in the treatment of patients not responsive to pyridoxine. *New England Journal of Medicine*, 309, 448–453.
- Winter, M., Herrmann, K. (1986). Esters and glucosides of hydroxycinnamic acids in vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, 616–620.
- Yancey P.H., Clark M.E, Hand S.C., Bowlus R.D., Somero G.N. (1982). Living with stress: evolution of osmolyte systems. *Science*, 217, 1214–1222.
- Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D. H., Zheng, C. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*. 86(12–13), 1781–1788.
- Yeng, L. C., Wahit, M. U., Othman, N. (2015). Thermal and flexural properties of regenerated cellulose(RC)/poly(3- hydroxybutyrate)(PHB)biocomposites. *Jurnal Tehnologi*, 75(11), 107–112.
- Zeisel, S. H., Mar, M. H., Howe, J. C., Holden, J. M. (2003). Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. *The Journal of Nutrition*, 133, 1302–1307.
- Zhang M., Zhang H., Li H., Lai F., Li X., Tang Y., Min T., Wu H. (2016). Antioxidant mechanism of betaine without free radical scavenging ability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 7921–7930.
- Zinp, M., Borda, F., Marki, E., Banvolgyi, S. (2021). Betalains, total polyphenols, and antioxidant contents in red beetroot peel (Cylindra type). *Prog. Agric. Eng. Sci.* 16, 27–36.
- Zlatanović, S. (2019). Termalna, hemijska i funkcionalna svojstva tropa od jabuke i mogućnosti primene u prehrabrenoj industriji, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
- Zucco, F., Borsuk, Y., Arntfield, S. D. (2011). Physical and nutritional evaluation of wheat cookies supplemented with pulse flours of different particle sizes. *LWT-Food Science and Technology*, 44(10), 2070–2076.

BIOGRAFIJA

Jasmina Mitrevski je rođena 22. 10. 1980. godine u Pančevu, gde je završila osnovnu i srednju školu sa odličnim uspehom. Poljoprivredni fakultet u Beogradu upisala je 1999/2000. godine, a završila u maju 2005. godine. Odmah nakon završetka osnovnih studija, na istom fakultetu upisala je magistarske studije iz oblasti prehrambene tehnologije.

U avgustu 2005. godine osniva svoju firmu koja se bavi prodajom zdrave hrane, a sada i veoma uspešno proizvodnjom i distribucijom zdrave hrane.

Doktorske studije je upisala na Poljoprivrednom fakultetu u Beogradu 2013. godine iz oblasti prehrambene tehnologije.

Od oktobra 2015. godine, angažovana je kao savetnik za dijetetski suplement u američkoj kompaniji *New Age* i redovno je pohađala i uspešno završavala sve seminare i kurseve iz oblasti alternativne medicine. U istoj kompaniji, u oktobru 2019. godine, diplomirala je na New Age univerzitetu, koji je pohađala u *Salt Lake Cityju*.

Jasmina je udata i ima dva sina.

Prilog 1.

Spisak saopštenih i objavljenih naučnih radova

M21- Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu

1. Mitrevski, J., Pantelic, N.Đ., Dodevska, M.S., Kojic, J.S., Vulic, J.J., Zlatanovic, S., Gorjanovic, S., Lalicic-Petronijevic, J., Marjanovic, S., Antic, V.V.: "Effect of Beetroot Powder Incorporation on Functional Properties and Shelf Life of Biscuits", Foods (2023) 12, 322.

M34 – Saopštenja sa međunarodnog skupa štampana u izvodu

1. J. Mitrevski, D. Dj. Savić, D. N. Savić, N. Pantelić, M. Balaban, J. Laličić-Petronijević, V. Antić: "Acrylamide content in cookies based on spelt flour and beetroot powder", 22nd European Meeting on Environmental Chemistry – EMEC22, 5-8 December 2022, Ljubljana, Slovenia, Book of Abstracts, pp. 131.

M64 – Saopštenja sa nacionalnog skupa štampana u izvodu

1. Jasmina Ž. Mitrevski, Nebojša Đ. Pantelić, Jelena J. Vulić, Jovana S. Kojić, Jovanka G. Laličić-Petronijević, Vesna V. Antić: "Improving the antioxidant properties of biscuits with the addition of beetroot powder", 58th Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, June 9-10, 2022, Book of Abstracts, pp. 175.
2. Jasmina Mitrevski, Nebojša Đ. Pantelić, Biljana Dojčinović, Vesna V. Antić: "The content of selected macro- and microelements in biscuits enriched with beetroot powder", 8th Conference of Young Chemists of Serbia, Belgrade, 29th October 2022, Book of Abstracts, pp. 25.

Prilog 2.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Jasmina Ž. Mitrevski

Broj indeksa 13/47

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom „***Uticaj dodatka cvekla na fizičko-hemijska i nutritivna svojstva čajnog peciva***“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, _____

Potpis autora

Prilog 3.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Jasmina Ž. Mitrevski

Broj indeksa 13/47

Studijski program Prehrambena tehnologija

Naslov rada „***Uticaj dodatka cvekla na fizičko-hemijska i nutritivna svojstva čajnog peciva***“

Mentor dr Vesna Antić

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, _____

Potpis autora _____

Prilog 4.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Uticaj dodatka cvekla na fizičko-hemijska i nutritivna svojstva čajnog peciva“,

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilozima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (*Creative Commons*) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci. Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

U Beogradu, _____

Potpis autora

- 1. Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
- 2. Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
- 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
- 4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
- 5. Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
- 6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.

