

Razvoj funkcionalnih konditorskih proizvoda obogaćenih inkapsuliranim biljnim ekstraktima

Vojvoda, Jelena

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:177251>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Jelena Vojvoda

6692/PT

RAZVOJ FUNKCIONALNIH KONDITORSKIH PROIZVODA
OBOGAĆENIH INKAPSULIRANIM BILJNIM
EKSTRAKTIMA
ZAVRŠNI RAD

Predmet: Kemija i tehnologija ugljikohidrata i konditorskih proizvoda

Mentor: prof. dr. sc. *Draženka Komes*

Zagreb, 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ugljikohidrata i konditorskih proizvoda
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

RAZVOJ FUNKCIONALNIH KONDITORSKIH PROIZVODA OBOGAĆENIH INKAPSULIRANIM BILJNIM EKSTRAKTIMA

Jelena Vojvoda, 0058203011

Sažetak: U posljednje vrijeme rogač (*Ceratonia siliqua* L.) se često koristi kao zamjena za kavu ili kakaov prah budući da u svom sastavu ne sadrži metilksantine kafein i teobromin. Cilj ovog rada bio je postupkom granuliranja u fluidiziranom sloju pripremiti praškaste mješavine namijenjene pripremi napitaka na bazi rogača, uz dodatak inkapsuliranog biljnog ekstrakta maslačka. Praškastim mješavinama određene su fizikalno-kemijske karakteristike, dok je napitcima na bazi rogača, pripremljenima s vodom i mlijekom, spektrofotometrijskim metodama ispitan bioaktivni profil (polifenolni spojevi i antioksidacijski kapacitet). Senzorska prihvatljivost napitaka na bazi rogača ocijenjena je kvantitativno-deskriptivnom metodom. Također, u radu je ispitan utjecaj postupka granuliranja i dodatka lecitina u praškaste mješavine na ispitivane parametre. Nakon provedenog granuliranja došlo je do formiranja čestica veličine veće od veličine polaznih čestica, dok je dodatak lecitina poboljšao svojstva tečenja, topljivosti i disperzibilnosti. Granuliranje u fluidiziranom sloju rezultirala je praškastim mješavinama svjetlije boje i slabe močivosti. Napitci na bazi rogača pripremljeni s mlijekom imali su niži udjel polifenolnih spojeva i antioksidacijski kapacitet u odnosu na iste pripremljene s vodom. Napitak na bazi rogača pripremljen s vodom i obogaćen inkapsuliranim ekstraktom maslačka, u odnosu na ostale uzorke, imao je veći udjel ukupnih polifenola (849,10 mg EGK/L), hidrokisicimetnih kiselina (178,74 mg KK/L), proantocijanidina (1231,67 mg epikatehina/L) i ukupnih tanina (35,00 mg TA/L). U usporedbi s negranuliranim uzorkom rogača, granulirani uzorci imali su niži udjel polifenolnih spojeva i antioksidacijski kapacitet. Svi uzorci imali su najviše izražen miris i okus po prženim žitaricama, a općenito najprihvatljivijim uzorkom za konzumaciju pokazao se uzorak negranuliranog rogača pripremljen s mlijekom.

Ključne riječi: *granuliranje u fluidiziranom sloju, inkapsulacija, napitci na bazi rogača, polifenoli, praškaste mješavine*

Rad sadrži: 55 stranica, 14 slika, 8 tablica, 86 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Draženka Komes

Pomoć pri izradi završnog rada: Arijana Bušić, mag.ing.

Datum obrane: rujan, 2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology
Department of Food Engineering
Laboratory for Technology of Carbohydrates and Confectionery Products
Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL CONFECTIONERY PRODUCTS ENRICHED WITH ENCAPSULATED HERBAL EXTRACTS

Jelena Vojvoda, 0058203011

Abstract: Using fluid-bed agglomeration, the aim of this study was to prepare dry mixtures intended for preparation of carob-based beverages, with addition of encapsulated dandelion extract. Recently carob (*Ceratonia siliqua* L.) is often used as a substitute for coffee or cocoa powder due to the absence of methylxanthines caffeine and theobromine in its composition. Dry mixtures were investigated for physico-chemical properties, while bioactive profile (polyphenols and antioxidant capacity) was investigated in carob-based beverages, prepared with water and milk, using spectrophotometric methods. Carob-based beverages were sensory evaluated using quantitative-descriptive method. Also, the impact of fluid-bed agglomeration and addition of lecithin was examined on evaluated parameters. After fluid-bed agglomeration, dry mixtures particles were enlarged in size, while the addition of lecithin improved the flow properties, solubility and dispersibility properties. Fluid-bed agglomeration resulted with dry mixtures lighter in colour and with poor wetting properties. Carob-based beverages prepared with milk had lower content of polyphenols and lower antioxidant capacity compared to those prepared with water. Carob-based beverage prepared with water and enriched with herbal extract had higher content of total polyphenols (849,10 mg GAE/L), hydroxycinnamic acid (178,74 mg CA/L), proanthocyanidins (1231,67 mg epicatechins/L) and tannins (35,00 mg TA/L) when compared to other samples. Samples prepared by agglomeration showed lower content of polyphenols and antioxidant capacity comparing to non-agglomerated sample. All carob-based beverages had taste of roasted cereals, while with highest overall acceptability was non-agglomerated carob sample prepared with milk evaluated.

Keywords: *carob-based beverages, dry mixtures, encapsulation, fluid-bed agglomeration, polyphenols*

Thesis contains: 55 pages, 14 figures, 8 tables, 86 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD Draženka Komes, Full Profesor

Technical support and assistance: Arijana Bušić, BSc

Defence date: September, 2017.

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. Funkcionalna hrana	3
2.2. Inkapsulacija	4
2.3. Aglomeracija.....	6
2.3.1. Granuliranje u fluidiziranom sloju	7
2.3.1.1. Granuliranje u fluidiziranom sloju gornjim raspršivanjem	8
2.4. Rogač (<i>Ceratonia siliqua</i> L.)	9
2.4.1. Kemijski sastav rogača	10
2.4.2. Primjena rogača.....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1. Materijal	12
3.1.1. Uzorci.....	12
3.1.2. Kemikalije	12
3.1.3. Pribor i aparatura	14
3.2. Priprema uzoraka	16
3.2.1. Priprema polifenolnog ekstrakta maslačka	16
3.2.2. Inkapsulacija polifenolnog ekstrakta maslačka	16
3.2.3. Granuliranje u fluidiziranom sloju	16
3.2.4. Priprema napitaka na bazi rogača za određivanje bioaktivnog profila	18
3.3. Određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika praškastih mješavina na bazi rogača.....	18
3.3.1. Veličina čestica	18
3.3.2. Udjel vode	18
3.3.3. Topljivost	19
3.3.4. Disperzibilnost	19
3.3.5. Nasipna gustoća	20
3.3.6. Indeks kohezije i sposobnost stvaranja kolača.....	21
3.3.7. Močivost	22
3.3.8. Parametri boje.....	22
3.4. Određivanje bioaktivnog profila napitaka na bazi rogača	23
3.4.1. Određivanje udjela ukupnih polifenola	23
3.4.2. Određivanje udjela ukupnih flavonoida i neflavonoida	24
3.4.3. Određivanje udjela hidroksicimetnih kiselina	25
3.4.4. Određivanje udjela flavan-3-ola metodom s vanilinom	25
3.4.5. Određivanje udjela proantocijanidina metodom Bate-Smith	26
3.4.6. Određivanje udjela ukupnih tanina	26
3.4.7. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom	27

3.4.8. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom	27
3.5. Senzorska analiza napitaka na bazi rogača.....	28
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	29
4.1. Određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika praškastih mješavina na bazi	30
rogača	30
4.1.1. Određivanje veličine čestica	30
4.1.2. Određivanje udjela vode, topljivosti i disperzibilnosti	31
4.1.3. Određivanje karakteristika tečenja prahova	32
4.1.4. Određivanje močivosti	34
4.1.5. Određivanje parametara boje	35
4.2. Određivanje bioaktivnog profila napitaka na bazi rogača	36
4.2.1. Određivanje udjela ukupnih polifenola, ukupnih flavonoida i neflavonoida	36
4.2.2. Određivanje udjela hidroksicimetnih kiselina	38
4.2.3. Određivanje udjela flavan-3-ola	39
4.2.4. Određivanje udjela proantocijanidina	40
4.2.5. Određivanje udjela tanina	41
4.2.6. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS i DPPH metodom	42
4.3. Senzorsko ocjenjivanje napitaka na bazi rogača pripremljenih s vodom i	43
mlijekom.....	43
5. ZAKLJUČCI	47
6. LITERATURA.....	48

1. UVOD

Podizanjem svijesti potrošača o pravilnom i zdravom načinu prehrane stvara se potreba za razvojem novih i obogaćenih prehrambenih proizvoda, zbog čega područje razvoja funkcionalne hrane svakodnevno raste. Također, zbog užurbanog načina života potrošači danas od proizvoda traže jednostavnost pripreme i bogat nutritivni sastav koji će imati blagotvorni učinak na mentalno i fizičko zdravlje. Jedan od načina obogaćivanja prehrambenih, ali i drugih proizvoda, je dodatak inkapsuliranih aktivnih sastojaka. Inkapsulacija se pokazala kao jednostavna i blaga metoda „pakiranja“ aktivne komponente unutar inertnog materijala s ciljem očuvanja aktivnog spoja od štetnih utjecaja okoline ili degradacije tijekom procesiranja hrane. Također, inkapsulacijom se osigurava stabilnost funkcionalnih komponenti te se sprječavaju neželjene interakcije s ostalim komponentama hrane (Nedovic i sur., 2011). Hrana se najčešće obogaćuje antioksidansima, vitaminima, mineralnim tvarima, ω -masnim kiselinama, probioticima i prebioticima te prehrambenim vlaknima (Langer i Peppas, 2003). Zbog brzog i jednostavnog načina pripreme, na tržištu su danas sve popularniji praškasti proizvodi, odnosno različiti instant čokoladni napitci, instant kave i instant čajevi koji se pripremaju različitim postupcima granuliranja. Budući da se ovi proizvodi konzumiraju na svakodnevnoj bazi, njihovim obogaćivanjem različitim funkcionalnim sastojcima unos bioaktivnih sastojaka na dnevnoj bazi mogao bi se značajno povećati.

Kao dobra zamjena kavi i kakaovom prahu nameće se rogač (*Ceratonia siliqua* L.), budući da u svom kemijskom sastavu ne sadrži metilksantine kafein i teobromin, kojima se u posljednje vrijeme često pripisuje negativan utjecaj na ljudski organizam jer povećavaju lučenje kiseline u želucu i izazivaju žgaravicu (Yousifi i Alghzawi, 2000; Pavić i sur., 2008). Osim toga, rogač ima bogat nutritivni i bioaktivni sastav zbog čega bi se mogao učestalije koristiti u razvoju različitih prehrambenih proizvoda. Prema pretraženoj literaturi, Srour i suradnici (2015) pripremili su mliječni napitak na bazi rogača koji je predstavljao zdraviju alternativu (manji udjel masti i šećera) učestalo konzumiranim mliječnim napitcima poput čokoladnog mlijeka, dok su primjerice Moreira i suradnici (2016) pripremili jogurt obogaćen vlaknima rogača, a Šebečić i suradnici (2007) prahom rogača obogatili su čajno pecivo. Međutim, napitci na bazi rogača, kao i ostali proizvodi na bazi rogača, još uvijek nisu dovoljno zastupljeni na tržištu, kao ni znanstvena istraživanja na tu tematiku. Također, potencijal rogača posebno bi se mogao iskoristiti na našem području, budući da Mediteran obiluje toplim i suhim područjima s osiromašenim tlima koja pogoduju rastu i razvoju rogača (Strikić i sur., 2007).

Cilj ovog rada je pripremiti praškaste mješavine namijenjene pripremi napitaka na bazi rogača, uz dodatak inkapsuliranog biljnog ekstrakta maslačka. Vodeni polifenolni ekstrakt maslačka inkapsulirat će se metodom ionskog geliranja u alginatne čestice s dodatkom kakaovog praha, te će se liofilizirane čestice u koncentraciji od 5 % dodati na polaznu masu rogača. Praškaste mješavine pripremit će se postupkom mokrog granuliranja u fluidiziranom sloju, uz dodatak otopine maltodekstrina kao veziva te emulgatora lecitina. Pripremljenim praškastim mješavinama na bazi rogača odredit će se fizikalno-kemijske karakteristike poput veličine čestica, udjela vode, topljivosti i disperzibilnosti, te će se ispitati karakteristike tečenja prahova, močivost i parametri boje. Napitci na bazi rogača u svrhu ispitivanja bioaktivnog profila pripremit će se s vodom i mlijekom, pri čemu će se spektrofotometrijskim metodama odrediti udjel ukupnih polifenola, flavonoida, neflavonoida, hidrosicimernih kiselina, flavan-3-ola, proantocijanidina i ukupnih tanina, kao i antioksidacijski kapacitet (ABTS i DPPH metode). Provest će se i senzorska analiza pripremljenih napitaka metodom kvantitativno-deskriptivne analize. Također, u radu će se ispitati utjecaj postupka granuliranja i dodatka lecitina u praškaste mješavine na ispitivane parametre.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Funkcionalna hrana

Razvojem društva mijenjaju se i prehrambene navike ljudi pa prehrambeni proizvodi danas nadilaze svoju osnovnu ulogu zadovoljavanja gladi. U suvremeno doba potrošači se sve više fokusiraju na proizvode koji imaju blagotvorni učinak na fizičko i mentalno zdravlje (Menrad, 2003; Roberfroid, 2000). Osluškujući želje potrošača i prateći trendove na tržištu, mnoge prehrambene industrije okreću se proizvodnji takozvane „funkcionalne hrane“. Funkcionalna hrana naziv je za skupinu proizvoda koji uz osnovnu nutritivnu vrijednost imaju i pozitivan utjecaj na opće zdravlje ljudi ili pomažu u smanjenju rizika od razvoja pojedinih bolesti (Markovina i sur., 2010). Efikasnost konzumiranja funkcionalne hrane leži u sadržaju bioaktivnih komponenti koje su ili prirodno prisutne ili određenim postupkom dodane u proizvod, a djeluju blagotvorno na ljudski organizam te poboljšavaju stabilnost proizvoda prilikom procesiranja, skladištenja i transporta (Chen i sur., 2006). Pojam funkcionalne hrane se prvi put javio 1980-ih u Japanu, no danas najdinamičnije tržište funkcionalnim proizvodima ima SAD, iza kojeg slijede Japan i Europa (Benkouider, 2004). Europsko tržište je heterogeno pa je i prihvaćanje te konzumiranje funkcionalnih proizvoda različito, ovisno o geografskom položaju stanovnika. Tako stanovnici centralnog i sjevernog dijela Europe pokazuju veće zanimanje za konzumiranjem funkcionalno obogaćene hrane od onih iz mediteranskog područja koji više cijene prirodne i svježije namirnice (Menrad, 2003.; Van Trijp, 2007). Funkcionalni proizvodi u novije doba obogaćuju se ponajviše antioksidansima, vitaminima, mineralima, ω -3 masnim kiselinama, probioticima, prebioticima i prehrambenim vlaknima (Langer i Peppas, 2003). U posljednje vrijeme javlja se interes za obogaćivanjem proizvoda bioaktivnim komponentama biljnog podrijetla predstavljenih kao „multifunkcionalni dodaci prehrani“ zbog terapijskog djelovanja na organizam (Shahidi i Naczk, 2003).

Kao posljedica ubrzanog načina života razvijeni su instant proizvodi čija je glavna odlika brza priprema s vodom ili mlijekom uz minimalno miješanje. Zahvaljujući niskom udjelu vode, instant proizvodi nisu podložni kvarenju i kontaminaciji te gubitku nutrijenata čime im se produžuje rok trajnosti. Na tržištu se tako mogu naći različiti praškasti napitci kao što su instant kava, mlijeko u prahu, različiti instant čokoladni napitci, a u novije vrijeme i instant čajevi, energetska pića te nutricionističke mješavine za piće koje se koriste kao zamjena za obrok (Fellows, 2000; Nantz i sur., 2006).

U tablici 1. navedeni su neki primjeri funkcionalnih napitaka i ostalih funkcionalnih proizvoda obogaćenih različitim bioaktivnim komponentama.

Tablica 1. Prikaz pojedinih funkcionalnih prehrambenih proizvoda

Proizvod	Bioaktivna komponenta	Referenca
Instant kava	Klorogenska kiselina ekstrakta zelene kave (<i>Coffea canephora</i> L.)	Corso i sur., 2016
Instant povrtna juha	Ekstrakt yerba mate čaja (<i>Ilex paraguariensis</i> L.)	Córdoba i sur., 2013
Sok od jabuke	Ekstrakt kore šipka (<i>Punica granatum</i> L.)	Altunkaya i sur., 2013
Sok od crnog ribizla	Probiotici s <i>Lactobacillus plantarum</i> 299v kulturom	Luckow i Delahunty, 2004
Mlijeko u prahu	Prah različitih varijeteta rogača (<i>Ceratonia siliqua</i> L.)	Srouf i sur., 2015
Mlijeko	Ekstrakt vegetacijske vode masline i γ -aminomaslačna kiselina (GABA) kultura <i>Lactobacillus plantarum</i> C48 i <i>Lactobacillus paracasei</i> 15N	Servili i sur., 2011
Jogurt	Vlakna praha rogača (<i>Ceratonia siliqua</i> L.)	Moreira i sur., 2016
Jogurt	Sok zelenog papra i probiotici <i>Lactobacillus rhamnosus</i> kulture	Halal i Nayra, 2011
Jogurt	Ekstrakt različitih vrsta grožđa (Cabernet, Sauvignon, Chardonnay, Shyrah, Merlot)	Karaaslan i sur., 2010
Čajno pecivo	Prah rogača (<i>Ceratonia siliqua</i> L.)	Šebečić i sur., 2007

2.2. Inkapsulacija

Inkapsulacija je postupak „pakiranja“ aktivne komponente unutar inertnog materijala s ciljem njenog očuvanja od štetnih utjecaja okoline ili degradacije tokom procesiranja hrane. Inkapsulacijom se osigurava stabilnost funkcionalnih komponenti te se sprječavaju neželjene interakcije s ostalim komponentama hrane (Nedovic i sur., 2011). Primarna funkcija inkapsulacije u prehrambenoj industriji je obogaćivanje hrane funkcionalnim komponentama kao što vitamini, minerali, antioksidansi, masne kiseline i probiotici (Wandrey i sur., 2009; Fang i Bandhari, 2010). Inkapsulacijom se formiraju čestice čija je funkcija kontrolirano otpuštanje aktivnog spoja u gastrointestinalnom traktu te zaštita od degradacije labilnih

komponenti uzrokovane toplinom, vlagom ili sunčevom svjetlošću (Dewettinck i Huyghebaert, 1998; Teunou i Poncelet, 2002). Velika prednost inkapsulacije je mogućnost maskiranja nepoželjnih organoleptičkih karakteristika mirisa i okusa. Dobivene mikročestice ili mikrokapsule sastoje se od jezgre i omotača, odnosno nosača. Jezgru predstavlja aktivna komponenta, dok je nosač svojevrsna zaštita jezgre (Jyothi i sur., 2010). Mnogi postupci inkapsulacije baziraju se na formiranju kapljica aktivnog sredstva u čvrstom, tekućem ili plinovitom stanju koje se onda okružuju nosačem u tekućoj ili plinovitoj fazi različitim fizikalno-kemijskim procesima (Zuidam i Shimoni, 2010).

Prema izvedbi, metode inkapsulacije mogu se podijeliti u sljedeće četiri skupine:

1. Fizikalne metode – sušenje raspršivanjem, inkapsulacija korištenjem superkritičnih fluida
2. Fizikalno-kemijske metode – inkapsulacija hlađenjem emulzija, metoda temeljena na ionskim reakcijama, metoda na hidrofobnim reakcijama, emulzifikacija i uklanjanje otpala
3. Kemijske metode – „*in situ*“ polimerizacija, granična polikondenzacija i granično unakrsno povezivanje (eng. *cross-linking*)
4. Ostale metode – inkapsulacija u stanicama kvasca, ko-kristalizacija, molekularna inkluzija (Munin i Edwards-Lévy, 2011)

Metoda ionskog geliranja spada u grupu fizikalno-kemijskih metoda i jedna je od najkorištenijih postupaka inkapsulacije. Metoda je jednostavna i blaga, a provodi se otapanjem polisaharida u vodi ili blago kiselom mediju, pri čemu se takva otopina ukapava u otopinu gelirajućeg medija uz konstantno miješanje. Uslijed reakcija između suprotno nabijenih medija dolazi do formiranja čestica sferičnog oblika, te se tako dobivene čestice izdvajaju filtracijom, ispiru i suše (Racovića i sur., 2009).

Kao baza za pripremu otopine nosača intenzivno se koriste prirodni polisaharidi kao što su alginat i pektin zbog biokompatibilnosti i biorazgradivosti te sposobnosti tvorbe gel struktura u prisutnosti dvovalentnih kationa (Braccini i Perez, 2001). Kao gelirajući medij najčešće se koriste otopine dvovalentnih kationa Sr^{2+} , Ba^{2+} ili Ca^{2+} (Racovića i sur., 2009). Stvaranje gel struktura rezultat je reakcije molekula guluronskih kiselina koje se nalaze u sastavu alginata i pektina te, najčešće, kalcijevih iona iz otopine gelirajućeg medija. (Gombotz i Wee, 1998).

2.3. Aglomeracija

Aglomeracija je proces sastavljanja disperznih materijala na postojeće čestice većih dimenzija određenog oblika – aglomerate. Cilj aglomeracije je sustavna proizvodnja aglomerata unaprijed točno određenih svojstava. Mehanizam aglomeracije bazira se na adheziji čestica. Čestice je prvo potrebno dovesti u kontakt jedne s drugom, što se najčešće postiže prisilnom interakcijom uz pomoć vanjskih faktora. Tehnološki postupak aglomeracije sastoji se od sljedećih postupaka:

1. vlaženja čestica vodenom parom, vodom ili smjesom vode i pare – površina čestica na sebe nakuplja vlagu i započinje proces aglomeriranja (Herceg, 2011). Vrijeme trajanja i intenzitet kontakta diktira stabilnost i poroznost aglomerata (Buffo i sur., 2001).
2. aglomeracije – stvaranje agregata čestica sudaranjem prilikom turbulentnog kretanja. Brzina kojom će se čestice aglomerirati ovisi o stupnju apsorpcije vlage, o stupnju difuzije vlage u unutrašnjost čestice te o sposobnosti prodiranja vlage u materijal.
3. ponovnog sušenja u struji toplog zraka
4. hlađenja i klasifikacije čestica po veličini – osiguravanje uniformne veličine čestica u proizvodu.

Aglomeracija se u prehrambenoj industriji koristi za široku paletu proizvoda, najčešće za proizvodnju praškastih instant proizvoda. Instant proizvodi mogu se opisati kao aglomerati koji se moraju raspršiti i/ili brzo otopiti u hladnoj, kao i u toploj vodi ili mlijeku, s minimalnim miješanjem i bez nastajanja grudica, zaostajanja neotopljenog proizvoda te tvorbe taloga. U skupinu takvih proizvoda spadaju primjerice:

- proizvodi na bazi škroba – juhe, dječja hrana, umaci
- mliječni granulirani proizvodi – kakov prah, mlijeko u prahu
- uživala – kava, čaj, cappuccino (Herceg, 2011; Schubert, 1993; Forny i sur., 2011).

Uglavnom se aglomeracija upotrebljava u svrhu instantizacije jer dobivene aglomerirane čestice pokazuju dobra svojstva močenja, disperzije i otapanja u odgovarajućem mediju (Dewettinck i Huyghebaert, 1998; Teunou i Poncelet, 2002).

Aglomerirani prah dobiven postupkom instantizacije ima grubu, poroznu strukturu, a veličina čestica instant proizvoda kreće se između 0,1 i 0,3 mm. Prednost instantizacije je i u tome što omogućuje povećanje količine inkorporiranog zraka između čestica praha stvorenih aglomerata koji se tijekom rekonstituiranja zamjenjuje većom količinom vode koja dolazi u kontakt sa česticama praha pa omogućuje brzo otapanje (Herceg, 2011). Još jedna prednost

postupka instantizacije je smanjenje mase samog proizvoda što vodi k ekonomičnijem i lakšem transportu (Barkouti i sur., 2013). Također, dodatkom inkapsuliranih komponenti u instant proizvode produljuje se rok trajanja, postižu se željeni okusi i aroma te se poboljšavaju senzorska svojstva samog proizvoda (Dewettinck i Huyghebaert, 1998; Teunou i Poncelet, 2002).

Proces aglomeracije može se provoditi u kombinaciji s različitim tehnološkim operacijama kao što su sušenje, uparavanje i raspršivanje. Najčešće korišteni postupci aglomeracije mogu se podijeliti u sljedeće tri skupine:

1. aglomeracija pod tlakom - tabletiranje
2. aglomeracija rasta – peletiranje, granuliranje
3. aglomeracija sa sušenjem – aglomeracija raspršivanjem

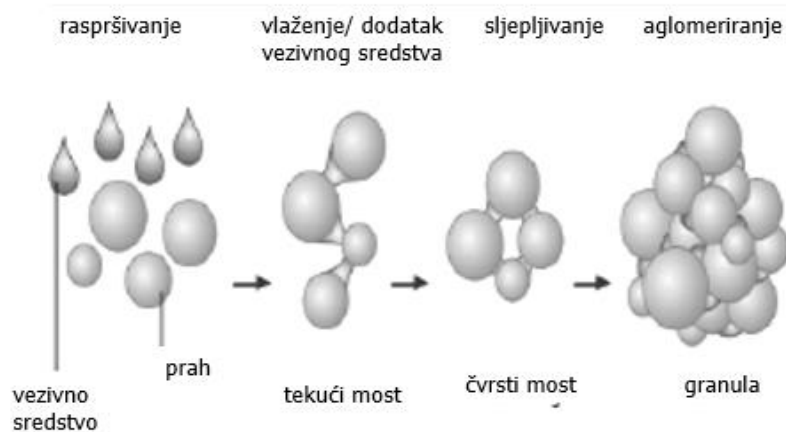
Ovisno o tome jesu li u procesu korištene vezivne tekućine, svaki od navedenih postupaka aglomeracije može se podijeliti na mokre, odnosno suhe, aglomeracijske metode. Ukoliko se radi o mokroj aglomeraciji, odnosno o metodi gdje se vezivno sredstvo koristi u tekućem obliku, često se koristi izraz „granuliranje“ (Dhanalakshmi i sur., 2011).

2.3.1. Granuliranje u fluidiziranom sloju

Granuliranje u fluidiziranom sloju jedna je od najpopularnijih mokrih metoda aglomeracije te se koristi za proizvodnju većih poroznih čestica (veličine 700 μm – 1 mm) dobrih instant svojstava (Barkouti i sur., 2013). Često se opisuje kao „one pot system“ odnosno „sistem jedne posude“ jer se svi osnovni koraci unutar procesa odvijaju u istoj komori. Voda ili vezive tvari raspršuju se pomoću mlaznice u kombinaciju fluidizirajućeg sloja čestica i vrućeg zraka, čime se na površini čestica formira tekući sloj koji omogućava međusobno sljepljivanje čestica. Kad se takva vlažna čestica u fluidizirajućem sloju sudari s drugom česticom između njih se formira tekući most. Naknadnim sušenjem otapalo isparava, a između čestica se formira čvrsti most uslijed skrućivanja vezivnog sredstva. Vezivno sredstvo raspršuje se u obliku otopine na površinu čestica, a ako je ono dostupno u praškastom obliku može se i izravno miješati s česticama. Vezivna sredstva predstavljaju svojevrsna ljepila čestica te se koriste kod aglomeriranja netopljivih čvrstih čestica kako bi se omogućilo stvaranje mosta među njima, a tokom granuliranja omogućuju povećanje veličine čestice, čime se omogućava dobra protočnost mješavine tokom proizvodnog procesa, te omogućuju dobru kohezivnost prahova (Barbosa-Canovas i sur., 2005; Turchiuli i sur., 2005). Kao vezivna sredstva koriste se prirodni polimeri, sintetički polimeri i visoke koncentracije šećera. U prehrambenoj industriji najviše se koriste vodene otopine laktoze ili dekstroze te želatina. Vezivna sredstva igraju veliku ulogu u samom procesu jer o odabiru vrste vezivnog

sredstva i njegovoj koncentraciji ovisi čvrstoća granula, mrvljenje i prašnjavost proizvoda (Knight, 2001).

Rast aglomerata ovisi o ponovljivosti koraka provedbe granuliranja u fluidiziranom sloju: vlaženja površine čestica, sudaranja i sljepljivanja čestica te sušenja mase u struji zraka (Slika 1) (Turchiuli i sur., 2005). Zbog mogućnosti miješanja različitih komponenti uz istovremeno provođenje operacija granuliranja i sušenja znatno se smanjuje vrijeme provedbe samog procesa (Srivastava i Mishra, 2010).



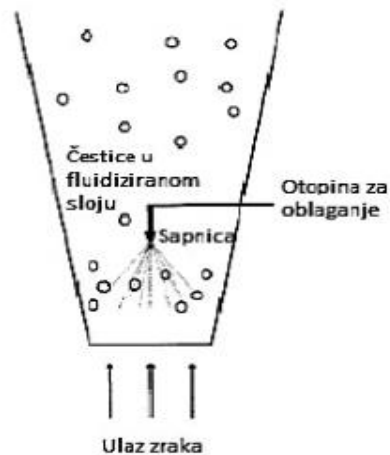
Slika 1. Princip granuliranja u fluidiziranom sloju raspršivanjem (Srivastava i Mishra, 2010)

Ovisno o položaju sapnica, postoje tri načina provedbe granuliranja u fluidiziranom sloju: gornjim raspršivanjem, donjim raspršivanjem i raspršivanjem unutar fluidizirajućeg sloja (Turchiuli i sur., 2005). Sva tri tipa raspršivanja imaju svoje prednosti i mane, ali primjena gornjeg raspršivanja pokazuje najveće mogućnosti primjene u prehrambenoj industriji zbog jednostavnosti, velikog volumena punjenja i prilagodljivosti (Benković i sur., 2011).

2.3.1.1. Granuliranje u fluidiziranom sloju gornjim raspršivanjem

Granuliranje u fluidiziranom sloju provedena gornjim raspršivanjem jedna je od najistraživanijih i često korištenih metoda. Uređaj za granuliranje u fluidiziranom sloju gornjim raspršivanjem sastoji se od konusne posude za proizvod i ekspanzijske komore, na dnu se nalazi jedinica za distribuciju zraka, dok su sapnice za raspršivanje smještene u poziciji iznad fluidizirajućeg sloja (Jones, 1994).

Čestice praha struje u fluidizacijskoj komori, dok sapnica na njih raspršuje vezivno sredstvo ili vodu u smjeru suprotnom od upuhivanja zraka (Slika 2). Konusni oblik posude pogoduje snažnoj fluidizaciji, ali i smanjenju brzine kretanja čestica koje se vraćaju prema vrhu ekspanzijske komore. Obložene čestice putuju kroz zonu oblaganja prema vrhu ekspanzijske komore, nakon čega se ponovno vraćaju uz stijenke posude u fluidizacijski dio posude te dalje kruže kroz proces (Jones, 1994).



Slika 2. Shematski prikaz granuliranja u fluidiziranom sloju gornjim raspršivanjem (Benković i sur., 2011)

2.4. Rogač (*Ceratonia siliqua* L.)

Rogač je biljka iz porodice mahunarki (*Fabaceae*), a pripada obitelji Leguminosae, red *Rosales*. Još od doba antike, stabla rogača rasprostranjena su na području Mediterana zbog toplih i suhih područja sa osiromašenim tlima koja pogoduju rastu i razvoju rogača. Rogač je višegodišnja biljka, raste kao zimzeleni grm ili stablo debele, grube i smeđe kore koje može doseći visinu i do 10 metara (Strikić i sur., 2007). Produktivnost rogača je između 80 do 100 godina (Morton, 2004). Listovi sadrže debelu višeslojnu epidermu u čijim se vakuolama nalaze polifenolni spojevi. Cvjetovi su zelenkasto do tamnocrvene boje, maleni, višebrojni i jednospolni. Plod rogača su sjemenke koje se nalaze unutar izdužene, spljoštene mahune. Mahuna može biti ravna ili zakrivljena, a sužava se u šavovima. Smeđe je boje, naborane površine koja je kožasto zadebljana kad je zrela (slika 3). Sjemenke unutar svijetlo-smeđe pulpe mahune su poprečno poredane i međusobno odvojene mezokarpom. Teške su, jajolikog oblika, a u jednom plodu ih se može naći između 10 i 13 (Strikić i sur., 2007).



Slika 3. Mahune zrelog rogača (Annonymus 1, 2012)

Berba rogača vrši se pomoću štapa na čijem se kraju nalazi kuka koja zahvaća grane i uz pomoć koje se otkidaju plodovi tj. mahune. Mahune rogača potrebno je ubrati prije zimskih kiša sakupljanjem na plahte položene ispod stabala rogača, gdje ostaju na hrpi sušeći se na suncu dan do dva kako bi se udjel vode smanjio na 8 % ili niže. Potom slijedi proces drobljenja mahuna (Morton, 2004). Svjetska proizvodnja rogača s 200 000 hektara iznosi oko 310 000 tona na godinu, a prinos ovisi o varijetetu, regiji u kojoj se uzgaja i agrotehničkim mjerama. Najveći proizvođač rogača je Španjolska s 135 000 tona na godinu, a zatim slijede Italija, Portugal i Maroko. Uzgoj rogača u Hrvatskoj je ograničen jer ne postoje veći posjedi, a otkup je neorganiziran. U Hrvatskoj, rogač se uzgaja u području Dalmacije i oko otoka Korčule, Lastova, Brača, Šolte i Drvenika (Strikić i sur., 2007).

2.4.1. Kemijski sastav rogača

Kemijski sastav rogača značajno varira ovisno o varijetetu, regiji u kojoj se uzgaja te primijenjenim agrotehničkim mjerama. Mahuna rogača sastoji se 90 % od pulpe koja je bogata šećerima (48-56 %), od kojih dominira saharoza (70 %) (Makris i Kefalas, 2004; Yousifi i Alghzawi, 2000). Uspoređujući mahunu rogača sa sjemenkama, klica sadrži viši udjel i ugljikohidrata i masti (Avallon, 1997).

Glede bioaktivnih komponenti, karakteristični polifenolni spojevi za rogač su tanini. Tanini su nosioci gorčine, a dijele se na hidrolizirane i kondenzirane koji se još nazivaju i proantocijanidinima. Hidrolizirani tanini su polimeri galne i elaginske kiseline. Tanini koji se nalaze u rogaču su visokopolimerizirani (molekulske mase i do 32 000 Dal) i netopljivi u nepolarnim otapalima kao što su metanol, etanol i etil-acetat (Makris i Kefalas, 2004). Udio kondenziranih tanina u mahuni (2,75 mg/g) je niži nego u klici (16,2 mg/g). U mahuni udio hidroliziranih tanina iznosi 0,95 mg/g, a u klici 2,98 mg/g. Također, dokazano je da ukupni udio polifenola u klici sjemenki rogača iznosi 1,9 mg/g od kojih je udio proantocijanidina 0,28 mg/g, a udio hidroliziranih tanina 0,1 mg/kg (galo- i elagitanina). Udio ukupnih polifenola u mahunama je 6,1 %. Primijećeno je i da je udio galne kiseline viši kod zrelih plodova rogača.

Uspoređujući bioaktivni sastav mahune rogača i sjemenki, mahuna sadrži 19 mg/g ukupnih polifenola, a klica 40,8 mg/g (Avallon, 1997).

2.4.2. Primjena rogača

Osim što se zbog visokog udjela šećera mahune rogača izravno koriste za žvakanje kao slatkiši, mogu se samljeti te u kombinaciji sa pšeničnim brašnom koristiti kao jedna od glavnih sirovina za pripremu kruha. Brašno, poznato i pod nazivom prah rogača, dobiva se mljevenjem mahuni te je bogato vlaknima zbog čega se može koristiti kao dodatak jelima, posebice za doručak. Prah rogača koristi se u konditorskoj industriji za izradu bombona i čokoladica. Unutar mahune rogača nalazi se endosperm koji se koristi za proizvodnju karuba gume (Makris i Kefalas, 2004). Iz sjemenki rogača proizvodi se „tragasol“ guma koja se koristi kao stabilizator i zgušnjivač. Slatka pulpa, zdrobljena i samljevena u fini prah, osim kao ishrana za životinje koristi se i u ljudskoj prehrani kao zamjena za kakao (Correia i sur., 2004), dok se pržene sjemenke rogača koriste kao zamjena za kavu (Morton, 2004). Prednost korištenja rogača kao zamjene za kavu i kakaov prah je u tome što u svom sastavu ne sadrži metilksantine kafein i teobromin. Iako je kafein prisutan u kavi, a teobromin u čokoladi, oba spoja izazivaju lučenje kiseline u želucu i uzrokuju žgaravicu (Yousifi i Alghzawi, 2000; Pavić i sur., 2008). Rogač se koristi i u prehrani srčanih bolesnika i ljudi koji boluju od hipertenzije jer je bogat kalijem i natrijem (Yousifi i Alghzawi, 2000). Lišće rogača koristi se kao hrana za životinje, a samo stablo rogača pogodno je za proizvodnju goriva (Strikić i sur., 2007). Koristi se i za proizvodnju šećera, melase i alkohola te u mliječnoj i farmaceutskoj industriji (Correia i sur., 2004). Mogućnosti primjene rogača i sama vrijednost rogača kao sirovine vrlo su velike, no dosad nije provedeno mnogo istraživanja o ovoj kulturi, a i slabo se radilo na oplemenjivanju i selekciji sorta domaćeg asortimana (Strikić i sur., 2007).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijal

3.1.1. Uzorci

U eksperimentalnom dijelu ovog rada za izdvajanje polifenolnih spojeva kao aktivnih komponenti koje će se inkapsulirati u alginatni nosač korišten je suhi list maslačka (*Taraxacum officinale* L.), podrijetlom iz Republike Hrvatske (berba 2014. godina). Biljni materijal kupljen je u specijaliziranoj trgovini za prodaju ljekovitog bilja Suban d.o.o (Strmec Samoborski, Hrvatska), te je u svrhu pripreme polifenolnog ekstrakta usitnjen u električnom mlinu za kavu do željene veličine čestica.

Kao nosač za inkapsulaciju polifenolnih spojeva maslačka korištena je natrijeva sol alginske kiseline niske viskoznosti (Sigma-Aldrich Company Ltd., Dorset, Velika Britanija). Kakaov prah korišten u sustavu alginatnog nosača bio je smanjenog udjela masti od 10-12 % (Zvečevo d.d., Požega, Hrvatska).

Za pripremu praškastih mješavina namijenjenih pripremi napitaka korišten je rogač (Šafram d.o.o., Zagreb, Hrvatska) kupljen u lokalnoj prodavaonici u Zagrebu. Rogač je bio usitnjen u električnom mlinu te prosijan, pri čemu je izdvojena frakcija rogača veličine čestica $> 180 \mu\text{m} < 355 \mu\text{m}$, koja se koristila kao kontrolni (negrnulirani) uzorak (dalje označen oznakom R) te dalje kao glavna ulazna sirovina u procesu granuliranja u fluidiziranom sloju. U procesu granuliranja, kao vezivo korišten je maltodekstrin (DE 16-19.9) dobiven enzimskom konverzijom škroba kukuruza (Cargill, Inc., Wayzata MN, SAD). Sojin lecitin u prahu (Cargill, Inc., Wayzata MN, SAD) korišten je kao emulgator.

3.1.2. Kemikalije

Sve korištene kemikalije su visoke analitičke (p.a.).

Inkapsulacija

- Natrijev alginat, Sigma-Aldrich Company Ltd. (Dorset, Velika Britanija)
- Kalcijev klorid, Gram mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)

Određivanje udjela vode, topljivosti i disperzibilnosti

- Kvarcni pijesak (oprani i žareni), Gram-mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)

Određivanje udjela ukupnih polifenola i ukupnih flavonoida

- Folin-Ciocalteu reagens, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- Natrijev karbonat, Kemika (Zagreb, Hrvatska)

- Klorovodična kiselina, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- Formaldehid, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- Galna kiselina, Sigma Aldrich (Steinheim, Njemačka)

Određivanje udjela hidroksicimetnih kiselina

- Klorovodična kiselina, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- Arnou reagens – smjesa natrijevog nitrita (Gram-mol d.o.o.; Zagreb, Hrvatska) i natrijevog molibdata (Sigma-Aldrich; Steinham, Njemačka)
- Natrijev hidroksid, Gram-mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- Kafeinska kiselina, Sigma Aldrich (Steinheim, Njemačka)

Određivanje udjela flavan-3-ola metodom s vanilinom

- 37%-tna klorovodična kiselina, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- Metanol, Mallinckrodt Baker B.V. (Amsterdam, Nizozemska)
- Vanilin, Sigma-Aldrich (Steinheim, Njemačka)
- Katehin, Sigma Aldrich (Steinheim, Njemačka)

Određivanje udjela proantocijanidina metodom Bate-Smith

- *n*-butanol, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- Klorovodična kiselina (37%-tna), Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- 2%-tna otopina amonijželjezo(II)sulfatdodekahidrata u 2M klorovodičnoj kiselini, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- Epikatehin, Sigma Aldrich (Steinheim, Njemačka)

Određivanje ukupnih tanina

- Metanol, Mallinckrodt Baker (Amsterdam, Nizozemska)
- Natrijev karbonat dekahidrat, Sigma-Aldrich (Steinheim, Njemačka)
- Natrijev acetat trihidrat, Alkaloid, AD (Skopje, Makedonija)
- Octena kiselina (80%-tna), Alkaloid, AD (Skopje, Makedonija)
- Folin – Ciocalteu reagens, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- Kazein, Sigma-Aldrich (Steinheim, Njemačka)
- Taninska kiselina, Sigma Aldrich (Steinheim, Njemačka)

Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom

- Etanol (96%-tni), Gram-mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)

- 140 mM otopina kalijevog persulfata, Sigma-Aldrich (Steinhaim, Njemačka)
- 7 mM otopina 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) diamonijeve soli (ABTS), Sigma-Aldrich (Steinhaim, Njemačka)
- 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina (Trolox), Sigma Aldrich (Steinhaim, Njemačka)

Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom

- Metanol, Mallinckrodt Baker B.V. (Amsterdam, Nizozemska)
- 0,094 mM otopina 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikala (DPPH), Fluka (St. Gallen, Švicarska)
- 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina (Trolox), Sigma Aldrich (Steinhaim, Njemačka)

3.1.3. Pribor i aparatura

Priprema ekstrakta

- Plamenik s azbestnom mrežicom
- Termometar
- Stakleni štapić
- Čaše volumena 250 do 500 mL
- Menzura volumena 500 mL
- Štoperica
- Metalno cjedilo
- Gaze
- Analitička vaga, Mettler-Toledo (Zürich, Švicarska)
- Električni mlinac za kavu, United Favour Development (Kowloon, Hong Kong)

Inkapsulacija

- Plastična šprica volumena 5 mL
- Igla 27 G (0,4×13)
- Čaše volumena 50 - 250 mL
- Metalno cjedilo
- Magneti
- Analitička vaga, Mettler-Toledo (Zürich, Švicarska)
- Magnetna miješalica, IKA C-Mag HS 7 (Staufen, Njemačka)
- Liofilizator, Martin Christ GmbH (Osterode am Harz, Germany)

Granuliranje u fluidiziranom sloju

- Čaše volumena 100-500 mL
- Peristaltička pumpa, Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co (Eberstadt, Njemačka)
- Granulator s fluidiziranim slojem Uni-Glatt, Glatt GmbH (Binzen, Njemačka)

Određivanje veličine čestica:

- Laboratorijska tresilica, Analysette 3 PRO, FRITSCH (Idar Oberstein, Njemačka)
- Analitička vaga, Mettler-Toledo (Zürich, Švicarska)

Određivanje udjela vode, topljivosti, disperzibilnosti:

- Aluminijske posudice s poklopcima, termometar, eksikator
- Pinceta
- Analitička vaga, Mettler-Toledo (Zürich, Švicarska)
- Laboratorijski sušionik, Tehnica (Železniki, Slovenija)
- Centrifuga SL 8/ 8R, Thermo Scientific (Suzhou, Kina)

Određivanje nasipne gustoće i karakteristika tečenja prahova:

- Volumetar i stakleni cilindar (250 mL), Engelsmann (Ludwigshafen, Njemačka)
- Powder Flow Analyzer-om (PFA), Stable Micro Systems, (Godalming, Surrey, Velika Britanija)

Određivanje močivosti:

- Čaše volumena 250 mL
- Stakleni štapić
- Štoperica

Određivanje boje čestica:

- Kolorimetar, CM-700d, CM- A177, Konica Minolta (Tokio, Japan)

Određivanje spektrofotometrijskih metoda:

- Staklene epruvete
- Staklene čaše volumena 250 mL
- Staklene menzure 50 mL i 250 mL
- Odmjerne tikvice volumena 10 - 500 mL
- Automatske mikropipete volumena 100-1000 μ L (Gilson, SAD)

- Staklene pipete volumena 5 mL i 10 mL
- Propipete
- Analitička vaga, Mettler-Toledo (Zürich, Švicarska)
- Centrifuga SL 8/ 8R, Thermo Scientific (Suzhou, Kina)
- Kiveta (10 mm) za spektrofotometrijsko mjerenje
- Spektrofotometar Helios γ , ThermoSpectronic (Cambridge, Velika Britanija)

3.2. Priprema uzoraka

3.2.1. Priprema polifenolnog ekstrakta maslačka

U svrhu dobivanja polifenolnog ekstrakta maslačka, 30 g prethodno usitnjenog maslačka odvagano je u staklenu čašu i preliveno s 300 mL destilirane vode zagrijane na 80 °C (± 2 °C). Ekstrakcija je provedena na plameniku uz konstantno miješanje staklenim štapićem kroz 30 minuta. Dobiveni ekstrakt maslačka profiltriran je kroz dvije unakrsno posložene gaze postavljene na metalno cijedilo, dopunjen do poznatog volumena (300 mL) i ohlađen na sobnu temperaturu.

3.2.2. Inkapsulacija polifenolnog ekstrakta maslačka

Postupak inkapsulacije polifenolnih spojeva maslačka proveden je metodom ionskog geliranja. Kao otopina nosača koristila se 4 %-tna (w/v) otopina alginata (A) u ekstraktu maslačka kombinirana s 20 %-tnom otopinom kakaovog praha (KP), također otopljenom u ekstraktu maslačka. Pripremljene otopine su pomiješane u omjeru 80 (A): 20 (KP) (w/w) te kao takve korištene kao nosači za inkapsulaciju polifenola maslačka. Kao gelirajući medij koristila se 3 %-tna (w/v) otopina kalcijeva klorida u ekstraktu maslačka. Postupak inkapsulacije proveden je ukapavanjem otopine nosača u otopinu kalcijevog klorida. Otopina nosača prenesena je u plastičnu špricu te istiskivana kroz iglu od 27 G (0,4 \times 13) u otopinu gelirajućeg medija koja se konstantno miješala, pri čemu je došlo do formiranja sferičnih kuglica alginatnog gela. Nakon formiranja, čestice su u svrhu očvršćivanja miješane na magnetskoj miješalici dodatnih 30 minuta, nakon čega su izdvojene iz otopine gelirajućeg medija, isprane ekstraktom maslačka i spremljene u ekstrakt na +4 °C. U svrhu obogaćivanja praškastih mješavina na bazi rogača česticama s inkapsuliranim ekstraktom maslačka iste su bile liofilizirane.

3.2.3. Granuliranje u fluidiziranom sloju

Granuliranje praškastih mješavina na bazi rogača provedena je u laboratorijskom granulatoru s fluidiziranim slojem Uni-Glatt, Glatt GmbH (Binzen, Njemačka), uz primjenu

postupka mokrog granuliranja. Kao sirovina koja se želi okrupniti procesom granuliranja koristila se frakcija rogača veličine čestica $> 180 \mu\text{m} < 355 \mu\text{m}$. Također, frakcija rogača veličine čestica $> 180 \mu\text{m} < 355 \mu\text{m}$ koja nije išla u proces granuliranja (negrulirani rogač) koristila se kao kontrolni uzorak (oznaka R). Kao vezivo korišten je maltodekstrin (DE 16-19.9), u koncentraciji od 6 % (w/w) računato na suhu masu u sustavu (rogač ili rogač i čestice). Lecitin je dodan u sustav kao emulgator, u koncentraciji od 2 % (w/w) računato na ukupnu suhu masu u sustavu (rogač, maltodekstrin, čestice) te je otopljen u vodi skupa s maltodekstrinom. U procesu granuliranja, 60 g otopine maltodekstrina i lecitina peristaltičkom pumpom se doziralo u granulator u kojem se nalazio fluidizirani sloj rogača (300 g). U slučaju obogaćenog uzorka, rogač je skupa s česticama s inkapsuliranim polifenolima maslačka doziran u granulator, pri čemu je udjel čestica iznosio 5 % računato na masu rogača koja je ulazila u sustav (300 g). Otopina veziva se nakon ulaska u granulator dvo-fluidnim raspršivačem odozgo („top-spray“ mode, gornje raspršivanje) dodavala u fluidizirani sloj sustava koji se želio okrupniti. Nakon postupka granuliranja, formulirane su sljedeće praškaste mješavine namijenjene pripremi napitaka na bazi rogača:

- Granulirani rogač bez dodatka lecitina (gr R)
- Granulirani rogač s dodatkom lecitina (gr R_L)
- Granulirani rogač s dodatkom lecitina i liofiliziranih čestica s inkapsuliranim polifenolima maslačka (gr R_Lč).

U tablici 2. nalaze se procesni parametri korišteni u postupku granuliranja.

Tablica 2. Procesni uvjeti mokrog granuliranja u fluidiziranom sloju

Procesni uvjeti	Vrijednost	Jedinica
Maseni protok veziva	12,57 (g R) 10,22 (g R_L) 8,74 (g R_Lč)	g/min
Promjer otvora sapnice	0,8	mm
Širina mlaza (regulirana i iskazana pozicijom gornjeg elementa raspršivača)	2,0	Okretaja od 0.-og položaja/najužeg mlaza
Temperatura ulaznog zraka	50	°C
Tlak zraka za raspršivanje veziva	1	bar
Volumni protok zrak fluidizaciju	$3,73 \text{ E}^{-2}$	m^3/s
Vrijeme doziranja sirovine	512 s (g R) 530 s (g R_L) 535 s (g R_Lč)	s

3.2.4. Priprema napitaka na bazi rogača za određivanje bioaktivnog profila

Praškaste mješavine pripremljene su s vodom i mlijekom (2,8 % m.m.), simulirajući uobičajeni način pripreme u kućanstvu (odnosno prema uputama proizvođača instant kakaovih proizvoda). 15 g uzorka preliveno je s 200 mL kipuće destilirane vode, odnosno s 200 mL mlijeka zagrijanog na temperaturu 80-90 °C te miješano 5 minuta staklenim štapićem. Uzorci pripremljeni s vodom centrifugirali su se 5 min na 5000 rpm-a, nakon čega je skupljen supernatant koji se koristio za određivanje bioaktivnog profila.

Kod uzoraka pripremljenih s mlijekom, nakon miješanja 5 min, određeni alikvot uzorka pomiješan je s 5 puta većim volumenom metanola, s ciljem uklanjanja proteina iz mlijeka te u svrhu dobivanja bistrih ekstrakata potrebnih za adekvatno provođenje analiza. Nakon miješanja s metanolom, uzorak se centrifugirao 5 min na 8000 rpm-a, nakon čega je odvojen supernatant koji se koristio za daljnje analize.

Kod uzorka obogaćenog česticama s inkapsuliranim polifenolima maslačka (gr R_Lč), 15 g praškaste mješavine sadržavalo je točno 5 % (w/w) liofiliziranih čestica.

Svi napitci pripremljeni su u duplikatu.

3.3. Određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika praškastih mješavina na bazi rogača

3.3.1. Veličina čestica

Veličina čestica određena je granulometrijskom analizom. Prahovi su prosijavani pomoću laboratorijske tresilice Analysette 3 PRO (FRITSCH, Njemačka) s amplitudom vibracije od 0,5 mm i s vremenskim intervalom prosijavanja od 3 sekunde. Uzorci su prosijani kroz seriju sita veličine 1,25 mm, 1,12 mm, 1,00 mm, 900 μm, 710 μm, 355 μm, 180 μm i 125 μm koja su međusobno povezana i smještena na vibrirajuću podlogu. Nakon provedenog prosijavanja, izračunat je % frakcije zaostale na odgovarajućem situ.

3.3.2. Udjel vode

Udjel suhe tvari, odnosno vode, određen je prema modificiranoj metodi AOAC 930.15 (AOAC, 1990). Sušenjem uzorka do konstantne mase mjeri se masa suhe tvari jer dolazi do isparavanja slobodne vode na temperaturi od 105 °C. Udjel suhe tvari izračunava se u odnosu na početnu masu uzorka koji se suši.

U prethodno izžarene, osušene i izvagane aluminijske posudice s kvarcnim pijeskom i poklopcem odvagane je 1 g ($\pm 0,0001$) uzorka. Uzorci su sušeni na 105 °C do konstantne mase. Nakon isteka vremena sušenja, posudice se poklope u sušioniku i prenesu u eksikator

gdje se hlade na sobnoj temperaturi i važu na analitičkoj vagi. Udjel vode u uzorcima izračuna se iz gubitka mase prema formuli:

$$\% \text{ vode} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} * 100 \quad [1]$$

gdje je:

m1 – masa prazne aluminijske posudice (g)

m2 – masa aluminijske posudice s uzorkom prije sušenja (g)

m3 – masa aluminijske posudice s uzorkom nakon sušenja (g)

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost mjerenja s pripadajućom standardnom devijacijom.

3.3.3. Topljivost

Topljivost se odnosi na brzinu i opseg u kojem se sastojci čestica praha otapaju u vodi (Aguilera i sur., 1995). Topljivost je određena prema modificiranoj metodi Takashia i Seibia (1988). 2,5 g uzorka suspendirano je u 25 mL destilirane vode temperature 30 °C. Suspenzija je povremeno miješana 30 minuta, a nakon toga centrifugirana 15 minuta na 8000 rpm-a. Cijeli volumen dobivenog supernatanta kvantitativno je prenesen u prethodno izarene aluminijske posudice te sušen na 105 °C do konstantne mase. Mjerenje je provedeno u paralelama, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost mjerenja s pripadajućom standardnom devijacijom.

Za određivanje topljivosti u vodi (%) koristi se masa osušenog uzorka prema formuli:

$$\% \text{ topljivosti} = \frac{m_3 - m_1}{m_2} * 100 \quad [2]$$

gdje je:

m1 – masa praznog lončića (g)

m2 – masa uzorka (g)

m3 – masa lončića s uzorkom nakon sušenja (g)

3.3.4. Disperzibilnost

Disperzija opisuje lakoću kojom se prah može distribuirati kao jedinstvene čestice preko površine i kroz smjesu rekonstituirane vode (Aguilera i sur., 1995).

Disperzibilnost je određena prema modificiranoj metodi Jinapong i sur. (2008). 1 g svakog uzorka dodan je u 10 mL destilirane vode sobne temperature. Otopina se miješala 15 sekundi pokretima naprijed-nazad i potom centrifugirala 10 minuta na 8000 rpm. 1 mL dobivenog supernatanta kvantitativno je prenesen u prethodno izarene aluminijske posudice

te sušen na 105 °C do konstantne mase. Mjerenje je provedeno u paralelama, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost mjerenja s pripadajućom standardnom devijacijom.

Disperzibilnost je određena prema formuli:

$$\% \text{ disperzibilnosti} = \frac{(10+a)*\% \text{ S.TV.}}{a * \frac{100-b}{100}} \quad [3]$$

gdje je:

a – masa uzorka (praha) (g)

S.TV. – suha tvar supernatanta dobivenog nakon centrifugiranja (%)

b – udjel vode u uzorku (prahu)

3.3.5. Nasipna gustoća

Nasipna gustoća je određena prema modificiranoj metodi Murakamija i suradnika (2001). Uzorak je usipan u plastični cilindar volumena 250 mL. Zabilježena je masa praznog cilindra, masa cilindra napunjenog uzorkom i očitana je volumen koji je zauzeo uzorak. Nasipna gustoća („bulk density“) u g/cm³ određena je kao omjer mase uzorka u cilindru i volumena uzorka u cilindru (formula 4).

$$\text{Nasipna gustoća (g/cm}^3\text{)} = \frac{m \text{ uzorak (g)}}{V \text{ uzorak (cm}^3\text{)}} \quad [4]$$

Cilindar je zatim namješten na volumetar te je očitana volumen koji je uzorak zauzeo nakon 10 udaraca („loose density volumen“) i nakon 100 udaraca („tapped density“ volumen). Vrijednosti za „loose“ i „tapped“ gustoću (g/cm³) izražene su kao omjer mase uzorka usipanog u cilindar i očitane volumena nakon 10 udaraca („loose“), odnosno 100 udaraca („tapped“). Mjerenje je provedeno u triplikatu te su rezultati izraženi kao srednja vrijednost mjerenja s pripadajućom standardnom devijacijom.

Preko vrijednosti nasipnih gustoća određuju se Carr indeks koji predstavlja svojstvo tečenja (Carr, 1965) i Hausnerov omjer (HR) kao svojstvo kohezivnosti (Hausner, 1967). To su bezdimenzijske veličine pomoću kojih se određuje kompresibilnost praškastih proizvoda.

Carr indeks i Hausnerov omjer izračunavaju se preko dobivenih vrijednosti za nasipnu gustoću (ρ bulk) i gustoću nakon protresivanja 100 puta (ρ tapped).

Formula za izračunavanje Carr indeksa je:

$$\text{Carr indeks} = \frac{(\rho \text{ tapped} - \rho \text{ bulk})}{\rho \text{ tapped}} * 100 \quad [5]$$

Ovisno o vrijednosti Carr indeksa, uzorci se svrstavaju u kategorije navedene u tablici 3.

Tablica 3. Karakterizacija tecivosti prahova prema Carr indeksu

Carr indeks	Tecivost
< 15	vrlo dobra
15-20	dobra
20-35	dovoljna
35-45	loša
>45	vrlo loša

Formula za izračunavanje Hausnerov-og omjera je:

$$HR = \frac{\rho_{tapped}}{\rho_{bulk}} \quad [6]$$

Ovisno o vrijednosti HR omjera, uzorci se svrstavaju u kategorije navedene u tablici 4.

Tablica 4. Karakterizacija kohezivnosti prahova prema Hausnerovom omjeru (HR)

HR	Kohezivnost
<1,2	niska
1,2- 1,4	srednja
>1,4	visoka

3.3.6. Indeks kohezije i sposobnost stvaranja kolača

Karakteristike tečenja prahova određene su pomoću Powder Flow Analyzer-om (PFA), proizvođača Stable Micro Systems (Godalming, Surrey, Velika Britanija). Za svaki uzorak provedena su dva testa: test kohezivnosti i test sposobnosti stvaranja kolača. Indeks kohezije određen je tzv. „quick testom“, a čvrstoća i sposobnost stvaranja kolača „caking testom“. Svaki test daje kvantitativne podatke o protoku praha na temelju različitih načina kontrola tečenja prahova.

Uređaj se sastoji od prozirnog staklenog cilindra (120 mm visina i 50 mm unutarnji promjer) i specifične rotirajuće oštrice (48 mm promjer i 10 mm visina) koja se može kretati gore i dolje uz lijevu i desnu rotaciju. Uzorci su prebačeni u cilindar na način da zauzimaju volumen od 160 mL.

Quick test provodi se u svrhu određivanja koeficijenta kohezije i indeksa kohezije. Prije provedbe same analize uzorka, instrument je izvršio korak pripremanja uzorka u 2 ciklusa pri čemu se uklanja pritisak i „normalizira“ prah nakon usipavanja. Spuštanjem i dizanjem oštrice kroz uzorak brzinom od 20 mm/s mjeri se kohezivnost uzorka. Oštrica se spušta kroz kolonu metodom „sječanja“ i uzrokuje minimalno sabijanje uzorka. Kad se oštrica

kreće prema gore kroz kolonu praha, mjeri se snaga kojom prah djeluje na bazu posude. Koeficijent kohezije izračunava se integriranjem površine ispod negativne krivulje udaljenosti/sile pomoću Texture Exponent 32 software-a. Indeks kohezije (CI) definira se kao omjer koeficijenta kohezije i mase uzorka. Ovisno o vrijednosti indeksa kohezije, prahovi se svrstavaju u slobodno tecive (CI je ≤ 11), lako tecive (CI između 11 i 14), kohezivne (CI između 14 i 16), vrlo kohezivne (CI između 16 i 19) i izrazito kohezivne (CI > 19). Quick test je proveden jednom u tri paralele po uzorku.

Osim kohezivnosti, određena je i sposobnost stvaranja kolača „caking testom“. Sposobnost stvaranja kolača ovisi o kohezivnosti, efikasnosti pakiranja, nasipnoj gustoći materijala, interakcijama među česticama i udjelu vlage u okolini.

Instrument vrši pripremu uzorka u 2 ciklusa, a spuštanjem oštice u narednih pet ciklusa vrši se sabijanje uzorka i stvaranje tzv. kolača. Prilikom kondicioniranja uzorka, oštrica ravna prah na vrhu stupca i mjeri visinu kolone. Kretanjem oštice prah se sabija određenom silom. Kad se postigne određena sila, oštica se diže, a navedeni postupak se ponavlja u naredna četiri ciklusa. U posljednjem, petom ciklusu, kad se postigne ciljana sila, oštrica mijenja smjer i reže kolač koji se formirao u cilindru. Izmjerena sila predstavlja rad potreban za rezanje kolača izražen u g mm (snaga kolača - „cake strength“), dok prosječna snaga kolača („mean cake strength“) podrazumijeva prosječnu silu potrebnu za rezanje kolača izraženu u gramima (g) (Benković i sur., 2013). Test je proveden jednom u tri paralele po uzorku, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost mjerenja s pripadajućom standardnom devijacijom.

3.3.7. Močivost

Močivost ili vrijeme močenja izraženo je kao vrijeme potrebno da čestice praha probiju površinu medija sobne temperature te se istalože na dno posude (Schubert, 1980). U čašu volumena 250 mL dodano je 50 mL destilirane vode sobne temperature, odnosno 50 mL vode temperature 80 °C kod drugog mjerenja. Uzorci su usipani preko filter papira te je mjereno vrijeme (h) da se sav prah istaloži na dno posude. Mjerenja su provedena u duplikatu.

3.3.8. Parametri boje

Određivanje boje praškastih uzoraka provedeno je difuzno reflektirajućom spektrofotometrijom na kolorimetru (Konica Minolta, Sensing, CM – 700d, CM – A177, Japan), pri čemu je dobivena reflektancija uzoraka u čitavom području vidljivog spektra te L^* , a^* i b^* vrijednosti. Nelinearni odnosi za L^* , a^* i b^* vrijednosti imaju zadatak imitirati logaritamski odgovor ljudskog oka. Ljudsko oko ima receptore za kratke (S), srednje (M) i

duge (L) valne duljine koji su poznati kao plavi, zeleni i crveni receptori. Sukladno tome, L^* vrijednost je osvjetljenje ili svjetlosna komponenta, koja ima vrijednosti u rasponu 1-100, dok su a^* (od zelene do crvene) i b^* (od plave do žute) dvije kromatske vrijednosti u rasponu od -120 do 120 (Gökmen i Sığüt, 2007). Za potrebe analize, praškaste mješavine na bazi rogača prenesene su u odgovarajuće Petrijeve zdjelice promjera 30 mm, tako da se u potpunosti prekrije dno posudice i formira homogeni sloj uzorka. Područje mjerenja podešeno je na 400 do 700 nm, što odgovara vidljivom dijelu elektromagnetskog spektra. Kontrola mjerenja provedena je korištenjem računalne aplikacije SpectraMagic NX. Sva mjerenja izvršena su u SCI (eng. „Specular Component Included“) modu, koji predstavlja način mjerenja boje uzorka pri kojemu se uračunavaju sjene, tj. uzorak se prikazuje onako kako ga vidi ljudsko oko (Gökmen i Sığüt, 2007). Na temelju rezultata mjerenja, ukupna promjena boje (ΔE^*) u odnosu na referentni uzorak (negranulirana frakcija rogača veličine čestica $> 180 \mu\text{m} < 355 \mu\text{m}$) izračunata je prema formuli:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_{ref}^*)^2 + (a^* - a_{ref}^*)^2 + (b^* - b_{ref}^*)^2} \quad [7]$$

gdje je:

ΔE^* - promjena boje ispitivanih uzoraka u odnosu na referentni

L^* - svjetlina boje ispitivanog uzorka u $L^*a^*b^*$ sustavu

a^* - parametar boje ispitivanog uzorka (crveno)

b^* - parametar boje ispitivanog uzorka (žuto)

L^*_{ref} - svjetlina boje referentnog uzorka (negranulirani rogač)

a^*_{ref} - parametar boje referentnog uzorka (crveno) (negranulirani rogač)

b^*_{ref} - parametar boje referentnog uzorka (žuto) (negranulirani rogač)

Ukupna razlika u boji čestica (ΔE) predstavlja kolorimetrijski parametar koji se intenzivno koristi za karakterizaciju varijacije boje u hrani tijekom obrade (Benković i sur., 2011).

3.4. Određivanje bioaktivnog profila napitaka na bazi rogača

3.4.1. Određivanje udjela ukupnih polifenola

Metoda se temelji na kolorimetrijskoj reakciji Folin-Ciocalteu reagensa s nekim reducirajućim reagensom kao što su fenoli. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfomolibdene i fosfovolframove kiseline koji reagira s fenoksid ionom pri čemu se fenoksid ion oksidira, a Folin-Ciocalteu reagens reducira do plavo obojenog molibdenovog i volframovog oksida (Singleton i sur., 1999a; Singleton i sur., 1999b). Nakon dva sata reakcije, u kojoj svi fenolni spojevi izreagiraju s Folin-Ciocalteu reagensom, spektrofotometrijski se odredi intenzitet nastalog plavog obojenja na 765 nm (Ough i

Amerine, 1988). Intenzitet obojenja direktno proporcionalan udjelu polifenolnih spojeva u ispitivanom uzorku (Singleton i Rossi, 1965).

U staklene epruvete otpipetira se 7,9 mL destilirane vode, 100 μ L uzorka, 500 μ L Folin-Ciocalteu reagensa (razrijediti vodom u omjeru 1:2) te 1,5 mL 20%-tne otopine natrijevog karbonata (Na_2CO_3) te se reakcijska smjesa u epruvetama dobro izmiješa. Tako pripremljeni uzorci ostave se stajati 2 sata na sobnoj temperaturi, nakon čega se mjeri apsorbancija razvijenog plavog obojenja na 765 nm, u odnosu na slijepu probu. Slijepa proba priprema se na isti način kao i uzorci koji se ispituju, samo umjesto 100 μ L uzorka sadrži isti volumen destilirane vode. Apsorbanciju slijepa probe potrebno je oduzeti od apsorbancije uzorka te se tako dobivena vrijednost koristi za izračunavanje konačnog rezultata. Mjerenje je provedeno u duplikatu, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti provedenih mjerenja s pripadajućim standardnim devijacijama.

Na osnovu jednadžbe baždarnog pravca, rezultati se izražavaju kao mg ekvivalenata galne kiseline (EGK)/L napitka.

$$y = 0,0010x - 0,0001 \quad [8]$$

3.4.2. Određivanje udjela ukupnih flavonoida i neflavonoida

Za taloženje flavonoidnih spojeva koristi se formaldehid koji reagira s C-6 ili C-8 na 5,7-dihidroksi flavonoidu stvarajući metilol derivate koji dalje reagiraju s drugim flavonoidnim spojem također na C-6 ili C-8 položaju itd. Kondenzirane molekule nastale ovom reakcijom uklone se filtriranjem, a ostatak neflavonoidnih fenola određuje se prema metodi za ukupne fenole (Ough i Amerine, 1988).

U eppendorf epruvete otpipetira se 0,5 mL uzorka, 250 μ L otopine klorovodične kiseline (razrijeđena s vodom 1:4) i 250 μ L formaldehida. Epruvete se zatvore, izmiješaju i ostave stajati 24 sata na mračnom i hladnom mjestu, nakon čega se u tako pripremljenim otopinama odredi udjel ukupnih neflavonoida, i to prema prethodno opisanom postupku određivanja ukupnih polifenola s Folin-Ciocalteu reagensom.

Udjel ukupnih neflavonoida izračunat je prema jednadžbi baždarnog pravca [8] korištenoj za izračun udjela ukupnih polifenola. Rezultati se izražavaju kao mg ekvivalenata galne kiseline (EGK)/L napitka.

Udjel ukupnih flavonoida izračunava se kao razlika udjela prethodno određenih ukupnih polifenola i neflavonoida prema formuli:

$$\text{ukupni flavonoidi} = \text{ukupni polifenoli} - \text{ukupni neflavonoidi} \quad [\text{mg EGK/L napitka}] \quad [9]$$

3.4.3. Određivanje udjela hidroksicimetnih kiselina

Određivanje hidroksicimetnih kiselina bazira se na reakciji kiselinske hidrolize koja je popraćena nastankom ružičasto-crvenkastog obojenja čiji se intenzitet određuje mjerenjem apsorbancije na 490 nm, pri čemu je udjel hidroksicimetnih kiselina direktno proporcionalan intenzitetu obojenja u ispitivanom uzorku (Matkowski i sur., 2008).

Za određivanje udjela hidroksicimetnih kiselina, 500 μ L uzorka pomiješa se u epruveti sa 1 mL 0,5 M klorovodične kiseline, 1 mL Arnov-og reagensa, 1 mL 8,5 %-tne vodene otopine NaOH te se doda 1,5 mL destilirane vode. Sadržaj epruvete se zatim izmiješa te se apsorbancija odmah zatim očita na 490 nm (Matkowski i sur., 2008). Slijepa proba umjesto uzorka sadrži destiliranu vodu. Mjerenje je provedeno u duplikatu, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti provedenih mjerenja s pripadajućim standardnim devijacijama.

Na osnovu jednadžbe baždarnog pravca, rezultati se izražavaju kao mg kafeinske kiseline (KK)/L napitka.

$$y = 0,0025x + 0,0054 \quad [10]$$

3.4.4. Određivanje udjela flavan-3-ola metodom s vanilinom

Metoda se temelji na reakciji vanilina (*p*-hidroksibenzaldehida) s alkoholnim skupinama na položajima C-6 i C-8 u molekulama flavan-3-ola, pri čemu nastaje crveno obojeni kompleks. Intenzitet crvenog obojenja, koji se određuje spektrofotometrijski, mjerenjem apsorbancije pri valnoj duljini od 500 nm, direktno je proporcionalan koncentraciji flavan-3-olnih monomera (katehina) i polimera (proantocijanidina) (Price i sur., 1978).

Pripremi se 4 %-tna otopina vanilina u metanolu. U tamnu epruvetu doda se 0,5 mL uzorka i 3 mL prethodno pripremljene otopine vanilina. Epruvete se stave u hladnu vodenu kupelj i nakon 5 minuta doda se 1,5 mL koncentrirane klorovodične kiseline te se reakcijska smjesa u epruveti izmiješa. Nakon 15 minuta očita se apsorbancija na 500 nm (Di Stefano i sur., 1989). Slijepa proba priprema se na isti način, posebno za svaki uzorak, ali se umjesto 4%-tne otopine vanilina dodaje čisti metanol. Mjerenje je provedeno u duplikatu, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti provedenih mjerenja s pripadajućim standardnim devijacijama.

Na osnovu jednadžbe baždarnog pravca, rezultati se izražavaju kao mg katehina/L napitka.

$$\text{mg (+)-katehina/L} = 290,8 \times \Delta A \times \text{razrijeđenje} \quad [11]$$

3.4.5. Određivanje udjela proantocijanidina metodom Bate-Smith

Ova metoda razvijena je modifikacijom metode po Bate–Smithu (1973), a temelji se na kiselinskoj hidrolizi polimernih molekula procijanidina s klorovodičnom kiselinom, pri čemu nastaju jednostavni cijanidini. Reakcija je popraćena nastankom crvenog obojenja čiji se intenzitet mjeri spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 550 nm (Porter i sur., 1986).

Pripreme se otopine *n*-butanol/HCl (95:5) i 2 % NH₄Fe(SO₄)₂ × 12 H₂O u 2 M HCl. 100 μL uzorka razrijeđenog 1:10 u 70 %-tnom acetonu otpipetira se u staklenu vialu, nakon čega se doda 2 mL otopine butanol/HCl i 100 μL 2 % NH₄Fe(SO₄)₂ × 12 H₂O u 2 M HCl-u. Suspenzija se dobro izmiješa te zagrijava 45 minuta na 95°C. Nakon zagrijavanja, smjesa se ohladi i očita se apsorbancija na 550 nm. Slijepa proba priprema se po istom postupku, ali umjesto uzorka sadrži 70 %-tni aceton. Mjerenje je provedeno u duplikatu, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti provedenih mjerenja s pripadajućim standardnim devijacijama.

Na osnovu jednadžbe baždarnog pravca, rezultati se izražavaju kao mg epikatehina/L napitka.

$$y = 0,00072x - 0,00068 \quad [12]$$

3.4.6. Određivanje udjela ukupnih tanina

Postupak određivanja bazira se na vezanju tanina na kazein (Rusak i sur., 1993). Potrebno je pripremiti 100 mL acetatnog pufera (pH=5,0) za koje je potrebno otopiti 2,88 g natrijevog acetata trihidrata u vodi i dodati 0,51 mL octene kiseline te nadopuniti do 100 mL. 1,5 mL uzorka pomiješa se sa 6 mL destilirane vode i dopuni sa 7,5 mL acetatnog pufera. Tako se dobije otopina O1. 10 mL otopine O1 miješa se sa 25 mg kazeina tijekom 60 min, pri čemu se vrši adsorpcija tanina, otopina se profiltrira te se tako dobije otopina O2. U 1 mL otopine O1 doda se 0,5 mL Folin-Ciocalteu reagensa i 8,5 mL 33 %-tne otopine natrijevog karbonata, reakcijska smjesa se dobro promiješa te se izmjeri apsorbancija razvijenog plavog obojenja pri 720 nm. Isti postupak ponovi se sa otopinom O2. Slijepa proba priprema se na isti način, ali se umjesto uzorka dodaje destilirana voda. Svaki uzorak priprema se u dvije paralelne probe (n = 2). Apsorbancija uzorka O1 odgovara udjelu ukupnih polifenola, dok razlika apsorbancija uzoraka O1 i O2 odgovara udjelu tanina (koji su vezani na kazein). Mjerenje je provedeno u duplikatu, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti provedenih mjerenja s pripadajućim standardnim devijacijama.

Na osnovu jednadžbe baždarnog pravca, rezultati se izražavaju kao mg taninske kiseline (TA)/L napitka.

$$y = 0,004x + 0,0294 \quad [13]$$

3.4.7. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom

Ova metoda temelji se na „gašenju“ plavo-zelenog radikal-kationa 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline) (ABTS radikal-kationa), koji se formira bilo kemijskom ili enzimskom oksidacijom otopine ABTS-a nekoliko sati prije analize. Za oksidaciju otopine ABTS-a koristi se otopina kalijevog persulfata, pri čemu se maksimum apsorbancije dostiže na valnim duljinama od 645 nm, 734 nm ili 815 nm. Dodatak antioksidansa rezultira redukcijom prethodno generiranog ABTS radikala, što uvelike ovisi o vremenu, i mjeri se praćenjem smanjenja apsorbancije ABTS radikala te se uspoređuje sa smanjenjem apsorbancije koju uzrokuje dodatak određene količine 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilne kiseline (Trolox), analoga vitamina E topljivog u vodi, pri istim uvjetima (Re i sur., 1999).

Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta uzoraka pripremi se otopina ABTS⁺ radikala, oksidacijom vodene otopine ABTS reagensa (7 mM) s kalijevim persulfatom (140 mM) do konačne koncentracije otopine kalijevog persulfata od 2,45 mM. Za pripremu ove otopine potrebno je pomiješati 88 µL otopine kalijevog persulfata (140 mM) te nadopuniti sa otopinom ABTS (7 mM) reagensa do volumena 5 mL. Budući da ABTS i kalijev persulfat reagiraju u stehiometrijskom odnosu 1:0,5, neće doći do potpune oksidacije te je stoga potrebno pripremljenu otopinu omotati folijom i ostaviti stajati preko noći (12-16 h) na sobnoj temperaturi. Na dan analize otopina se razrijedi etanolom (96%-tnim) do konačne koncentracije ABTS⁺ radikala od 1 %, tako da apsorbancija te otopine iznosi 0,70 ± 0,02.

Volumen od 40 µL uzorka pomiješa se s 4 mL otopine ABTS⁺ radikala u tamnoj epruveti te se izmjeri apsorbancija na 734 nm nakon točno 6 minuta. Prije mjerenja uzoraka potrebno je izmjeriti apsorbanciju slijepe probe koja se priprema tako da se, umjesto uzorka, 40 µL vode pomiješa s istom količinom reagensa (4 mL otopine ABTS⁺ radikala). Oduzimanjem apsorbancije uzorka od apsorbancije slijepe probe dobiva se vrijednost ΔA, koja se koristi za izračunavanje konačnog rezultata. Mjerenje je provedeno u duplikatu, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti provedenih mjerenja s pripadajućim standardnim devijacijama.

Na osnovu jednadžbe baždarnog pravca, rezultati se izražavaju kao mmol Trolox-a/L napitka.

$$y = 0,303x + 0,0006 \quad [14]$$

3.4.8. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom

Ova metoda određivanja antioksidacijskog kapaciteta temelji se na redukciji DPPH radikala (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) u metanolnoj otopini, koja je praćena kolorimetrijskom

reakcijom. DPPH radikal radi nesparenog elektrona pokazuje jaku apsorpciju u vidljivom dijelu spektra (515 nm). U prisutnosti elektron donora - AH (antioksidans koji gasi slobodne radikale) dolazi do sparivanja elektronskog para DPPH radikala te do promjene ljubičaste boje otopine u žutu, što se prati mjerenjem apsorbanije u opadanju (Brand-Williams i sur., 1995).

Pripremi se 0,094 mM otopina 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikala (DPPH) u metanolu. U tamnu epruvetu se otpipetira 100 µL uzorka i doda 3,9 mL otopine DPPH te se nakon 30 minuta po dodatku otopine DPPH mjeri apsorbanija pri 515 nm. U drugu epruvetu, koja predstavlja slijepu probu, umjesto uzorka doda se 100 µL metanola.

Oduzimanjem apsorbanije uzorka od apsorbanije slijepe probe dobiva se vrijednost ΔA , koja se koristi za izračunavanje konačnog rezultata. Mjerenje je provedeno u duplikatu, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti provedenih mjerenja s pripadajućim standardnim devijacijama.

Na osnovu jednadžbe baždarnog pravca, rezultati se izražavaju kao mmol Trolox-a/L napitka.

$$y = 0,603x - 0,006 \quad [15]$$

3.5. Senzorska analiza napitaka na bazi rogača

Senzorsku analizu napitaka na bazi rogača provelo je 10 educiranih ocjenjivača. Uzorci su pripremljeni na jednaki način kao i za eksperimentalni dio rada simulirajući uobičajeni način pripreme napitka u kućanstvu. 15 g uzorka preliveno je s 200 mL kipuće vode. Postupak je ponovljen i s mlijekom na način da je 15 g uzorka preliveno s 200 ml mlijeka zagrijanog na temperaturu od 80 °C. Uzorci su miješani 5 minuta staklenim štapićem. Svaki panelist dobio je 30 mL toplog (60 °C) napitka pripremljenog s vodom i mlijekom te 30 mL tople (60 °C) vode za ispiranje usne šupljine između probavanja uzoraka.

Kvantitativno-deskriptivnom analizom ocjenjivali su se miris (kava, karamela, pržene žitarice), okus (kava, karamela, pržene žitarice, slatkoća i gorčina) i ostali atributi važni za senzorsku analizu napitaka, kao što su opća prihvatljivost, prepoznatljivost rogača, punoća okusa, naknadni okus, izgled i boja. Svaki od nabrojanih atributa ocijenjen je korištenjem skale intenziteta od 1 do 9, gdje se 1 odnosilo na slabo izraženo svojstvo, a 9 na jako izraženo svojstvo.

Lista ocjenjivanih atributa sastavljena je prema literaturi i međusobnim dogovorom panelista o prepoznatim atributima ocjenjivanih uzoraka.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je pripremiti praškaste mješavine namijenjene pripremi napitaka na bazi rogača, uz dodatak inkapsuliranog biljnog ekstrakta maslačka. Inkapsulacija vodenog polifenolnog maslačka provedena je metodom ionskog geliranja, dok su praškaste mješavine pripremljene postupkom mokrog granuliranja u fluidiziranom sloju.

Dobivenim praškastim mješavinama na bazi rogača određene su fizikalno-kemijske karakteristike poput veličine čestica (Tablica 5), udjela vode, topljivosti i disperzibilnosti (Tablica 6), karakteristika tečenja prahova (Tablica 7), močivosti (Slika 4 i 5) te su ispitani parametri boje (Tablica 8).

U svrhu ispitivanja bioaktivnog profila napitci na bazi rogača pripremljeni su s vodom i mlijekom, pri čemu im je spektrofotometrijskim metodama određen udjel ukupnih polifenola, flavonoida i neflavonoida (Slika 6), hidroksicimetnih kiselina (Slika 7), flavan-3-ola (Slika 8), proantocijanidina (Slika 9) i ukupnih tanina (Slika 10). Antioksidacijski kapacitet ispitan je primjenom ABTS i DPPH metoda te prikazan na slici 11.

Provedena je i senzorska analiza napitaka na bazi rogača metodom kvantitativno-deskriptivne analize te je ista prikazana na slikama 12-14.

Također, ispitan je utjecaj postupka granuliranja i dodatka lecitina u praškaste mješavine na ispitivane parametre, te je naglasak stavljen na utjecaj dodatka inkapsuliranog ekstrakta maslačka u ispitivanu frakciju rogača.

Opis korištenih oznaka uzoraka koje su korištene na slikama i grafovima opisane su u poglavlju 3.2.3.

4.1. Određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika praškastih mješavina na bazi rogača

4.1.1. Određivanje veličine čestica

Tablica 5. Veličina čestica praškastih mješavina na bazi rogača određena prema % čestica zaostalih na sitima različite veličine pora

Veličina pora na situ za prosijavanje	% čestica zaostalih na situ			
	R	gr R	gr R_L	gr R_Lč
1,25 mm	-	30,28	0,45	5,53
1,12 mm	0,01	9,91	0,40	3,64
1,00 mm	0,02	8,49	1,16	4,70
900 µm	-	4,19	1,69	1,77
710 µm	-	6,00	16,21	7,39
355 µm	5,05	4,74	60,98	55,06
180 µm	94,09	34,10	15,05	26,88
125 µm	0,83	1,94	1,80	4,24
< 125 µm	0,03	0,63	2,56	1,99

Veličina čestica svih uzoraka određena je granulometrijskom metodom, budući da je takva metoda jednostavna, lako ponovljiva i jeftina. Prosijavanjem kroz kolonu sita određen je % čestica zaostalih na situ. Iz dobivenih rezultata prikazanih u Tablici 5. može se zaključiti da je u uzorku R gotovo 95 % čestica veličine $>180 \mu\text{m}$ $<355 \mu\text{m}$, što je i očekivano budući da je u postupak granuliranja ulazila upravo usitnjena i prosijana frakcija rogača veličine čestica $>180 \mu\text{m}$ $<355 \mu\text{m}$. Kod granuliranih uzoraka, vidljivo je da se udjel te frakcije smanjio, što ukazuje da je došlo do stvaranje aglomerata veličine veće od veličine polaznih čestica. U uzorku gr R, najveći udjel čestica bio je veličine $>180 \mu\text{m}$ $<355 \mu\text{m}$ (34,10 %) i veličine $>1,25 \mu\text{m}$ (30,28 %). Ovakva neuniformna raspodjela veličine čestica i dalje visok % frakcije $>180 \mu\text{m}$ $<355 \mu\text{m}$ rezultat je provedenog granuliranja bez dodatka lecitina, čija uloga je i vezanje manjih čestica u veće nakupine, tvoreći pri tome aglomerate čija veličina nadilazi veličinu čestica od kojih je sastavljen.

U uzorku gr R_L najveći udio čestica bio je veličine $> 355 \mu\text{m}$ $< 710 \mu\text{m}$ (60,98 %), kao i u uzorku gr R_Lč (55,06 %).

4.1.2. Određivanje udjela vode, topljivosti i disperzibilnosti

Tablica 6. Udjel vode, topljivost i disperzibilnost praškastih mješavina na bazi rogača

Uzorak	Udjel vode (%)	Topljivost (%)	Disperzibilnost (%)
R	7,12 ± 0,06	5,15 ± 0,01	50,57 ± 1,26
gr R	6,98 ± 0,01	5,48 ± 0,00	50,21 ± 0,51
gr R_L	5,55 ± 0,04	5,49 ± 0,01	56,28 ± 0,96
gr R_Lč	5,49 ± 0,18	5,32 ± 0,02	52,03 ± 0,01

Udjel vode u ispitivanim uzorcima prikazan je u Tablici 6. Najviši udjel vode sadržavao je čisti rogač (7,12 %). U odnosu na uzorak čistog rogača, granulirani uzorci sadržavali su niži udjel vode, budući da su dobiveni postupkom granuliranja koja se provodila pri temperaturi od 50 °C prilikom čega je došlo do isparavanja vode. Najniži udjel vode imali su uzorci gr R_L (5,55 ± 0,04 %) i gr R_Lč (5,49 ± 0,18 %) jer su u recepturi imali i veći udjel suhe mase sirovina (lecitin i liofilizirane inkapsulirane čestice).

Topljivost i disperzibilnost koriste se kao parametri za karakterizaciju instant proizvoda. Topljivost je važan parametar kod konzumacije proizvoda jer utječe na senzorska svojstva i samu percepciju okusa, dok disperzibilnost utječe na izgled prehrambenih proizvoda (Shittu i Lawal, 2007). Uspoređujući parametar topljivosti, najmanje topljiv bio je uzorak R, a očekivano veći % topljivosti imali su uzorci koji su bili podvrgnuti postupku granuliranja. U postupku granuliranja u fluidiziranom sloju kao baza koristio se šećer maltodekstrin, što se odrazilo na povećanje topljivosti uzoraka gr R, gr R_L i gr R_Lč. Šećer u prehrambenoj industriji predstavlja najtopljiviju komponentu (Shittu i Lawal, 2007) pa je za očekivati da će dodatak šećera imati učinak na povećanje topljivosti navedenih uzoraka. Također, topljiviji su bili uzorci pripremljeni s lecitinom, budući da je lecitin dodan u svrhu poboljšanja topljivosti granuliranih proizvoda. Pri tome, najtopljiviji uzorak bio je gr R_L (5,49 %). Isti trend uočen je i u radu Belščak Cvitanović i suradnika (2010), gdje je topljivost kakaovog praha iznosila 2,12 %, a praškastih mješavina na bazi kakaovog praha s dodatkom zaslađivača inulina je također bila vrlo niska (5,53 %).

Također, dodatkom lecitina, površinski aktivne tvari koja služi kao vezivno sredstvo i uzrokuje povećanje poroznosti čestica, utjecalo se i na poboljšanje disperzibilnosti uzorka (Saurabh i Garima, 2010). Iz dobivenih rezultata je vidljivo da je i ovdje uzorak gr R_L najdisperzibilniji (56,28 ± 0,96 %). Iako je prilikom pripreme uzorka gr R_Lč u sustav dodan lecitin, uzorak gr R_Lč pokazuje nešto nižu vrijednost disperzibilnosti (52,03 ± 0,01 %) što

se pripisuje prisustvu čestica i kakaovog praha koji se nalazio u sustavu alginatnog nosača u kojem je bio inkapsuliran ekstrakt maslačka. Prema tvrdnjama Abdelaziza i sur. (2014) kakaov prah je slabo disperzibilan pa time neznatno utječe na smanjenu disperzibilnost uzorka. Očekivano, uzorci R i gr R imali su niže vrijednosti disperzibilnosti jer kod njihove pripreme lecitin nije bio dodan u sustav.

Jedan od ciljeva aglomeracije je poboljšanje karakteristika nastalih aglomerata kao što su topljivost i disperzibilnost (Dewettinck i Huyghebaert, 1998; Teunou i Poncet, 2002), što se pokazalo i u ovom radu.

4.1.3. Određivanje karakteristika tečenja prahova

Tablica 7. Svojstva tečenja praškastih mješavina na bazi rogača

SVOJSTVA TEČENJA PRAHOVA					
Uzorak	Nasipna gustoća (g/cm ³)	Carr indeks	HR	Indeks kohezije (CI)	Prosječna snaga kolača (g)
R	0,703 ± 0,01	3,39 ± 0,06	1,03 ± 0,01	9,38 ± 0,07	38,12 ± 3,15
gr R	0,656 ± 0,04	4,64 ± 1,42	1,01 ± 0,05	9,03 ± 0,26	150,80 ± 1,07
gr R_L	0,650 ± 0,03	3,03 ± 0,00	0,96 ± 0,05	8,78 ± 0,11	31,77 ± 2,04
gr R_Lč	0,571 ± 0,02	11,76 ± 1,76	1,11 ± 0,04	7,96 ± 0,06	18,72 ± 2,84

U ovom radu karakteristike tečenja praškastih mješavina na bazi rogača određene su pomoću više metoda, pri čemu su iste bile međusobno uspoređene.

Uspoređujući parametar nasipne gustoće, najvišu nasipnu gustoću pokazuje uzorak R (0,703 g/cm³), dok gr R_Lč pokazuje najnižu (0,571 g/cm³).

Uspoređujući svojstva tečenja prema Carr indeksu, najvišu vrijednost pokazuje uzorak gr R_Lč (11,76), a najnižu gr R_L (3,03). Prema klasifikaciji opisanoj u poglavlju 3.3.5. u Tablici 3. svi uzorci spadaju u kategoriju prahova vrlo dobre tecivosti.

Kod određivanja Hausner-ovog omjera (HR), najvišu vrijednost kohezivnosti također pokazuje uzorak gr R_Lč (1,11), a najnižu gr R_L (0,96). Prema klasifikaciji prikazanoj u poglavlju 3.3.5. u Tablici 4. svi uzorci spadaju u kategoriju niske kohezivnosti što se podudara s rezultatima prethode metode.

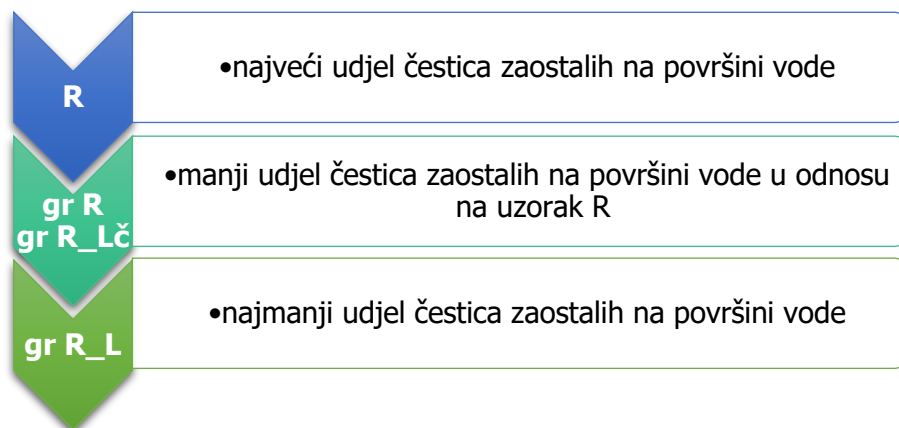
Prema Abdullahu i Geldartu (1999), čestice koje imaju veću nasipnu gustoću trebale bi pokazivati viši indeks kohezije što je potvrđeno i u ovom radu. Najviši indeks kohezije

pokazuje uzorak R (9,38), a najniži gr R_Lč (7,96). Iako je raspon vrijednosti između 7,96-9,38, svi uzorci spadaju u slobodno tecive prahove prema klasifikaciji opisanoj u poglavlju 3.3.6., budući da uzorci imaju vrijednost $CI \leq 11$. Ovi rezultati također se podudaraju s rezultatima prijašnjih metoda. Svojstvo tečenja povezano je i s veličinom čestica. Prema Frizpacku (2005), kohezivnost čestica se povećava smanjenjem veličine čestica zahvaljujući ponajviše Van der Waalsovima silama koje se očituju na molekularnoj razini uzrokujući polarizaciju atoma i molekula što rezultira snažnijim međusobnim privlačenjem atoma na površini čestica. Što je manja veličina čestica, veća je površina pa je i površinsko privlačenje čestica po jedinici mase praha jače. U ovom radu niska vrijednost indeksa kohezije uzoraka može se pripisati podvrgavanju uzoraka postupku granuliranja u fluidiziranom sloju pri čemu su se uslijed vlaženja čestica te dodatka lecitina i vezivnog sredstva manje čestice formirale u veće nakupine tvoreći aglomerate veličine $>180 \mu\text{m}$.

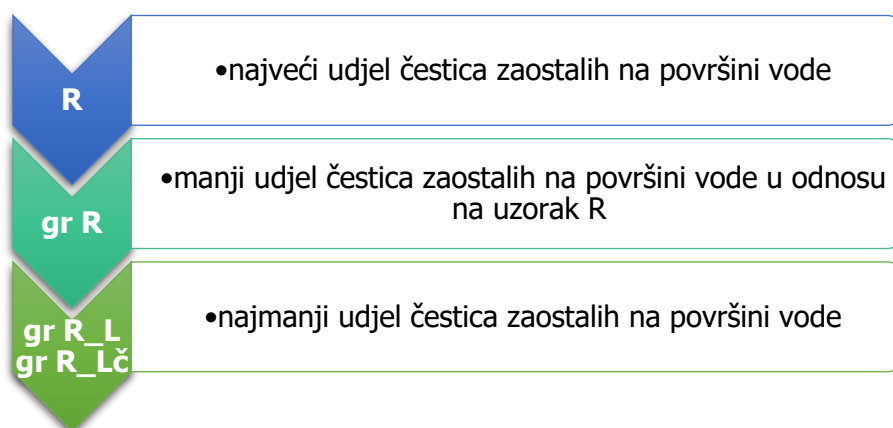
Svojstvo sposobnosti stvaranja kolača je tendencija čestica praha da formiraju velike aglomerate što je važno tijekom skladištenja i transporta (Benković i sur., 2011). Uvidom u rezultate može se zaključiti da svi uzorci pokazuju minimalnu tendenciju stvaranja čvrstog kolača. Uspoređujući uzorke, najveću prosječnu snagu stvaranja kolača imao je uzorak gr R (150,80), dok je najnižu prosječnu snagu stvaranja kolača imao granulirani uzorak obogaćen česticama (gr R_Lč - 18,72). Uzorci R (38,12) i gr R_L (31,77) imaju višu prosječnu snagu stvaranja kolača od uzorka gr R_Lč, odnosno posjeduju još nižu tendenciju stvaranja čvrstog kolača od uzorka gr R. Prema istraživanju Benković i suradnika (2011) uzorci koji su slabo kohezivni teže formiranju aglomerata, odnosno imaju nisku prosječnu snagu stvaranja kolača, što su potvrdili rezultati ovog rada.

Svi uzorci su slabe kohezivnosti te pokazuju dobra svojstva tečenja pa time ne pokazuju veliku sklonost stvaranju kolača.

4.1.4. Određivanje močivosti



Slika 4. Rezultati močivosti u uzorcima praškastih mješavina na bazi rogača pripremljenih s vodom sobne temperature



Slika 5. Rezultati močivosti u uzorcima praškastih mješavina na bazi rogača pripremljenih s vodom temperature 80 °C

Uspoređujući rezultate za određivanje močivosti, može se zaključiti kako među svim ispitivanim uzorcima i nakon 48 h nije došlo do značajnog „potapanja“ čestica pripremljenih praškastih mješavina, što je rezultat njihove veličine čestica. Kod uzorka pripremljenih s hladnom vodom, najmanji udjel čestica zaostalih na površini vode nakon 48 h primjećen je kod uzorka gr R_L, dok je kod pripreme s toplom vodom isto određeno u uzorku gr R_L, ali i gr R_{Lč}. Kod uzorka gr R_{Lč} viša temperatura vode vjerojatno je pridonijela „potapanju“ inkapsuliranih čestica, koje su suprotno u uzorku s hladnom vodom više zaostale na površini. U istraživanju koje su proveli Hla i Hoge Kamp (1999) dokazano je da se smanjenjem veličine čestica kakaovog praha, povećava vrijeme močenja. Autori su zaključili da je kritična veličina čestica 180 μm te da će sve čestice koje su manje od te veličine čestica vrlo teško „potonuti“.

Također, dokazali su da se vrijeme močenja povećalo tri puta u odnosu na vrijeme močenja svježeg proizvoda zbog neadekvatnog skladištenja uzoraka nakon otvaranja prilikom čega su uzorci bili izloženi utjecaju okoline. U ovom radu analizirani uzorci nisu držani u hermetičkim uvjetima čime se utjecalo na produljenje vremena močenja.

4.1.5. Određivanje parametara boje

Tablica 8. Parametri boje praškastih mješavina na bazi rogača

Uzorak	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
R	46,86 ± 0,12	9,81 ± 0,07	24,04 ± 0,24	-
gr R	49,49 ± 0,33	8,30 ± 0,08	23,10 ± 0,23	3,20 ± 0,20
gr R_L	54,63 ± 0,26	7,36 ± 0,08	22,20 ± 0,07	8,35 ± 0,27
gr R_Lč	50,24 ± 1,51	7,71 ± 0,41	21,84 ± 0,25	4,63 ± 1,32

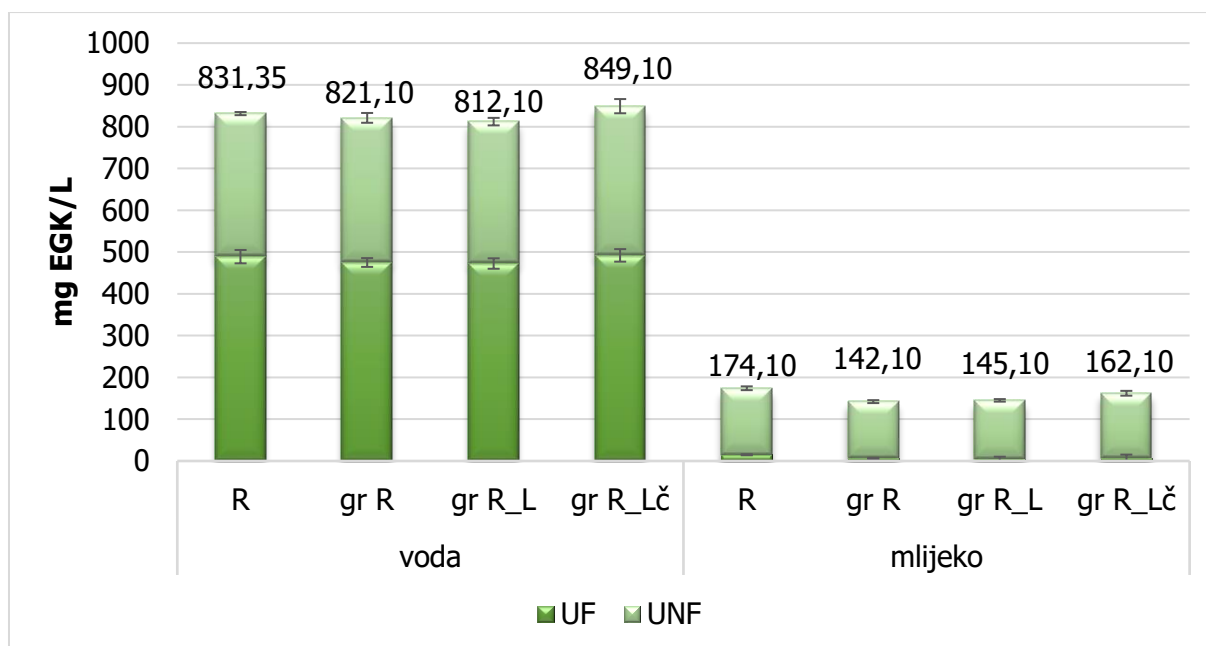
Podaci o izmjerenim parametrima boje praškastih mješavina na bazi rogača nalaze se u Tablici 8. Uvidom u rezultate za svjetlinu praškastih mješavina, može se zaključiti da je uzorak rogača (R) koji nije podvrgnut procesu granuliranja bio najtamniji budući da je imao najnižu L^* vrijednost (46,86), dok su svi granulirani uzorci bili svjetliji. Također, vidljivo je da je dodatak lecitina u sustav rezultirao dobivanjem prahova svjetlije boje (gr R_L - 54,63 i gr R_Lč - 50,24). Promjena svjetline je očekivana jer se postupkom granuliranja dodaje određeni udjel vode te se potom vrši sušenje pri povišenoj temperaturi što dovodi do diskoloracije uzorka, što je potvrđeno u istraživanju Benković i Bauman (2011). Autori su dokazali da je došlo do diskoloracije kakaovog praha uslijed fluktuacije temperature prilikom provedbe granuliranja prilikom čega je kakaov prah s 16-18 % masti posvijetlio.

Najviše a^* i b^* vrijednosti, odnosno najjače izraženo crveno i žuto obojenje pokazao je referentni uzorak R, budući da je ovaj uzorak bio i najtamniji. Uspoređujući granulirane uzorke, najvišu a^* vrijednost (crveno obojenje) i najvišu vrijednost b^* parametra (žuto obojenje) pokazuje uzorak gr R.

U odnosu na referentni uzorak R, najveća ukupna promjena boje određena je kod uzorka gr R_L (8,35), budući da je taj uzorak imao najveću L^* vrijednost svjetline te najmanju a^* vrijednost. Najmanja promjena boje je evidentirana kod granuliranog uzorka bez lecitina (gr R - 3,20).

4.2. Određivanje bioaktivnog profila napitaka na bazi rogača

4.2.1. Određivanje udjela ukupnih polifenola, ukupnih flavonoida i neflavonoida



Slika 6. Udjel ukupnih polifenola (mg EGK/L) izražen kao suma udjela ukupnih flavonoida i ukupnih neflavonoida u napitcima na bazi rogača pripremljenih s vodom i mlijekom

Na slici 6. prikazan je udjel ukupnih polifenola, izražen kao suma ukupnih flavonoida i ukupnih neflavonoida u napitcima na bazi rogača pripremljenih s vodom i mlijekom.

Uspoređujući udjel ukupnih flavonoida (UF) u uzorcima pripremljenim s vodom, najveći udjel od 492,00 mg EGK/L sadržavao je uzorak gr R_Lč, dok su nešto niži udjel sadržavali uzorci R (489,00 mg EGK/L) i gr R (475,00 mg EGK/L). Najmanji udjel flavonoida (472,50 mg EGK/L) imao je uzorak gr R_L. Sljedeći trend flavonoida, najveći udio neflavonoida (UNF) određen je u uzorku gr R_Lč (357,10 mg EGK/L), a najmanji u gr R_L (339,60 mg EGK/L).

Kod uzoraka pripremljenih s vodom, najveći udjel ukupnih polifenola imao je granulirani uzorak rogač obogaćen česticama s inkapsuliranim ekstraktom maslačka (849,10 mg EGK/L), dok je najmanji udjel polifenola detektiran u uzorku gr R_L (812,10 mg EGK/L). Očekivano, uzorak gr R_Lč imao je najveći udjel polifenola što je rezultat obogaćivanja tog uzorka inkapsuliranim ekstraktom maslačka bogatog polifenolnim spojevima. Također, budući da su polifenolni spojevi maslačka inkapsulirani u alginatni nosač s kakaovim prahom, moguće je i da se jedan dio polifenola kakaovog praha ekstrahirao prilikom pripreme uzorka, što je u nekoj mjeri doprinijelo ukupnom očitom udjelu polifenola uzorka gr R_Lč. Uzorak R, koji

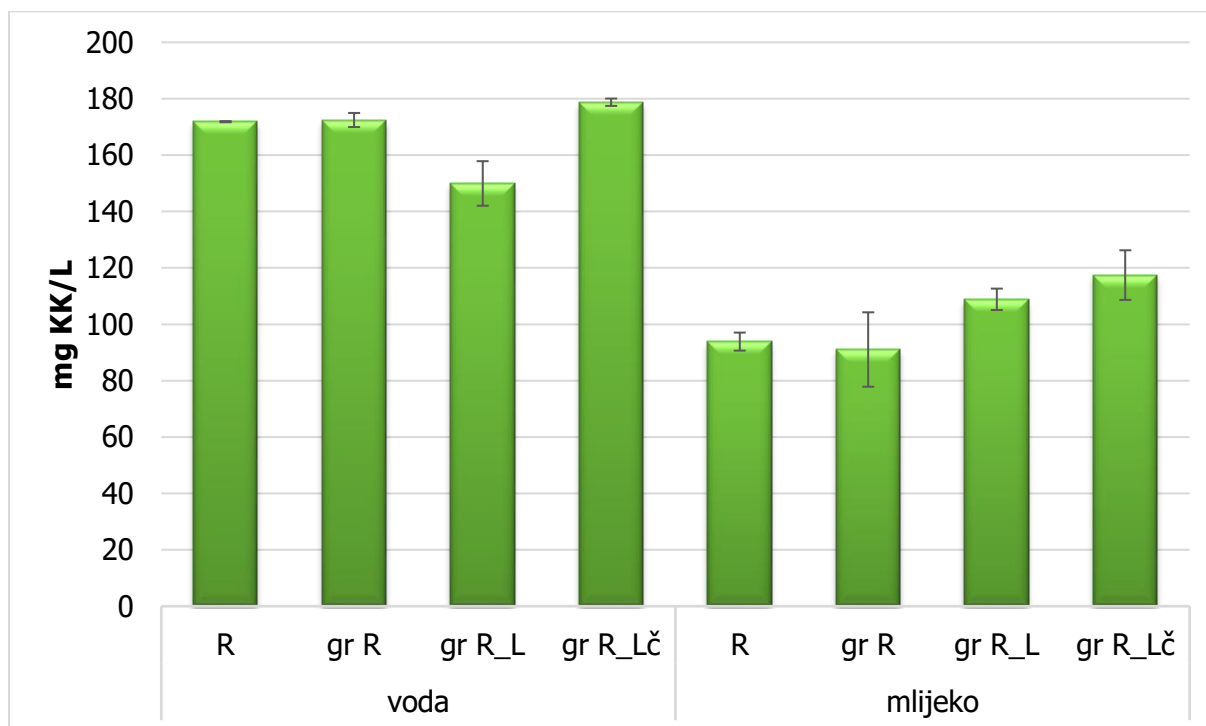
nije bio podvrgnut procesu granuliranja, imao je veći udjel ukupnih polifenola u odnosu na granulirane uzorke gr R i gr R_L, jer je najvjerojatnije došlo do degradacije jednog dijela polifenola manje otpornog na povišene temperature prilikom procesa granuliranja, gdje je ulazna temperatura iznosila 50 °C. Najmanji udjel ukupnih polifenola sadržavao je uzorak gr R_L što se može pripisati utjecaju sojinog lecitina koji je dodan prilikom procesa granuliranja. Lecitin je bipolarni emulgator koji se dodaje u prehrambene proizvode jer utječe na kvalitetu, trajnost i homogenost proizvoda. Bipolarni karakter lecitina očituje se topljivošću jednog dijela molekule u ulju, a drugog dijela u vodi, pa se na neki način stvara zaštitni sloj među fazama, smanjuje površinska napetost i uvjetuje stabilnost prehrambenog proizvoda (Weyland i Hartel, 2008). Zahvaljujući polarnim grupama lecitina na koje se vežu hidrofilni antioksidansi, polifenolni spojevi ostaju zarobljeni unutar kompleksa s polarnom grupom lecitina što u krajnosti rezultira smanjenjem udjela polifenolnih spojeva, čime se mogu objasniti rezultati dobiveni u ovom radu. Ova konstatacija potvrđena je i u radu Koprivnjak i suradnika (2008), gdje su autori dodatkom lecitina u ulje odredili smanjen udio ukupnih polifenola, kao i antioksidacijskog kapaciteta. Autori su dodavali sojin lecitin u različitim koncentracijama u ulje te su primijetili da se udjel ukupnih polifenola smanjio za 3-4 puta u odnosu na čisto ulje u koje sojin lecitin nije bio dodan (s 525 mg EGK/kg na 125 mg EGK/kg). U istraživanju koje su proveli Hussein i suradnici (2011) udjel ukupnih polifenola u biljnoj infuziji na bazi rogača iznosio je 993,09 mg galne kiseline/100 mL. Puno viši udjel ukupnih polifenola od udjela ukupnih polifenola određenih u ovom radu može se pripisati različitom podrijetlu rogača, odnosno regiji uzgoja pri različitim klimatskim uvjetima, varijetetu analiziranog rogača.

Uspoređujući podatke o udjelu ukupnih flavonoida, može se zaključiti kako je najveći udjel ukupnih flavonoida kod uzoraka pripremljenih s mlijekom sadržavao uzorak R (15,00 mg EGK/L), a najmanji udjel uzorak gr R_L (3,50 mg EGK/L). Uzorak gr R sadrži 6,00 mg EKG/L, a uzorak gr R_Lč 7,00 mg EGK/L ukupnih flavonoida. Uzorak R, kao i kod ukupnih flavonoida, također sadrži najveći udjel ukupnih neflavonoida (159,10 mg EGK/L). U ovom slučaju najniži udjel ukupnih neflavonoida imao je uzorak gr R (136,10 mg EGK/L).

Kod uzoraka pripremljenih s mlijekom, najveći udjel ukupnih polifenola određen je u uzorku R (174,10 mg EGK/L), a najmanji u uzorku gr R (142,10 mg EGK/L). Najveći udjel ukupnih polifenola opet sadrži uzorak R zbog degradacije pojedinih polifenolnih spojeva uslijed provedbe procesa granuliranja. Međutim, kod uzoraka s mlijekom, uzorci gr R_L i gr R_Lč (pripremljeni s lecitinom) sadrže veći udjel ukupnih polifenola od uzorka gr R (bez lecitina), što se može pripisati sinergitičkom učinku između fosfolipida lecitina i lipofilnih antioksidansa prirodno prisutnih u mlijeku, što na kraju dovodi do povećanja udjela ukupnih polifenola.

Uvidom u rezultate, može se vidjeti da uzorci pripremljeni s vodom sadrže znatno veći udjel ukupnih polifenola u odnosu na uzorke pripremljene s mlijekom. Jedan od mogućih razloga je što uslijed pripreme napitaka s mlijekom može doći do interakcija između polifenolnih spojeva i proteina mlijeka, što rezultira smanjenjem raspoloživosti bioaktivnih komponenti, a posljedično i smanjenjem udjela ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta. Ovo potvrđuju i mnogi modeli razvijeni od strane različitih autora koji smatraju da se formiranje polifenol-protein kompleksa bazira na slabim interakcijama između polifenolnog aromatskog prstena i bočnog lanca aminokiseline, indicirajući kako je asocijacija polifenola i proteina površinski fenomen (Von Staszevski i sur., 2011). Istraživanje Komes i suradnika (2015) također je pokazalo da napitci kavovina pripremljeni s vodom sadrže znatno veći udjel ukupnih polifenola od kavovina pripremljenih s mlijekom, te da se povećanjem udjela mlijeka prilikom pripreme smanjivao ukupni udjel polifenola. Ovi rezultati u skladu su s rezultatima dobivenim u ovom radu.

4.2.2. Određivanje udjela hidroksicimetnih kiselina



Slika 7. Udjel ukupnih hidroksicimetnih kiselina (mg KK/L) u napitcima na bazi rogača pripremljenih s vodom i mlijekom

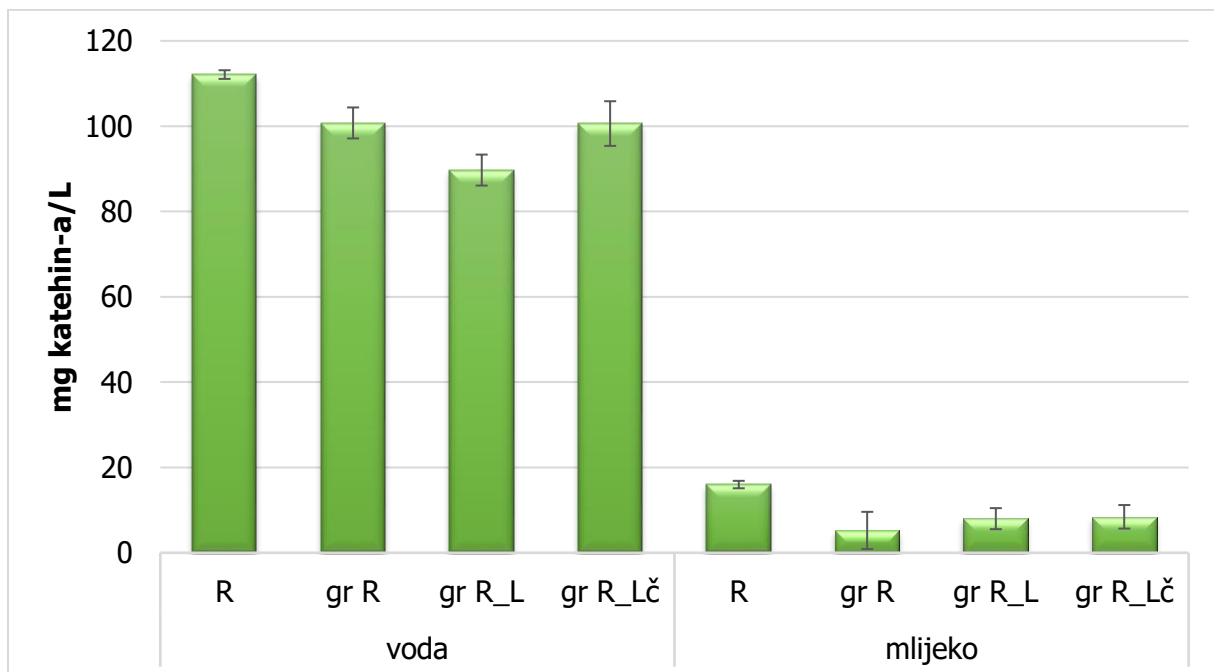
Uvidom u rezultate prikazane na slici 7. može se uočiti da je najveći udjel ukupnih hidroksicimetnih kiselina kod uzoraka pripremljenih s vodom imao uzorak gr R_Lč (178,74

mg KK/L), praćen s uzorkom gr R (172,44 mg KK/L) > R (171,84 mg KK/L) > gr R_L (149,94 mg KK/L). Uzorak gr R_Lč očekivano sadrži najveći udio hidroksicimetnih kiselina jer je prethodno obogaćen inkapsuliranim ekstraktom maslačka koji je bogat polifenolnim spojevima, posebice hidroksicimetnim kiselinama. Čikorinska kiselina je najzastupljenija kiselina lista maslačka iz skupine hidroksicimetnih kiselina, a osim čikorinske, maslačak u svom sastavu sadrži još klorogensku i kafeinsku kiselinu (González-Castejón i sur., 2012). Povećanom udjelu hidroksicimetnih kiselina doprinosi i udjel hidroksicimetnih kiselina prisutnih u kakaovom prahu koji je korišten u sustavu alginatnih nosača (Wollgast i Anklam, 2000).

Među uzorcima pripremljenim s mlijekom, uzorak gr R_Lč (117,44 mg KK/L) sadrži najveći udjel hidroksicimetnih kiselina, kao i kod uzoraka pripremljenih s vodom.

I ovdje, u odnosu na uzorke pripremljene s vodom, uzorci pripremljeni s mlijekom sadrže niži udjel hidroksicimetnih kiselina. Taj učinak se također može pripisati interakcijama hidroksicimetnih kiselina i proteina mlijeka te tvorbi kompleksa čime se smanjuje njihova bioraspodjelivost.

4.2.3. Određivanje udjela flavan-3-ola



Slika 8. Udjela flavan-3-ola (mg katehin-a/L) u napitcima na bazi rogača pripremljenih s vodom i mlijekom

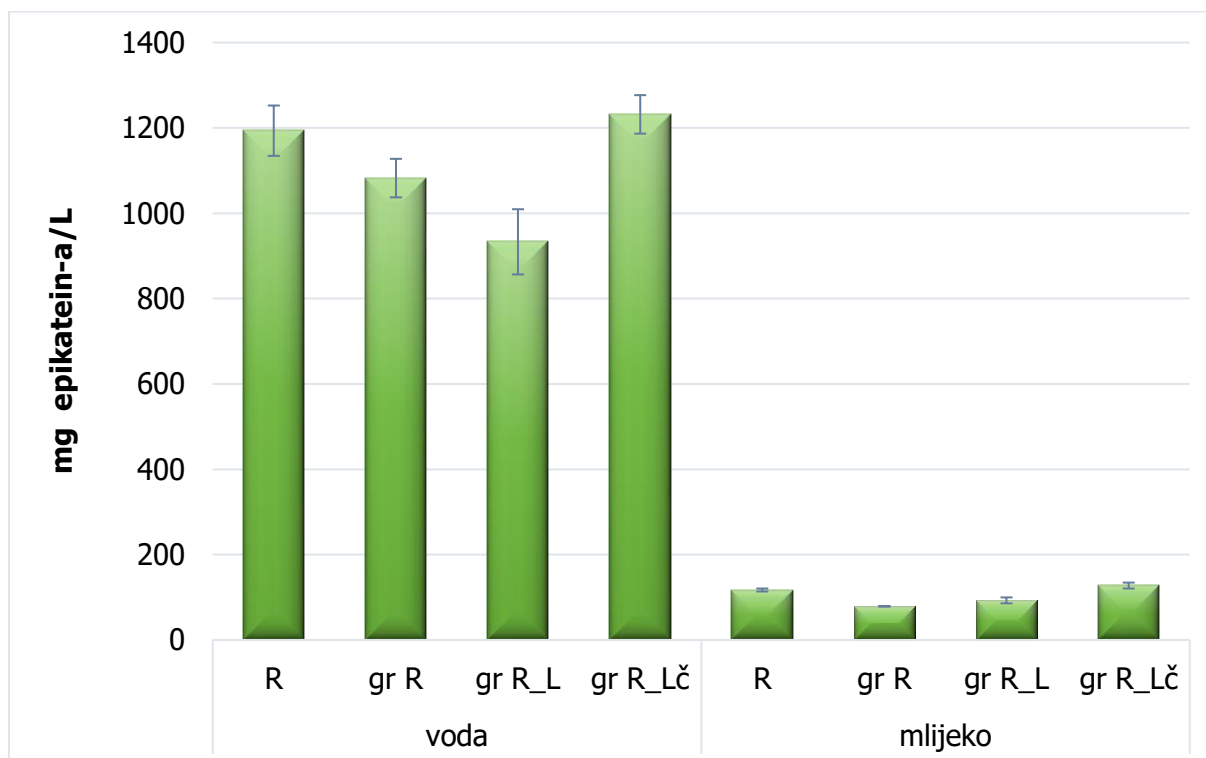
Prema rezultatima prikazanim na slici 8. može se zaključiti kako je najveći udjel flavan-3-ola među uzorcima pripremljenim s vodom određen u uzorku R (112,10 mg katehin-

a/L). Kod ostalih uzoraka (gr R - 100,76 mg katehin-a/L ; gr R_Lč - 100,62 mg katehin-a/L ; gr R_L - 89,71 mg katehin-a/L) udjel flavan-3-ola je niži zbog degradacije flavan-3-ola osjetljivih na povišenu temperaturu korištenu u postupku granuliranja u fluidiziranom sloju.

Isti trend uočen je i kod uzoraka pripremljenih s mlijekom. Najveći udjel flavan-3-ola određen je u uzorku R (15,99 mg katehin-a/L), a zatim slijede granulirani uzorci gr R_Lč (8,43 mg katehin-a/L) > gr R_L (8,00 mg katehin-a/L) > gr R (5,23 mg katehin-a/L).

Kao i kod određivanja udjela ukupnih polifenola i udjela hidroksicimetnih kiselina, uočeno je da je kod uzoraka pripremljenih s mlijekom udjel flavan-3-ola niži u odnosu na iste pripremljene s vodom, što je opet posljedica stvaranja kompleksa između flavan-3-ola i proteina mlijeka kako je opisano u prijašnjim poglavljima.

4.2.4. Određivanje udjela proantocijanidina



Slika 9. Određivanje udjela proantocijanidina (mg epikatehin-a/L) u napitcima na bazi rogača pripremljenih s vodom i s mlijekom

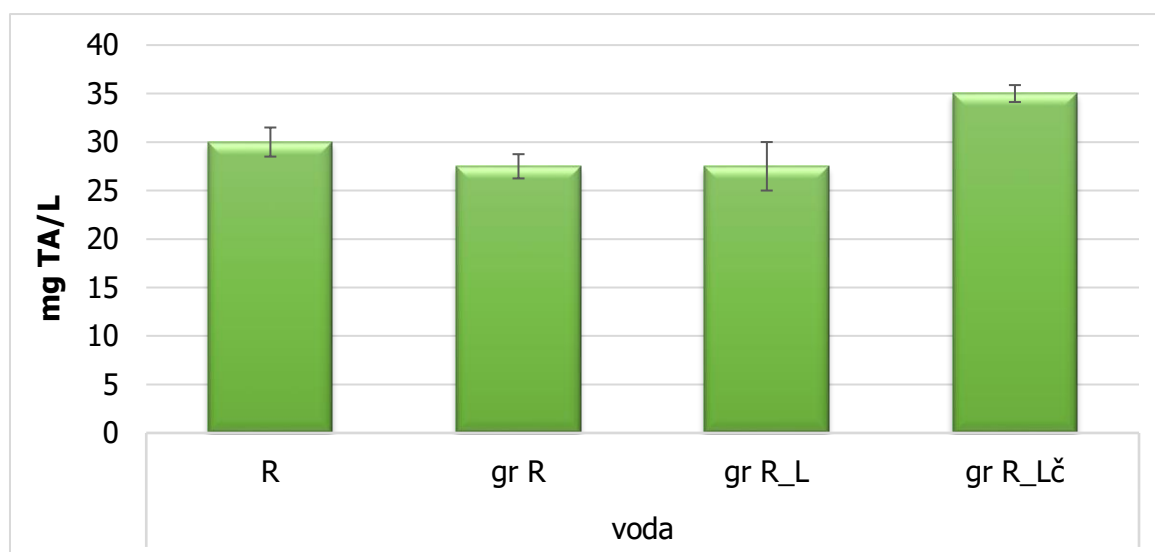
Uvidom u rezultate prikazane na slici 9. može se zaključiti kako je najveći udjel proantocijanidina kod uzoraka pripremljenih s vodom detektiran u uzorku gr R_Lč (1231,67 mg epikatehin-a/L). Uzorak gr R_Lč pokazuje više vrijednosti ukupnih proantocijanidina nego uzorak R (1193,47 mg epikatehin-a/L), a najviše zahvaljujući dodatku kakaovog praha koji je

korišten u sustavu alginatnih nosača za inkapsulaciju ekstrakta maslačka, koji u svom sastavu sadrži i do 58 % ukupnog udjela proantocijanidina (Wollgast i Anklam, 2000). Kod ostalih granuliranih uzoraka gr R (1082,36 mg epikatehin-a/L) i gr R_L (933,06 mg epikatehin-a/L) detektiran je nešto niži udjel proantocijanidina budući da su uzorci bili podvrgnuti postupku granuliranja te je vrlo vjerojatno došlo do degradacije proantocijanidina osjetljivih na povišene temperature.

Isti trend uočen je i kod uzoraka pripremljenih s mlijekom gdje je najveći udjel proantocijanidina imao uzorak gr R_Lč s 127,50 mg epikatehin-a/L, a zatim slijede R (117,08 mg epikatehin-a/L) > gr R_L (92,78 mg epikatehin-a/L) > gr R (78,89 mg epikatehin-a/L).

Kao i kod dosadašnjih rezultata, uzorci pripremljeni s mlijekom sadrže znatno manji udjel ukupnih proantocijanidina, a razlog tome je stvaranje kompleksa između bioaktivnih komponenti uzoraka i proteina mlijeka čime se smanjuje bioraspoloživost analizirane bioaktivne komponente.

4.2.5. Određivanje udjela tanina



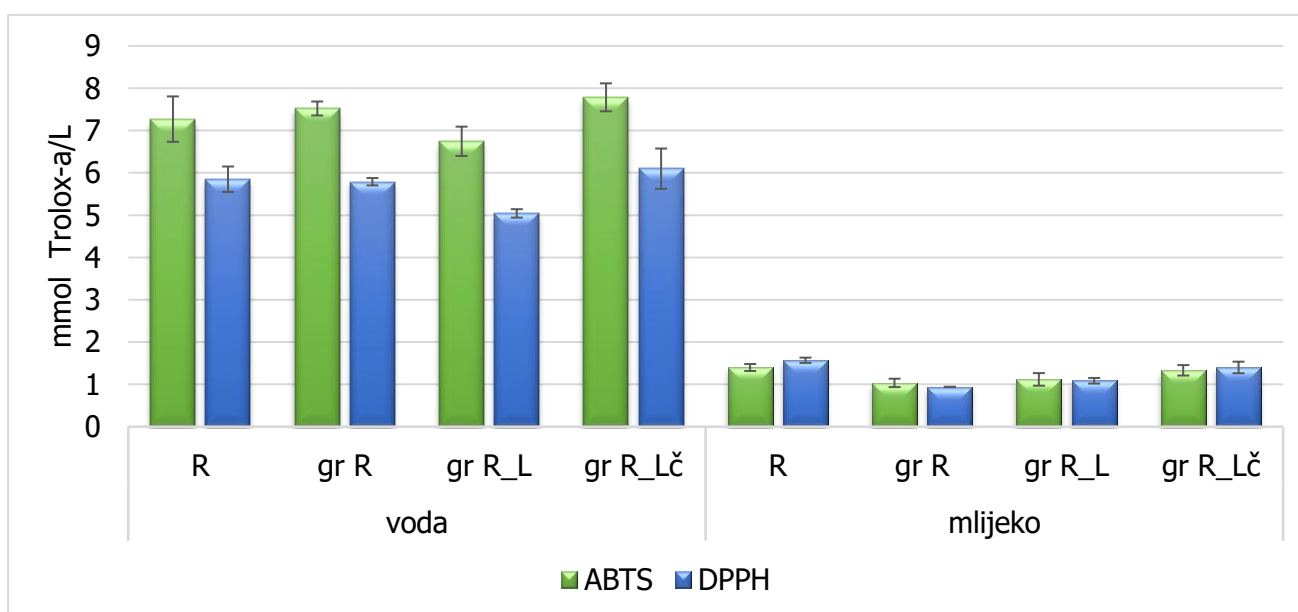
Slika 10. Određivanje udjela tanina (mg TA/L) u napitcima na bazi rogača pripremljenih s vodom

Iz rezultata prikazanih na slici 10. može se zaključiti kako je uzorak gr R_Lč sadržavao najveći udjel ukupnih tanina (35,00 mg TA/L), praćen uzorkom R u kojem je određen nešto niži udjel (30,00 mg TA/L). U granuliranim uzorcima gr R i gr R_Lč detektirane su iste koncentracije tanina, u udjelu od 27,50 mg TA/L. Prisutnost kondenziranih i hidroliziranih tanina u mahuni i sjemenkama rogača, kao dominantne skupine rogača, detektirana je u

istraživanju Avallonea i suradnika (1997). Također, Ayaz i suradnici (2007) odredili su udjel galotanina od 0,36 mg EGK/g u rogaču prikupljenom na području Antalije u Turskoj. Niži udjel tanina određen u njihovom istraživanju može se pripisati različitom geografskom područja uzgoja, varijetetu rogača i stupnju zrelosti prilikom berbe te različitim ekstrakcijskim uvjetima (80 %-tni metanol, ekstrakcija pomoću refluksa) kao i drugom standardu korištenom za izražavanje rezultata.

U uzorcima pripremljenim s mlijekom tanini nisu detektirani.

4.2.6. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS i DPPH metodom



Slika 11. Antioksidacijski kapacitet određen ABTS i DPPH metodom (mmol Trolox-a/L) u napitcima na bazi rogača pripremljenih s vodom i s mlijekom

Ispitivanim uzorcima određen je antioksidacijski kapacitet primjenom ABTS i DPPH metode, a rezultati su prikazani na slici 11.

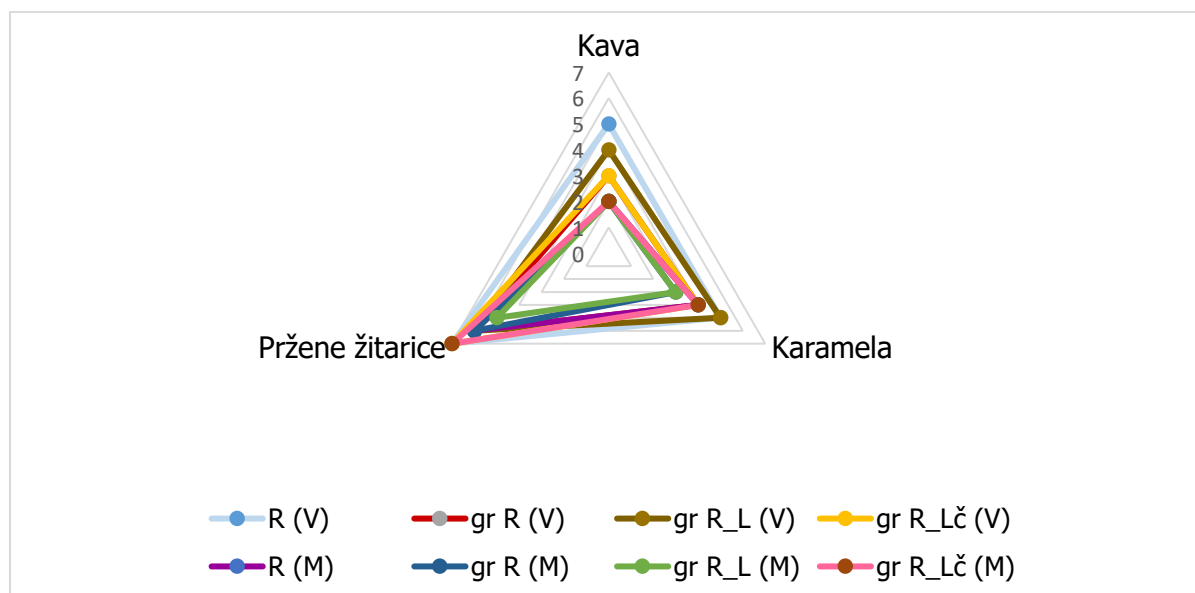
Uspoređujući ABTS i DPPH metodu, kod uzoraka pripremljenih s vodom, može se vidjeti da uzorci pripremljeni ABTS metodom pokazuju viši antioksidacijski kapacitet. To se može pripisati činjenici da ABTS reagira s lipofilnim i hidrofilnim skupinama, dok DPPH reagira samo s hidrofilnim skupinama (Sricharoen i sur., 2015).

Kod uzoraka s vodom, najviši antioksidacijski kapacitet određen ABTS-om imao je uzorak gr R_Lč (7,79 mmol Trolox-a/L). Isti uzorak imao je najviši antioksidacijski kapacitet određen i DPPH metodom (6,10 mmol Trolox-a/L). Od svih uzoraka, najmanji antioksidacijski kapacitet određen s obje metode pokazao je uzorak gr R_L (ABTS - 6,75 mmol Trolox-a/L ;

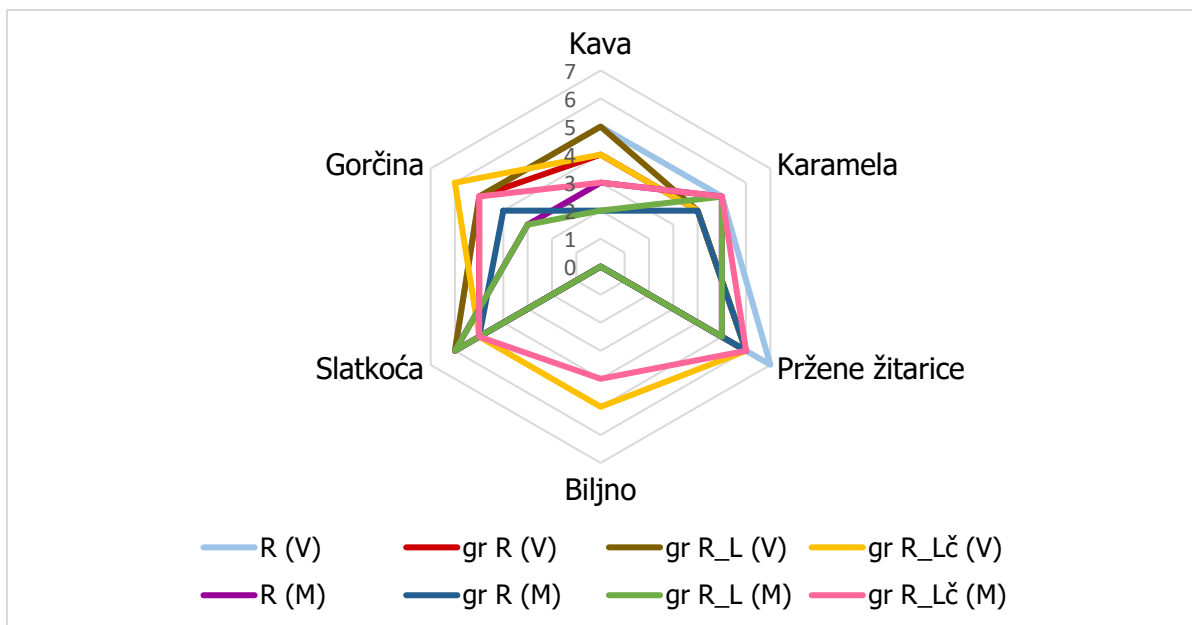
DPPH - 5,04 mmol Trolox-a/L). U istraživanju Niseteo i suradnika (2012) antioksidacijski kapacitet instant napitka (Capuccino Irish Cream) određen ABTS metodom bio je nešto niži (4,31 mmol Trolox-a/L) u odnosu na rezultate ovog rada. Stoga se rogač nameće kao pogodna sirovina za pripremu instant napitka budući da pokazuje viši antioksidacijski kapacitet u odnosu na napitak pripremljen od kave (capuccino).

Uzorci praškastih mješavina na bazi rogača pripremljeni s mlijekom pokazuju znatno niži antioksidacijski kapacitet u odnosu na uzorke pripremljene s vodom. Najveći antioksidacijski kapacitet izmjeren ABTS metodom pokazao je uzorak R (1,40 mmol Trolox-a/L), što je slučaj i kod određivanja antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom (1,57 mmol Trolox-a/L). U istraživanjima Niseteo i suradnika (2012) te Dubeau i suradnika (2010) potvrđeno je da dodatak mlijeka uzrokuje pad antioksidacijskog kapaciteta u pripremljenim napitcima. Niseteo i suradnici (2012) u instant napitku (Cappucino Classic) pripremljenom s vodom izmjerili su antioksidacijski kapacitet primjenom ABTS metode od 13,82 mmol Trolox-a/L, dok je isti u mlijeku bio niži i iznosio 8,96 mmol Trolox-a/L. Također, Dubeau i suradnici (2010) dokazali su da dodatak mlijeka u zeleni i crni čaj smanjuje antioksidacijski kapacitet.

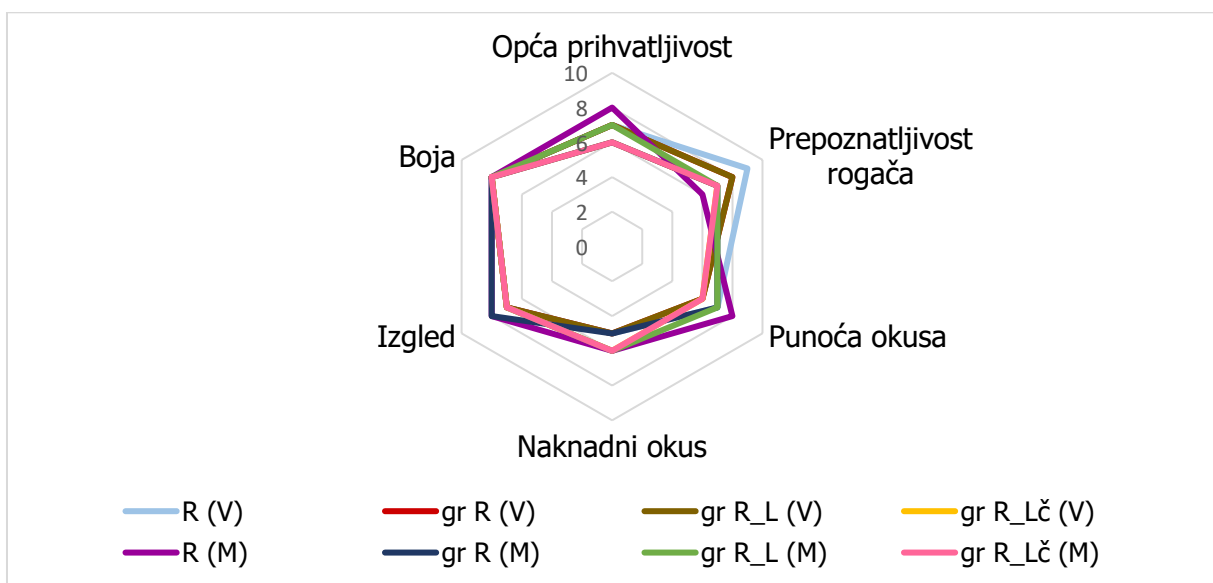
4.3. Senzorsko ocjenjivanje napitaka na bazi rogača pripremljenih s vodom i mlijekom



Slika 12. Senzorska svojstva mirisa određena u napitcima na bazi rogača pripremljenih s vodom (V) i mlijekom (M)



Slika 13. Senzorska svojstva okusa određena u funkcionalnim napitcima na bazi rogača pripremljenih s vodom (V) i mlijekom (M)



Slika 14. Senzorsko ocjenjivanje specifičnih atributa u napitcima na bazi rogača pripremljenih s vodom (V) i s mlijekom (M)

Rezultati kvantitativno-deskriptivne senzorske analize prikazani su na slikama 12-14. U napitcima na bazi rogača, nakon definiranja svih prepoznatih svojstava za ispitivane parametre, isti su ocijenjeni skalom intenziteta od 1-9.

Prilikom određivanja senzorskih svojstava mirisa, ocjenjivani su miris po kavi, karameli i prženim žitaricama (Slika 12). U napitcima pripremljenim s vodom, panelisti su među ispitivanim svojstvima mirisa najviše prepoznali miris na pržene žitarice, zbog čega su svi uzorci s vodom najveće ocjene dobili upravo za svojstvo mirisa na pržene žitarice. Miris po kavi najviše se osjetio u uzorku R (V), dok se miris po karameli najviše osjetio u uzorcima R (V) i gr R_L (V). Kod uzoraka gr R (V) i gr R_Lč (V) najslabije se osjetio miris po kavi. Miris po prženim žitaricama uzoraka pripremljenih s mlijekom panelisti su također ocijenili najvišim ocjenama, a miris po kavi najslabijim.

Kod atributa okusa, određivao se intenzitet okusa po kavi, karameli i prženim žitaricama te intenzitet slatkoće i gorčine napitaka pripremljenih s vodom i mlijekom. Prilikom ocjenjivanja atributa okusa (Slika 13), uzorci pripremljeni s vodom dobili su najveće ocjene za svojstvo okusa po prženim žitaricama. U uzorcima R (V) i gr R_L (V) panelisti su najviše osjetili okus kave, dok je intenzitet okusa karamele najjače bio izražen kod uzorka R (V). Uzorci R (V) i gr R_L (V) pokazali su se najsladima, a u uzorku gr R_Lč (V) najviše je bila izražena gorčina. Iako okus na biljno nije ispitivan, zanimljivo je da se u uzorku gr R_Lč (V) osjetio i biljni okus, za razliku od ostalih uzoraka kod kojih nije zamijećen. Biljna nota potječe od ekstrakta maslačka kojim je napitak na bazi rogača obogaćen. Kod napitaka pripremljenih s mlijekom, u svim uzorcima se također najviše osjetio okus po prženim žitaricama. Okus po kavi najjače je bio izražen kod uzoraka R (M) i gr R_Lč (M), dok je intenzitet okusa karamele bio podjednako izražen u svim uzorcima, osim u uzorku gr R (M) gdje se slabije osjetio. Uzorci R (M) i gr R_L (M) ocijenjeni su kao najsladji, dok je uzorak gr R_Lč (V) imao najjače izražen intenzitet gorčine. Također se jedino u uzorku gr R_Lč (M) osjetila biljna nota.

Osim intenziteta okusa i mirisa ocjenjena je i opća prihvatljivost napitaka, prepoznatljivost rogača, punoća okusa i naknadni okus te atributi izgleda i boje napitaka pripremljenih s vodom i s mlijekom. Prema rezultatima prikazanim na slici 14. može se zaključiti kako se najprihvatljivijim za konzumaciju pokazao uzorak pripremljen s čistim rogačem i premliven mlijekom R (M), dok se prepoznatljivost rogača najbolje prepoznala u istom uzorku, ali pripremljenom s vodom R (V). Punoća okusa najviše se osjetila u uzorku R (M), nešto slabije u uzorcima gr R (M), gr R_L (M) i R (V), a najslabije kod uzoraka gr R (V), gr R_L (V), gr R_Lč (V), iako nije bilo velike razlike između ocijenjenih uzoraka. Naknadni okus najviše se osjetio u uzorcima R (M), gr R_L (M) te uzorcima gr R_Lč (M) i gr R_Lč (V) u kojima naknadni okus najvjerojatnije potječe od alginatnih čestica koje sadrže ekstrakt maslačka kojim je obogaćen. Izgledom prihvatljiviji bili su uzorci pripremljeni s mlijekom, točnije uzorci R (M) i gr R (M) budući da je najmanje čestica zaostalo na površini napitka te

je nastalo najmanje taloga na dnu čaše. Nije bilo razlike između ispitivanih uzoraka za atribut boje, pa je boja jednako ocijenjena u svim ispitivanim uzorcima.

5. ZAKLJUČCI

1. Granuliranjem u fluidiziranom sloju uspješno su pripravljene praškaste granulirane mješavine namijenjene za pripremu napitaka na bazi rogača. Dodatkom lecitina poboljšana su svojstva topljivosti i disperzibilnosti praškastih mješavina na bazi rogača, važnih parametara instant proizvoda.
2. Ispitivane praškaste mješavine imaju vrlo dobru tecivost, slabo su kohezivne, a prema indeksu kohezije spadaju u slobodno tecive prahove, čime ispitivani uzorci pokazuju dobra svojstva tečenja. Prahovi slabe kohezivnosti i dobrih svojstava tečenje nisu bili skloni stvaranju kolača.
3. Primjena postupka granuliranja rezultirala je praškastim mješavinama svjetlije boje, gdje je dodatak lecitina u sustav također pridonio svjetlijoj boji.
4. Uzorak obogaćen česticama s inkapsuliranim polifenolima maslačka (gr R_LČ), pripremljen s vodom, imao je veći udjel ukupnih polifenola, hidrosicimetnih kiselina, proantocijanidina i ukupnih tanina u odnosu na ostale uzorke.
5. Uzorak negranuliranog rogača (R), uz pojedine fluktuacije, imao je veći udjel polifenolnih spojeva, kao i antioksidacijski kapacitet, u odnosu na granulirane uzorke bez (gr R) ili s lecitinom (gr R_L). Dobiveni rezultati pripisuju se korištenju povišene temperature od 50 °C u postupku granuliranja koja je dovela do degradacije jednog dijela ispitivanih spojeva.
6. Dodatak lecitina kod uzoraka pripremljenih s vodom, uz određene fluktuacije, rezultirao je smanjenjem udjela polifenolnih spojeva zbog vezanja lecitina za hidrofilne antioksidanse čime oni ostaju zarobljeni unutar kompleksa s polarnom grupom lecitina. Kod uzoraka s mlijekom, dodatkom lecitina udjel polifenolnih spojeva se povećao zbog sinergističkog djelovanja istih s lipofilnim antioksidansima mlijeka.
7. Napitci na bazi rogača pripremljeni s mlijekom imali su niži udjel polifenolnih spojeva te antioksidacijski kapacitet, u odnosu na uzorke pripremljene s vodom, što se pripisuje stvaranju kompleksa između polifenolnih spojeva i proteina mlijeka, čime se posljedično smanjio udjel ispitivanih spojeva.
8. Kod senzorskog ocjenjivanja svi uzorci imali su najviše izražen miris i okus po prženim žitaricama. Općenito najprihvatljivijim uzorkom za konzumaciju pokazao se uzorak negranuliranog rogača pripremljen s mlijekom.

6. LITERATURA

Abdelaziz B. I., Sahli A., Bornaz S., Scher J., Gaiani C. (2014) Dynamic method to characterize rehydration of powdered cocoa beverage: Influence of sugar nature, quantity and size. *Powder Technology* **264**: 184-189.

Abdullah E. C., Geldart D. (1999). The use of bulk density measurements as flowability indicators. *Powder Technology* **102**: 151-165.

Aguilera J. M., Valle J. M., Karel M. (1995) Review: caking phenomena in food powders. *Trends in Food Science Technology* **6**: 149-154.

Altunkaya A., Hedegaard R. V., Harholt J., Brimer L., Gökmen V., Skibsted L. H. (2013) Palatability and chemical safety of apple juice fortified with pomegranate peel extract. *Food & Function* **10**: 1468-1473.

Anonymus 1 (2012) <<http://www.narodnilijek.com/web/rogac/>> Pristupljeno 31. srpnja 2017.

AOAC: 1990, Moisture in animal feed – AOAC method 930.15. *Official methods of analysis of AOAC international*, 15.izd., AOAC International, Arlington, Virginia

Avallone R., Plessi M., Baraldi M., Monzani A. (1997) Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. *Journal of Food Composition and Analysis* **10**: 166-172.

Ayaz F. A., Torun H., Ayaz S., Correia P. J., Alaiz M., Sanz C., Ggrúz J., Strnad M. (2007) Determination Of chemical composition of anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua* L.): sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *Journal of Food Quality* **30**: 1040-1055.

Barbosa-Canovas G. V., Juliano P. (2005) Physical and chemical properties of food powders. *Food Science & Technology* **146**: 39.

Barkouti A., Turchiuli C., Carcel J. A., Dumoulin E. (2013) Milk powder agglomerate growth and properties in fluidized bed agglomeration. *Dairy Sciences & Technology* **93**: 523-535.

- Belščak-Cvitanović A., Benković M., Komes D., Bauman I., Horžić D., Dujmić F., Matijašec M. (2010) Physical properties and bioactive constituents of powdered mixtures and drinks prepared with cocoa and various sweeteners. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**: 7187-7195.
- Benkouider C. (2004) Functional foods: A global overview. *International Food Ingredients* **5**: 66-68.
- Benković M., Bauman I. (2011) Oblaganje čestica u prehrambenoj industriji. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **6**: 13-24.
- Benković M., Bauman I. (2013) Agglomeration of cocoa powder mixtures- influence of process conditions on physical properties of the agglomerates. *Journal on Processing and Energy in Agriculture* **15**: 46-49.
- Benković M., Belščak-Cvitanović A., Komes D., Bauman I. (2011) Physical properties of non-agglomerated cocoa drink powder mixtures containing various types of sugar and sweetener. *Food Bioprocess Technology* **6**: 1044-1058.
- Braccini I., Perez S. (2001) Molecular basis of Ca²⁺- induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. *Biomacromolecules* **2**: 1089-1096.
- Brand-Wiliams W., Cuvelier M. E., Berseti C. (1995) Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology* **28**: 25-30.
- Buffo R. A., Probst K., Zehentbauer G., Luo Z., Reineccius G. A. (2002) Effects of agglomeration on the properties of spray-dried encapsulated flavours. *Flavour Fragrance Journal* **17**: 292-299.
- Carr R. L. (1965) Evaluating flow properties of solids. *Chemical Engineering* **72**: 163-168.
- Chen L., Remondetto E., Subirade M. (2006) Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Trends in Food Science & Technology* **17**: 272-283.
- Córdoba A. L., Deladino L., Martino M. (2013) Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants. *Carbohydrate Polymers* **95**: 315-323.
- Correia P. J., Martins-Louc M. A. (2004) The use of macronutrients and water in marginal Mediterranean areas: the case of carob-tree. *Field Crops Research* **91**: 1-6.

Corso M. P., Vignoli J. A., Benassi M. T. (2016) Development of an instant coffee enriched with chlorogenic acid. *Journal of Food Sciences & Technology* **53**: 1380-1388.

Dewettinck K., Huyghebaert A. (1998). Top-spray fluidized bed coating: Effect of process variables on coating efficiency. *Food Sciences and Technology* **31**: 568-575.

Dhanalakshmi K., Ghosal S., Bhattacharya S. (2011) Agglomeration of Food Powder and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **51**: 432-441.

Di Stefano R., Cravero M. C., Gentilini N. (1989) Metodi per lo studio dei polifenoli dei vini. *L'Enotecnico* **25**: 83-89.

Dubeau S., Samson G., Tajmir-Riahi H. A. (2010) Dual effect of milk on the antioxidant capacity of green, Darjeeling and English breakfast teas. *Food Chemistry* **122**: 539-545.

Fang Z., Bhandari B. (2010) Encapsulation of polyphenols. *Trends in Food Science & Technology* **21**: 510-23.

Fellows J. P. (2000) Food Processing Technology: Principles and Practice, 3. izd., CRC Press. str. 481-482.

Fitzpatrick J. J. (2005) Food Powder Flowability. U: Encapsulated and Powdered Foods, 1. izd., Onwulata C., ur., CRC Press. str. 247-258.

Forny L., Marabi A., Palzer S. (2011) Wetting, disintegration and dissolution of agglomerated water soluble powders. *Powder Technology* **206**: 72-78.

Gökmen V., Sügüt I. (2007) Computer-vision based analysis of colour as a tool for food process control. U: Focus on Food Engineering Research and Development, 1. Izd., Pletney V. N., ur., Nova Publishers. str. 17-27.

Gombotz W. R., Wee S. F. (1998) Protein release from alginate matrices. *Advanced Drug Delivery Reviews* **31**: 267-285.

González-Castejón M., Visioli F., Rodríguez-Casado A. (2012) Diverse biological activities of dandelion. *Nutrition Review* **70**: 534-547.

- Halah M. F., Nayra S. M. (2011) Use of natural plant antioxidant and probiotic in the production of novel yogurt. *Journal of Evolutionary Biology Research* **3**: 12-18.
- Hausner H. H. (1967) Friction conditions in a mass of metal powder. *International Journal of Powder Metallurgy* **3**: 7-13.
- Herceg Z. (2011) Processes in the Food Industry. 1. izd., Plejada. str.56-62.
- Hla K. P., Hoge Kamp S. (1999) Wetting behaviour of instantized cocoa beverage powders. *International Journal of Food Science and Technology* **34**: 335-342.
- Hussein A. M. S., Shedeed N. A., Abdel-Kalek H. H., Shams El-Din M. H. A. (2011) Antioxidative, antibacterial and antifungal activities of tea infusions from berry leaves, carob and doum. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* **61**: 201-209.
- Jinapong N., Suphantharika M., Jamnong P. (2008) Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering* **84**: 194-205.
- Jones D. (1994) Air suspension coating for multiparticulates. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **20**: 3175-3206.
- Jyothi N. V. N., Prasanna P. M., Sakarkar S. N., Prabha K. S., Ramaiah P. S., Srawan G. Y. (2010) Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, **27**: 187-197.
- Karaaslan M., Ozden M., Vardin H., Turkoglu H. (2011) Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *Food Science Technology* **44**: 1065-1072.
- Knight P. C. (2001) Structuring agglomerated products for improved performance. *Powder Technology* **119**: 14-25.
- Komes D., Bušić A., Vojvodić A., Belščak-Cvitanović A., Hruškar M. (2015) Antioxidative potential of different coffee substitute brews affected by milk addition. *European Food Research and Technology* **241**: 115-125.
- Koprivnjak O., Škevin D., Valić S., Majetić V., Petričević S., Ljubenković I. (2008) The antioxidant capacity and oxidative stability of virgin olive oil enriched with phospholipids. *Food Chemistry* **111**: 121-126.

Langer R., Peppas N. A. (2003) Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology. *AIChE Journal* **49**: 2990-3006.

Luckow T., Delahunty C. (2004) Which juice is `healthier'? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. *Food Quality and Preference* **15**: 751-759.

Makris D. P., Panagiotis Kefalas P. (2004) Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Technology and Biotechnology* **42**: 105-108.

Markovina J., Čačić J., Gajdoš Kljusurić, J., Kovačić, D. (2010). Young consumers' perception of functional foods in Croatia. *British Food Journal* **113**: 7-16.

Matkowski A., Tasarz P., Szypuła E. (2008) Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from *Lamiaceae*, subfamily *Lamioideae*. *Journal of Medicinal Plants Research* **2**: 321-330.

Menrad K. (2003) Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering* **56**: 181-188.

Moreira T. C., Da Silva A. T., Fagundes C., Ferreira S. M. R., Cândido L. M. B., Passos M., Krüger C. C. H. (2016) Elaboration of yogurt with reduced level of lactose added of carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Food Science and Technology* **76**: 326-329.

Morton J. F. (1987) Fruits of Warm Climates, 1. izd., Morton J.F., ur., CRC. str. 1024-1030.

Munin A., Edwards-Lévy (2011) Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review. *Pharmaceutics* **3**: 793 - 829.

Murakami H., Yoneyama T., Nakajima K., Kobayashi M. (2001) Correlation between loose density and compactibility of granules prepared by various granulation methods. *International Journal of Pharmaceutics* **216**: 159-164.

Nantz M. P., Rowe C. A., Nieves Jr. C., Percival S. S. (2006) Immunity and antioxidant capacity in humans is enhanced by consumption of a dried, encapsulated fruit and vegetable juice concentrate. *The Journal of Nutrition* **136**: 2606-2610.

Nedovica V., Kalusevica A., Manojlovic V., Levica S., Bugarski B. (2011) An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science* **1**: 1806-1815.

Niseteo T., Komes D., Belščak-Cvitanović A., Horžić D., Budeč M. (2012) Bioactive composition and antioxidant potential of different commonly consumed coffee brews affected by their preparation technique and milk addition. *Food Chemistry* **134**: 1870-1877.

Ough C. S., Amerine M. A. (1988) Methods for analysis of musts and wine, 1. Izd., John Wiley & Sons. Inc. str. 196-221.

Pavić E., Martinis I., Oreč I., Banić M. (2008) Dijetoterapija dispepsije, ulkusne bolesti i gastroezofagealne refluksne bolesti. *Medicus* **17**: 123-132.

Porter L. J., Hrstich L., Chan B. G. (1986) The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry* **25**: 223-230.

Price M. L., Van Scoyoe S., Butler L. G. (1978) A critical evaluation of vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **26**: 1214-1218.

Racoviță Ș., Vasiliu S., Popa M., Luca C. (2009) Polysaccharides based on micro- and nanoparticles obtained by ionic gelation and their applications as drug delivery systems. *Revue Roumaine de Chimie* **54**: 709-718.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* **26**: 1231-1237.

Roberfroid M. B. (2000) Global view on functional foods: European perspectives. *British Journal of Nutrition* **88**: S133-S138.

Rusak G., Kustrak D., Males Z., Pleše N. (1993) The determination of the content of polyphenols in the aerial parts of the species *Centaurea rupestris* L. and *C. fritschii* Hayek (*Asteraceae*). *Acta Pharmaceutica* **43**: 121-125.

Schubert H. (1980) Processes and properties of instant powdered foods. *Food Processing Engineering* **1**: 675-684.

Servili M., Rizzello C. G., Taticchi A., Esposto S., Urbani S., Mazzacane F. (2011) Functional milk beverage fortified with phenolic compounds extracted from olive vegetation water, and

fermented with functional lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* **147**: 45-52.

Shahidi F., Naczk M. (2003) Phenolics in Food and Nutraceuticals, 13. izd., Boca Raton: CRC Press. str. 313.

Shittu T. A., Lawal M. O. (2007) Factors affecting instant properties of powdered cocoa beverages. *Food Chemistry* **100**: 91-98.

Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* **299**: 152-179.

Singleton V. L., Rossi J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* **16**: 144-158.

Sricharoen P., Techawongstein S., Chantai S. (2015) Determination of lipophilic and hydrophilic antioxidant activities in the crude extracts of ten varieties of tomatoes. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology* **20**: 66-74.

Srivastava S., Mishra G. (2010) Fluid bed technology: overview and parameters for process selection. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* **2**: 236-246.

Srouf N., Daroub H., Toufeili I., Olabi A. (2015) Developing a carob-based milk beverage using different varieties of carob pods and two roasting treatments and assessing their effect on quality characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **96**: 3047-3057.

Staszewski V. M., Jagus R. J., Pilosof A. M. R. (2011) Characterization of whey protein polyphenol interactions by dynamic light scattering. Presented in part at 11th International Congress on Engineering and Food, Athens, Greece.

Strikić F., Čmelik Z., Perica S. (2007) Morfološke osobine dva perspektivna tipa rogača (*Ceratonia siliqua* L.) s otoka Visa. *Pomologia Croatica: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva* **12**: 245-253.

Šebečić B., Vedrina Dragojević I., Vitali D., Hečimović M., Dragičević I. (2007) Raw materials in fibre enriched biscuits production as source of total phenols. *Agriculturae Conspectus Scientificus* **72**: 265-270.

Takasi S., Seibi P. A. (1998) Paste and gel properties of prim3 corn and wheat starches with and without nitic liquids. *Cereal Chemistry* **65**: 474-483.

Teunou E., Poncelet D. (2002) Batch and continuous fluid bed coating: a review and state of the art. *Journal of Food Engineering*. **53**: 325-340.

Turchiuli C., El Mansouri N., Dumoulin E. (2005) Fluidised bed agglomeration: Agglomerates shape and end-use properties. *Powder Technology* **157**: 168-175.

Van Trijp H. (2007) Understanding consumers and nutritional communication. 1.izd., CRC Press. str. 430-436.

Wandrey C., Bartkowiak A., Harding S. E. (2009) Materials for Encapsulation. U: Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing, 1. Izd., Zuidam N. J., Nedovic V., ur., Springer. str. 31-100.

Weyland M., Hartel R. (2008) Food Emulsifiers and Their Applications, 2. izd., Springer. str. 285-286.

Wollgast J., Anklam A. (2000) Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* **33**: 423-447.

Yousif A. K., Alghzawi H. M. (2000) Processing and characterization of carob powder. *Food Chemistry* **69**: 283-287.

Zadnja stranica završnog rada

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završi rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Televa Lovoda

ime i prezime studenta