

Utjecaj moringe na fizikalno-kemijske karakteristike i fermentaciju kravljeg mlijeka

Miksera, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:159:487712>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-11**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO - BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2020.

Ivana Miksera

1252/PI

**UTJECAJ MORINGE NA
FIZIKALNO-KEMIJSKE
KARAKTERISTIKE I
FERMENTACIJU KRAVLJEG
MLIJEKA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda na Zavodu za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc. Katarine Lisak Jakopović.

Zahvale

Zahvaljujem se mentorici, doc. dr. sc. Katarini Lisak Jakopović na odabiru vrlo zanimljive teme, stručnim savjetima i velikoj pomoći i podršci za uspješnu izradu diplomskog rada.

Zahvaljujem se doc. dr. sc. Ireni Barukčić na stručnim savjetima prilikom izrade ovog rada.

Hvala teh. sur. Snježani Šimunić na pruženoj pomoći pri izvedbi eksperimentalnog dijela rada.

Zahvaljujem se doc. dr. sc. Maji Repajić i suradnicima iz Laboratorija za kemiju i tehnologiju voća i povrća na pomoći pri izradi eksperimentalnog dijela rada.

Veliko hvala mojim roditeljima i obitelji na bezuvjetnoj podršci, motivaciji i strpljenju tijekom svih godina studiranja.

Hvala mojim prijateljima i kolegama što su bili tu za mene te mi uljepšali i upotpunili nezaboravne studentske dane.

Najveće hvala mom djedu, kolegi dipl. ing. biotehnologije, što je uvijek bio tu za mene kao najveća podrška i poticaj. Nažalost on danas nije ovdje da vidi moj uspjeh.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Diplomski rad

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Zavod za prehrambeno - tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

UTJECAJ MORINGE NA FIZIKALNO-KEMIJSKE KARAKTERISTIKE I FERMENTACIJU KRAVLJEG MLIJEKA

Ivana Miksera, 1252/PI

Sažetak: Fermentirani mliječni proizvodi poznati su po brojnim pozitivnim utjecajima na ljudsko zdravlje i njihova je konzumacija proširena diljem svijeta. Ekstrakt lista *Moringe oleifere* bogat je vitaminima, mineralnim tvarima, polifenolima, flavonoidima, taninima i proteinima te je njegov dodatak u mlijeko prije fermentacije izvrstan način obogaćivanja fermentiranih mliječnih proizvoda. Cilj ovog diplomskog rada bio je proizvesti jogurt s ekstraktom lista moringe i usporediti ga s kontrolnim uzorkom jogurta bez dodanog ekstrakta. Provedene su fizikalno – kemijske, mikrobiološke, reološke i senzorske analize. Dodatak ekstrakta moringe u mlijeko prije fermentacije rezultiralo je kraćim vremenom fermentacije, nižom pH vrijednosti jogurta, povećanim rastom bakterija jogurtne kulture, boljim reološkim svojstvima, povećanim udjelom ukupnih fenola te povećanim antioksidacijskim kapacitetom jogurta.

Ključne riječi: antioksidacijski kapacitet, fenoli, fermentacija, jogurt, *Moringa oleifera*

Rad sadrži: 48 stranica, 16 slika, 16 tablica i 43 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno

biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: doc. dr. sc. *Katarina Lisak Jakopović*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. *Rajka Božanić* (predsjednik)
2. doc. dr. sc. *Katarina Lisak Jakopović* (mentor)
3. doc. dr. sc. *Maja Repajić* (član)
4. doc. dr. sc. *Nives Marušić Radovčić* (zamjena)

Datum obrane: 17. 09. 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Graduate Thesis

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Department of Food Technology and Engineering

Laboratory of Technology of Milk and Milk Products

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

INFLUENCE OF MORINGA ON PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS AND FERMENTATION OF COW'S MILK

Ivana Miksera, 1252/PI

Abstract: Fermented dairy products are known for their many positive effects on human health and their consumption is spread worldwide. *Moringa oleifera* leaf extract is rich in vitamins, minerals, polyphenols, flavonoids, tannins and proteins, and its addition to milk before fermentation is an excellent way to enrich fermented milk products. The aim of this thesis was to produce yogurt with moringa leaf extract and compare it with a control sample of yogurt without added extract. Physicochemical, microbiological, rheological and sensory analyzes were performed. The addition of moringa extract to milk before fermentation resulted in shorter fermentation time, lower yogurt pH, increased growth of yogurt bacteria, better rheological properties, increased total phenols content and increased antioxidant capacity of yogurt.

Keywords: antioxidant capacity, phenols, fermentation, yogurt, *Moringa oleifera*

Thesis contains: 48 pages, 16 figures, 16 tables and 43 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: PhD. *Katarina Lisak Jakopović*, Assistant professor

Reviewers:

PhD. *Rajka Božanić*, Full Professor

PhD. *Katarina Lisak Jakopović*, Assistant Professor

PhD. *Maja Repajić*, Assistant Professor

PhD. *Nives Marušić Radovčić*, Assistant Professor

Thesis defended: 17. 09. 2020.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. SASTAV KRAVLJEG MLIJEKA	2
2.2. PROIZVODNJA JOGURTA.....	4
2.3. <i>MORINGA OLEIFERA</i>	6
2.3.1. Nutritivna i zdravstvena vrijednost moringe	7
2.4. MLIJEČNI PROIZVODI OBOGAĆENI EKSTRAKTOM MORINGE	8
3. EKSPERIMENTALNI DIO	11
3.1. MATERIJALI	11
3.2. METODE RADA.....	13
3.2.1. Priprema ekstrakta moringe.....	13
3.2.2. Proizvodnja jogurta	14
3.2.3. Određivanje kiselosti	14
3.2.3.1. <i>Određivanje kiselosti mlijeka i fermentiranih mliječnih napitaka pH-metrom</i>	15
3.2.3.2. <i>Titracijske metode</i>	15
3.2.4. Određivanje sinereze fermentiranog mlijeka	16
3.2.5. Određivanje reoloških svojstava fermentiranih proizvoda	16
3.2.6. Mikrobiološke analize mlijeka i mliječnih proizvoda	18
3.2.7. Određivanje udjela fenolnih spojeva u jogurtu s ekstraktom moringe	19
3.2.8. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta jogurta s ekstraktom moringe FRAP metodom	20
3.2.9. Određivanje boje fermentiranih mliječnih proizvoda	22
3.2.10. Senzorsko ocjenjivanje fermentiranih mliječnih proizvoda	22
3.2.11. Obrada rezultata.....	23
4. REZULTATI I RASPRAVA	24
4.1. AKTIVNA I TITRACIJSKA KISELOST JOGURTA	25
4.2. SINEREZA JOGURTA	27
4.3. REOLOŠKA SVOJSTVA JOGURTA.....	28
4.4. MIKROBIOLOŠKA SVOJSTVA JOGURTA	31
4.5. UDIO UKUPNIH FENOLA U JOGURTIMA.....	34
4.6. ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET JOGURTA	35
4.7. BOJA JOGURTA.....	36
4.8. SENZORSKE OCJENE JOGURTA.....	38
5. ZAKLJUČCI	44
6. LITERATURA	45

1. UVOD

Fermentirani mliječni proizvodi konzumiraju se već nekoliko tisuća godina i ljudi su od davnina upoznati s njihovim zdravstvenim benefitima, a jogurt je svakako jedan od najpoznatijih i najčešće konzumiranih fermentiranih mliječnih proizvoda. Odlikuje ga visoka prehrabena vrijednost zbog vrijednih proteina, vitamina i mineralnih tvari, a važno je istaknuti da je jogurt kao i ostali fermentirani mliječni proizvodi bolje probavljiv od samog mlijeka. Mliječno – kiselom fermentacijom dolazi do djelomične razgradnje proteina mlijeka čime oni postaju lakše probavljivi. Iako imaju slabiju proteolitičku moć u odnosu na druge bakterije, bakterije mliječne kiseline pomoću proteaza i peptidaza razgrađuju proteine što utječe na samu konzistenciju proizvoda. Stupanj proteolize ovisi o soju bakterija mliječne kiseline, uvjetima fermentacije i skladištenja, pa tako kod nekih fermentiranih proizvoda on može biti jače izražen. Pojava funkcionalne hrane omogućila je novi pristup ljudskoj prehrani te u isto vrijeme i brigu o zdravlju čovjeka. Samo značenje pojma funkcionalne hrane podrazumijeva hranu koja osim da služi isključivo za prehranu ljudi odnosno dobivanje energije, ima i dokazano pozitivno djelovanje na zdravlje čovjeka. Posebno su popularni fermentirani mliječni proizvodi koji sadrže bioaktivne komponente su tako fermentirana mlijeka sve češće obogaćena biljnim ekstraktima. Biljni ekstrakti u mliječnim proizvodima poboljšavaju fizikalno-kemijske karakteristike što pozitivno utječe na prihvatljivost od strane potrošača. *Moringa oleifera* je biljka porijeklom iz Indije čija je vrijednost prepoznata kako u medicini tako i u prehrambenom sektoru zbog bogatog nutritivnog sastava. Svi dijelovi biljke mogu se koristiti u različite svrhe, a ulje sjemenki i lišće moringe je najčešće u upotrebi u vidu različitih ekstrakata koji se dodaju namirnicama kako bi im se poboljšala nutritivna i zdravstvena vrijednost.

Cilj ovog diplomskog rada je bio proizvesti jogurt s dodatkom ekstrakta lista moringe te ga usporediti s kontrolnim jogurtom bez dodataka. Isto tako, cilj rada je bio ispitati utjecaj dodatka ekstrakta lista moringe na tijek i trajanje same fermentacije mlijeka. Uzorcima jogurta su određene fizikalno-kemijske, mikrobiološke, reološke i senzorske analize, analize boje jogurta te im je određen udio ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. SASTAV KRAVLJEG MLIJEKA

Mlijeko je kompleksna biološka tekućina koja sadrži tvari esencijalne za ljudsko zdravlje i normalnu funkciju organizma. Prema Pravilniku (2017), sirovo mlijeko (kravlje, ovčje, kozje i bivolje) je prirodni sekret mliječne žlijezde dobiven jednom ili više mužnji zdravih životinja, kojemu ništa nije dodano ili oduzeto, koje nije zagrijavano na temperaturu višu od 40 °C niti je bilo podvrgnuto nekom drugom postupku koji ima isti učinak, a namijenjeno je konzumaciji kao tekuće mlijeko ili mlijeko za daljnju obradu odnosno preradu.

Količinski gledano, kravljeg mlijeka ima najviše (oko 83 % od svjetske proizvodnje mlijeka), pa je većina mliječnih proizvoda na tržištu proizvedena upravo od kravljeg mlijeka. Mlijeko je promjenjiva sastava, boje od bijele do žućkasto bijele, karakterističnog okusa i mirisa. Ženke sisavaca neko vrijeme nakon poroda izlučuju mlijeko iz mliječnih žlijezdi za primarnu prehranu svoje mladunčadi. Mlijeko nastaje u mliječnoj žlijezdi iz specifičnih sastojaka koji tamo dopijevaju iz krvi životinje. Biokemijskim procesima sinteze u mliječnoj žlijezdi nastaju mliječni šećer-laktoza, mliječna mast i mliječni proteini: kazein, α -laktalbumin i β -laktoglobulin. Druge hranjive tvari kao što su minerali, vitamini, imunoglobulini i enzimi izravno iz krvi prelaze u mliječnu žlijezdu i na taj način postaju sastojci mlijeka (Tratnik i Božanić, 2012).

Sastav mlijeka je varijabilan i ovisi o brojnim faktorima kao što su vrsta muzne životinje, pasmina, period laktacije, vrsta hranidbe i drugi (Šumić, 2008). Udio pojedinih sastojaka ovisi i o individualnim karakteristikama jedinke (dob, tjelesna masa, zdravstveno stanje). Kravlje mlijeko u prosjeku sadrži 3,7 % mliječne masti, 3,5 % proteina te 4,8 % laktoze (Joha, 2016), a udio vode u mlijeku može iznositi 86 - 89 % (Tratnik i Božanić, 2012).

Mliječna mast predstavlja glavni izvor energije u mlijeku. Fizikalna, senzorska i tehnološka svojstva mlijeka i mliječnih proizvoda najviše ovise upravo o mliječnoj masti (Joha, 2016). Udio mliječne masti je najviše promjenjiva komponenta mlijeka i može varirati od 2,0 do 6,0 %. Mliječna mast se u mlijeku nalazi u obliku globula kompleksne građe različitih lipidnih tvari, od kojih su najzastupljeniji triacilgliceroli. To su esteri alkohola glicerola i masnih kiselina koje mogu biti vrlo raznovrsne te njihov udio može biti vrlo promjenjiv. Smatra se kako je 70 % masnih kiselina u mliječnoj masti zasićeno od kojih najviše ima palmitinske, dok ostalih 30 % čine nezasićene masne kiseline s najvećim udjelom oleinske kiseline (Tratnik i Božanić, 2012).

U mlijeku se nalaze različite vrste proteina, a mogu se podijeliti u dvije glavne skupine. Prvoj skupini proteina pripadaju kazeini koji čine oko 80 % ukupnih proteina mlijeka i oni se mogu izdvojiti acidifikacijom mlijeka. Proteini koji ostaju otopljeni u mlijeku nakon acidifikacije nazivaju se proteini sirutke i oni čine 20 % proteina mlijeka (Joha, 2016). Međutim, sirutkini proteini su osjetljivi na toplinu pa denaturiraju već pri temperaturama višim od 60 °C (Tratnik i Božanić, 2012).

Laktoza je mliječni šećer i predstavlja glavni disaharid mlijeka koji se sastoji od monosaharida glukoze i galaktoze. Nalazi se samo u mlijeku i jedini je ugljikohidrat mlijeka, a udio laktoze je najmanje promjenjiva komponenta u mlijeku (Joha, 2016).

Voda, mliječna mast, proteini i laktoza predstavljaju osnovne sastojke mlijeka (tablica 1), glavni su uzročnici promjena u istom te najviše utječu na sposobnost tehnološke obrade mlijeka i ostalih mliječnih proizvoda.

Ostali sastojci mlijeka koji su zastupljeni u znatno manjim količinama su mineralne tvari i vitamini. Mineralne tvari su slabo zastupljene u mlijeku. Mlijeko sadrži najviše kalcija, magnezija, natrija i kalija od kationa, a od aniona anorganske fosfate, citrate i kloride. U mlijeku su navedeni ioni više ili manje međusobno povezani ili su povezani s proteinima. Natrij, kalij i kloridi su difuzni ioni, dok kalcij, magnezij, fosfati i citrati čine koloidne komplekse s molekulama kazeina, tzv. kazeinske micelle (Gaucheron, 2005). Mineralne tvari u mlijeku se nalaze u međusobnom omjeru koji je optimalan za potrebe ljudskog organizma. Posebice je važan omjer kalcija i fosfora koji mora biti optimalan kako bi kalcij bio maksimalno iskoristiv za ljudski organizam (Tratnik i Božanić, 2012).

Vitamini se u mlijeku nalaze u malim količinama i ne doprinose zadovoljavanju dnevnih potreba organizma za vitaminima, osim vitamina A, B₂ i B₁₂. Najzastupljeniji vitamin je vitamin A, koji se u mlijeku nalazi u obliku β-karotena koji mlijeku daje žućkastu boju i u obliku retinola. Budući da je vitamin A topljiv u mastima, obiranjem mlijeka se djelomično uklanja pa je obrano mlijeko praktički poprilično siromašno vitaminima topljivim u mastima. Vitamini B skupine su pak topljivi u vodi i mlijeko obiluje ovom skupinom vitamina pa već jedna šalica mlijeka dnevno može zadovoljiti dnevnu potrebu za vitaminima B₂ i B₁₂. Vitamin C zbog svoje termolabilnosti, osjetljivosti na svjetlost i brze razgradnje ne predstavlja značajan izvor vitamina u mlijeku (Dorić i sur., 2019).

Tablica 1. Prosječni kemijski sastav kravljeg mlijeka (Božanić i sur., 2018)

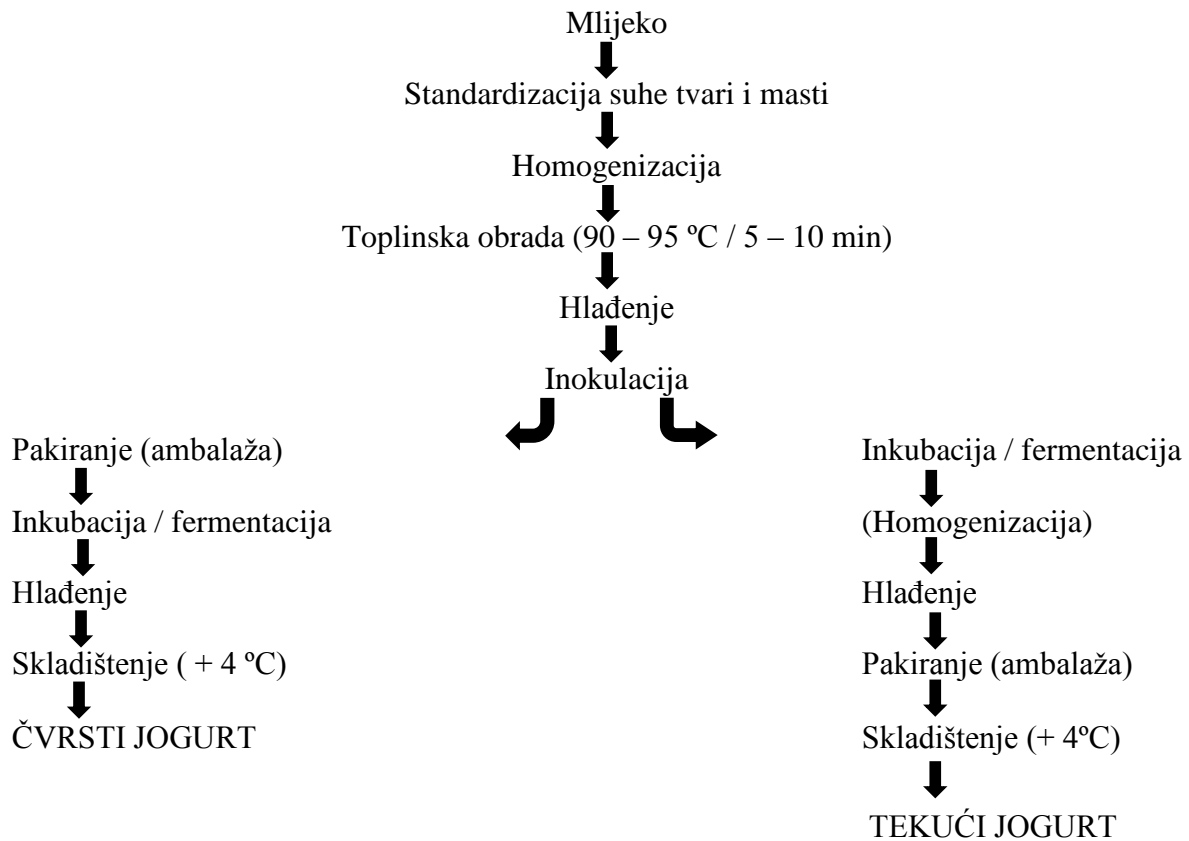
Sastojak	Kravlje mlijeko
Energija (kJ na 100 g)	264
Voda (%)	87,8
Proteini (%)	3,5
Mliječna mast (%)	3,7
Laktoza (%)	4,8
Pepeo (%)	0,7

2.2. PROIZVODNJA JOGURTA

Jogurt je u današnjem svijetu široko rasprostranjeni proizvod zbog brojnih pozitivnih utjecaja na ljudsko zdravlje i bogate nutritivne vrijednosti jer obiluje proteinima, mastima, mineralnim tvarima i vitaminima. Jogurt je koagulirani mliječni proizvod koji se dobije fermentacijom mlijeka djelovanjem bakterija mliječne kiseline (Zhang i sur., 2018). Mikroorganizmi starter kulture u proizvodu moraju biti aktivni do isteka roka valjanosti ili roka upotrebe proizvoda. Broj i vrsta mikroorganizama starter kulture ovisi o specifičnosti određenog proizvoda (Pravilnik, 2017). Fermentacija mlijeka sastoji se od dva paralelna procesa. Jedan proces je konverzija laktoze do mliječne kiseline i drugih produkata, a drugi je formiranje strukture nastalog proizvoda (Pandžić, 2017). Bakterije mliječne kiseline laktozu iz mlijeka ne koriste izravno za proizvodnju mliječne kiseline, već ju pomoću specifičnih enzima permeaza prenose u svoje stanice gdje pomoću enzima β -galaktozidaze laktozu cijepaju na glukozu i galaktozu. Nastala glukoza se dalje u procesu glikolize razgrađuje do piruvata, koji se uz pomoć enzima laktat dehidrogenaze reducira do mliječne kiseline u anaerobnim uvjetima. Mliječna kiselina, osim što utječe na svježi kiseli okus fermentiranih proizvoda, utječe i na njihovu konzistenciju. Dolazi do fizikalno-kemijskih promjena micela kazeina koje destabiliziraju kazeinski sustav što posljedično dovodi do agregacije micela kazeina te formiranja „mreže gela“ - koaguluma. To se zbiva pri pH vrijednosti izoelektrične točke kazeina (oko 4,6). Stoga je vrlo važno

postupno zakiseljavanje mlijeka kako bi se mreža gela pravilno oblikovala i kako bi konačni proizvod imao zadovoljavajuću konzistenciju. Bakterije mliječne kiseline koje se koriste u proizvodnji jogurta nazivaju se zajedničkim imenom „jogurtna kultura“. Tu pripadaju bakterije *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Pojedinačni sojevi bakterija jogurtne kulture rastu pri različitim optimalnim temperaturama, no kada zajednički rastu u mlijeku optimalna temperatura za oba soja je 42 °C, optimalan omjer bakterija 1:1, a optimalna količina inokuluma 2 %. Pri navedenim uvjetima već u nekoliko sati može nastati oko 0,9 % mliječne kiseline (Tratnik i Božanić, 2012).

Tehnološki proces proizvodnje jogurta (slika 1) kreće od odabira sirovine. Mlijeko od kojeg će se proizvesti jogurt mora biti najbolje mikrobiološke kvalitete, ne smije sadržavati antibiotike, rezidue pesticida i ostale inhibitorne tvari te pH vrijednost ne smije biti ispod 6,5. Zatim slijedi standardizacija mlijeka kako bi se prilagodio udio mliječne masti i udio suhe tvari. To je važno zbog postizanja poželjne i uvijek jednolične konzistencije krajnjeg proizvoda. U proizvodnji fermentiranih mlijeka obavezna je homogenizacija mlijeka s ciljem usitnjavanja globula masti, ali i radi njihove jednolike raspodjele. Homogenizacija sprečava izdvajanje masti na površinu proizvoda tijekom skladištenja i samim time proizvod postaje vizualno privlačniji kupcu. Osim pozitivnog utjecaja na mliječnu mast, homogenizacija omogućuje puniji okus proizvoda, povećanu viskoznost, ali i bolju probavljivost. Nakon homogenizacije slijedi toplinska obrada mlijeka zbog uništenja eventualnih patogenih mikroorganizama i inaktivacije enzima kako bi se osigurala aktivnost starter kulture za fermentaciju. Ona se provodi na temperaturama 90 - 95 °C, 5 - 10 min. Toplinska obrada od velike je važnosti za strukturu gotovog proizvoda jer pri povišenoj temperaturi dolazi do denaturacije proteina sirutke koji zatim ulaze u interakciju s kazeinom. Na taj način kazein postaje hidrofilniji i veže na sebe veću količinu vode što u konačnici sprječava sinerezu. To znači da koagulum dobiven fermentacijom toplinski obrađenog mlijeka bude nježniji i glađe teksture. Nakon toplinske obrade mlijeka, prvo slijedi hlađenje na temperaturu koja pogoduje inokulaciji mlijeka mikrobnom kulturom. Različiti proizvođači mikrobnih kultura za fermentaciju mlijeka daju svoje upute koliko kulture je potrebno dodati za vrenje određene količine mlijeka. Nakon što se mlijeko nacijepi kulturom, slijedi inkubacija pri temperaturi od 43 °C, 4-6 sati, ovisno o aktivnosti upotrijebljene starter kulture. Inkubacija se provodi dok se pH proizvoda ne spusti na 4,6 kod kojeg je formiran koagulum optimalne teksture. Nakon što se dobije jogurt, on ide na hlađenje i skladištenje za što je potrebno osigurati temperaturu od +4 do +8 °C (Tratnik i Božanić, 2012).



Slika 1. Shematski prikaz tehnološkog procesa proizvodnje jogurta (Tratnik i Božanić, 2012)

2.3. MORINGA OLEIFERA

Moringa oleifera Lam. (slika 2) je najšire kultivirana vrsta iz porodice biljaka *Moringaceae*, podrijetlom iz subhimalajskih predjela Indije, Pakistana, Bangladeša i Afganistana. Ovo brzorastuće stablo poznavali su još stari Rimljani, Grci i Egipćani, a danas je kultivacija moringe proširena na brojnim tropskim područjima (Fahey, 2005). Rasprostranjena je u Africi, Srednjoj i Južnoj Americi, Šri Lanci, Indiji, Meksiku, Maleziji, Indoneziji i na Filipinima (Hassan i sur., 2016). Moringa se već stoljećima koristi u tradicionalnoj medicini različitih naroda te kao hranjiva namirnica za konzumaciju budući da je svaki dio biljke jestiv (Fahey, 2005).



Slika 2. *Moringa oleifera* Lam. (Anonymous 1)

2.3.1. Nutritivna i zdravstvena vrijednost moringe

Moringa se često opisuje kao „najnevjerojatnije stablo koje je Bog stvorio“ jer su korijen, listovi, cvjetovi, sjemenke i plodovi moringe nutritivno vrlo bogati. Sadrže proteine, vitamine, a obiluju provitaminom vitamina A – β -karotenom (Pandey i sur., 2012). Lišće moringe bogato je vitaminima B kompleksa te sadrži sve esencijalne aminokiseline u idealnim omjerima (Hassan i sur., 2016). U kemijski sastav moringe uključene su i mineralne tvari kao što su željezo, kalij, kalcij i fosfor. *Moringa oleifera* sadrži čak više kalcija od mlijeka, a svi već navedeni mikronutrijenti uglavnom su koncentrirani u listu (Hassan i sur., 2017). U svom sastavu list moringe obiluje i polifenolima, fenolnim kiselinama, alkaloidima, taninima, saponinima, izotiocijanatima, glukozinolatima, flavonoidima i karotenoidima (Vergara-Jimenez i sur., 2017). Listovi moringe mogu se konzumirati svježi, kuhani ili u sušenom obliku u kojem se mogu čuvati dulje vrijeme bez gubitka nutritivne vrijednosti (Pandey i sur., 2012).

Osim izvrsne hranjive vrijednosti, moringa ima i brojne zdravstvene dobrobiti. Istraživanja provedena na štakorima pokazuju pozitivno djelovanje moringe na simptome astme, njeno antiupalno, analgetsko i antipiretičko djelovanje. Studije provedene na laboratorijskim kunićima pokazale su i smanjenje lipidnog profila jetre, srca i aorte, odnosno smanjenje kolesterola nakon što su kunići tretirani ekstraktom lista moringe (Pandey i sur., 2012). Pokazalo se kako različiti ekstrakti lista moringe mogu inhibirati rast *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Bacillus cereus*. Ovi mikroorganizmi

moгу biti patogeni ili toksični te mogu izazvati kvarenje hrane ukoliko dođe do njihovog razvoja u namirnicama. Shodno tome, prenoseći se putem hrane do ljudskog organizma mogu izazvati bolesti i infekcije u ljudi (Hassan i sur., 2016). Uz antimikrobno djelovanje moringe, važno je istaknuti i njeno antioksidativno djelovanje. Fenolna frakcija iz lista moringe ima sposobnost vezanja slobodnih radikala, a etanolna frakcija pokazuje značajna kelacijska svojstva s metalima što sprečava vezanje metala na komponente DNK i njeno oštećenje (Pandey i sur., 2012).

2.4. MLIJEČNI PROIZVODI OBOGAĆENI EKSTRAKTOM MORINGE

Lišće moringe smatra se sigurnim dodatkom prehrani jer ne pokazuje toksična svojstva. Stoga nimalo ne čudi činjenica da je popularnost moringe naglo porasla u posljednjih nekoliko godina. Znanstvenici su prepoznali mogućnost široke primjene i beneficija moringe kako u agrikulturi tako i u industrijskoj proizvodnji hrane u vidu prehrambenih suplemenata. To ima posebno važnu ulogu za zemlje trećeg svijeta jer se moringa koristi u borbi protiv pothranjenosti u nekim dijelovima Afrike (Hassan i sur., 2017).

Prehrambena industrija je prepoznala sve veće zahtjeve potrošača za proizvodima koji imaju funkcionalnu ulogu i povoljno utječu na zdravlje te se sve više okreće prema proizvodnji funkcionalnih proizvoda. Tu se posebno može istaknuti mliječna industrija čija je proizvodnja u zadnjih par godina usmjerena ka proizvodnji raznih mliječnih proizvoda s bioaktivnim sastojcima, primjerice jogurta s dodacima voća, povrća i raznih biljnih ekstrakata (Zhang i sur., 2018). Sukladno tome provedena su brojna znanstvena istraživanja kako bi se potvrdio pozitivan utjecaj moringe na obogaćenje prehrambenih proizvoda i poboljšanje tehnoloških svojstava prilikom proizvodnje, ali i kako bi se utvrdile brojne beneficije moringe na ljudsko zdravlje. Također, provedena su istraživanja o proizvodnji mliječnih proizvoda u koje su dodani ekstrakti osušenog lista moringe.

Hassan i sur. (2016) objavili su članak na temu proizvodnje jogurta u koji je dodan ekstrakt lista *Moringe oleifere*. Ovaj eksperiment proveden je s ciljem proučavanja utjecaja moringe na senzorska i kemijska svojstva jogurta neposredno nakon proizvodnje te tijekom skladištenja. Također, cilj je bio ispitati može li se jogurt nutritivno obogatiti dodatkom moringe. Korišteno je svježe bivolje mlijeko i lišće moringe koje je prethodno osušeno i usitnjeno te prosijano kroz sita. Lišće moringe u mlijeko je dodano u različitim udjelima 0,5, 1 i 2 % uz dodatak starter kulture za fermentaciju. Nakon što je završila fermentacija mlijeka na 45 °C, dobiveni jogurti

skladištili su se 15 dana pri 5 °C. U jogurtima se određivala suha tvar, ukupni proteini i topljivi dušik, hlapljive masne kiseline i ukupne aminokiseline. Također su mjereni pH i viskoznost dobivenih jogurta. Provedene su i senzorske analize od strane 20 uvježbanih senzoričara kako bi se utvrdile aroma i boja te okus. Rezultati senzorske analize su pokazali da je kontrolni uzorak jogurta bez dodatka moringe dobio najbolje ocjene, nakon čega slijedi jogurt s 0,5 % moringe. Upravo tih 0,5 % praha lišća *Moringe oleifere* u jogurtu se smatra idealnom količinom za optimalan izgled, okus i aromu proizvoda. Rezultati također ukazuju kako jogurti obogaćeni prahom lišća moringe u odnosu na kontrolni uzorak imaju viši udio suhe tvari, viši udio proteina, višu kiselost i nižu pH vrijednost. Uspoređujući utjecaj vremena čuvanja proizvedenih jogurta na navedene karakteristike dalo se zaključiti kako se kroz vrijeme hladnog skladištenja kiselost, udio suhe tvari i proteina povećao i u kontrolnom uzorku i u obogaćenim uzorcima jogurta, dok se pH vrijednost smanjila. Viskoznost jogurta obogaćenih moringom je pak bila niža od viskoznosti kontrolnih uzoraka. Sukladno svemu navedenom autori su zaključili kako bi jogurt s 0,5 % praha lišća *Moringe oleifere* bio optimalan za proizvodnju. Taj udio moringe u jogurtu omogućuje povećanje hranjive vrijednosti te značajno ne utječe na senzorske ocjene u odnosu na kontrolni uzorak.

Još je jedna studija provedena na temu dodatka moringe u mliječne proizvode s ciljem poboljšanja nutritivne vrijednosti, a uključivala je proizvodnju sira s ekstraktom lista moringe. Hassan i sur. (2017) objavili su istraživanje o utjecaju dodatka *Moringe oleifere* u meki bijeli sir. Sirevi su proizvedeni od bivoljeg mlijeka te lišća moringe koje je prethodno osušeno i usitnjeno u prah te dodano u sireve neposredno nakon koagulacije u udjelima od 1, 2 i 3 %. Sirevi su podvrgnuti kemijskoj i senzorskoj analizi neposredno nakon proizvodnje te nakon 2, 4 i 6 tjedana. Rezultati su pokazali kako najbolja senzorska svojstva pokazuje sir obogaćen s 1 % praha lista moringe. Takav sir imao je najbolje ocijenjen izgled, teksturu i okus. Kemijska ispitivanja pokazala su da je sir s 1 % lista moringe imao višu kiselost i nižu pH vrijednost u odnosu na kontrolni uzorak sira bez dodatka moringe i to tijekom 6 tjedana čuvanja. Sir obogaćen moringom također je imao viši udio topljivog dušika, masnih kiselina, tirozina i triptofana u odnosu na kontrolni uzorak. Uspoređujući sir s moringom i kontrolni uzorak sira, sir s moringom je očekivano imao tamniju boju, odnosno smanjenju bjelinu. Promjena boje tijekom tretmana može biti posljedica velikog udjela dijetalnih vlakana prisutnih u biljci *Moringa oleifera*.

Nadalje, Zhang i sur. (2018) su proizveli funkcionalni jogurt s dodatkom moringe kako bi istražili njen utjecaj na fermentativna, teksturalna i bioaktivna svojstva proizvoda. Korišteno je

obrano mlijeko u prahu i prah lista moringe te jogurtna kultura. Iz praha lista moringe prvo je pripremljen vodeni ekstrakt koji se dodao u mlijeko prilikom proizvodnje jogurta, prije same fermentacije u udjelima od 0,05, 0,1 i 0,2 %. Rezultati ove studije pokazali su kako ekstrakt moringe smanjuje vrijeme fermentacije jogurta jer potiče rast bakterija mliječne kiseline korištene starter kulture. U usporedbi s kontrolnim uzorkom jogurta u koji nije dodan ekstrakt moringe, jogurt s ekstraktom moringe imao je višu viskoznost i veću sposobnost „hvatanja“ slobodnih radikala, a manju sinerezu. Jogurt s dodatkom moringe je također pokazao bolja antioksidacijska svojstva. Osim navedenih ispitivanja, provedena je i senzorska analiza jogurta kako bi se ocijenili okus (slatkoća, gorčina, kiselost), aroma, tekstura, viskoznost i opća prihvatljivost proizvoda. Prema dobivenim rezultatima, jogurt s dodatkom 0,05 % ekstrakta moringe pokazao je najbolju opću prihvatljivost u odnosu na jogurte s višim udjelima moringe, iako je u svim jogurtima s moringom uočen lagani strani biljni okus. Na temelju svih rezultata, Zhang i sur. (2018) zaključili su kako jogurt s dodatkom ekstrakta moringe ima pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje i to bez prevelikog negativnog utjecaja na samu sensoriku proizvoda.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Za eksperimentalni dio ovog rada korišteno je pasteurizirano mlijeko s 3,2 % mliječne masti proizvođača Dukat – „Dukat svježe mlijeko“ (tablica 2). Za fermentaciju mlijeka korištena je jogurtna kultura YO - MIX 883 LYO 50 DCU (Danisco, Francuska).

Tablica 2. Prosječna nutritivna vrijednost u 100 mL „Dukat svježeg mlijeka“ (Anonymous 2)

Sastojak	Vrijednost
Proteini	3,3 g
Masti	3,2 g
- zasićene masne kiseline	2,4 g
Ugljikohidrati	4,6 g
- šećeri	4,6 g
Sol	0,1 g
Kalcij	120 mg (15 % PU*)
Energija	253 kJ / 60 kcal

PU* - Preporučeni dnevni unos

Za pripremu ekstrakta moringe korišten je prah lista moringe proizvođača Bio&Bio Superfoods (slika 3, tablice 3 i 4).



Slika 3. Moringa u prahu (vlastita fotografija)

Tablica 3. Prosječna hranjiva vrijednost praha moringe u 100 g proizvoda (Anonymous 3)

Sastojak	Vrijednost
Proteini	27,1 g
Ugljikohidrati	28,2 g
- šećeri	14,7 g
Masti	2,3
- zasićene masne kiseline	0,6 g
Sol	0,3 g
Vlakna	19,2 g
Energija	1349 kJ / 320 kcal

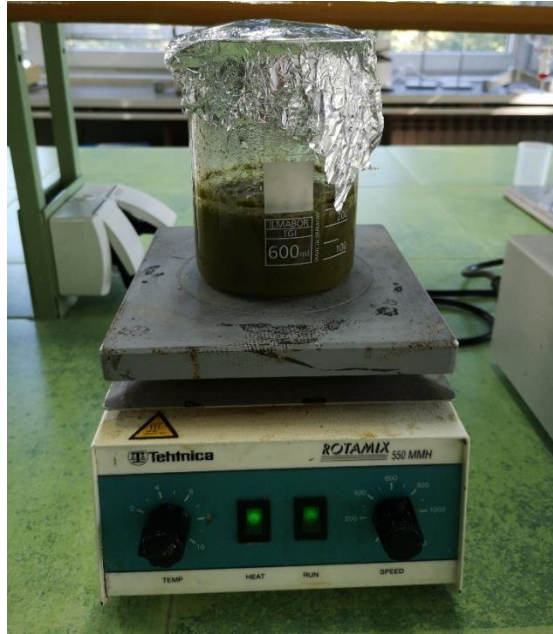
Tablica 4. Sastav vitamina i mineralnih tvari praha moringe u 100 g proizvoda (Anonymous 3)

Sastojak	Vrijednost
Vitamin A	0,0163 g
Vitamin E	0,1130 g
Tiamin	0,0026 g
Niacin	0,0205 g
Riboflavin	0,0082 g
Kalcij	2,0030 g
Kalij	1,3240 g
Magnezij	0,3680 g
Željezo	0,0282 g
Cink	0,0033 g
Bakar	0,0006 g

3.2. METODE RADA

3.2.1. Priprema ekstrakta moringe

Na analitičkoj vagi je izvagano 10 g praha moringe u laboratorijsku čašu. Destilirana voda je zagrijana do točke vrenja te je 200 mL preliveno preko praha moringe. Dobivena otopina se kuhala 30 min na grijaćoj ploči uz konstantno miješanje magnetskom miješalicom (Rotamix 550, Tehnica) pokrivena aluminijskom folijom (slika 4). Zatim se otopina ohladila na 60 °C te profiltrirala preko lijevka s filter papirom (WhatmanTM, 150 mm).



Slika 4. Priprema ekstrakta moringe (vlastita fotografija)

3.2.2. Proizvodnja jogurta

Jogurtna kultura dostatna za fermentaciju 3,6 L mlijeka (0,0761 g) izvagana je na analitičkoj vagi (KERN KB, Balingen, Njemačka) i inokulirana u mlijeko temperirano na 43 °C. Jedan dio inokuliranog mlijeka razliven je u sterilizirane staklene bočice za proizvodnju jogurta bez dodatka moringe, odnosno za kontrolne uzorke. U drugi dio inokuliranog mlijeka dodan je prethodno pripremljeni ekstrakt moringe u udjelima od 1 , 3 i 4 % i razliven u sterilne staklene bočice za fermentaciju. Bočice su pokrivene aluminijskom folijom i stavljene na fermentaciju u termostat (INKO 1935., Zagreb) na 43 °C. Tijekom fermentacije praćena je pH vrijednost te broj laktobacila i streptokoka, a kada je pH vrijednost iznosila 4,6 bočice s jogurtima izvađene su iz termostata i stavljene na hlađenje kako bi se prekinula fermentacija. Dobiveni jogurti skladišteni su u hladnjaku (+4 °C) 28 dana te su 7., 14., 21. i 28 dan provedene analize.

3.2.3. Određivanje kiselosti

Određivanje pH vrijednosti i titracijske kiselosti (°SH) provedeno je u mlijeku prije fermentacije. Za vrijeme fermentacije svakih sat vremena mjerena je pH vrijednost kako bi se fermentacija mogla pratiti i zaustaviti kad se pH dobivenih jogurta približi vrijednosti 4,6. Zatim su u razdoblju skladištenja jogurta vrijednosti pH i °SH mjerene 1., 7., 14., 21. i 28. dan

kako bi se vidjele promjene u kiselosti jogurta s dodatkom ekstrakta moringe u odnosu na kontrolni jogurt.

3.2.3.1. *Određivanje kiselosti mlijeka i fermentiranih mliječnih napitaka pH-metrom*

Parametar pH vrijednost predstavlja negativni logaritam koncentracije vodikovih iona u otopini te je mjerilo za aktivnu kiselost svježeg mlijeka. Koncentracija vodikovih iona najčešće se mjeri pH-metrom ili titracijskim metodama (Božanić i sur., 2010).

Elektroda pH-metra (WTW pH3110, Njemačka) prvo je isprana destiliranom vodom i posušena staničevinom. Prije početka provođenja analize provedena je kalibracija elektrode pH metra prema uputama proizvođača. Elektroda je potom lagano uronjena u čašu s mlijekom ili fermentiranim mliječnim napitkom te je nakon što se ustalila, očitana pH vrijednost. Zatim je elektroda dobro isprana destiliranom vodom, posušena staničevinom te uronjena u otopinu KCl-a do sljedeće upotrebe.

3.2.3.2. *Titracijske metode*

Jennes i Patton (1967) definiraju određivanje titracijske kiselosti kao mjerenje puferske sposobnosti mlijeka. Naime, svježe mlijeko zahvaljujući CO₂, proteinima, fosfatima i citratima djeluje kao pufer čemu pridonose i laktati i ostali organski anioni proizvedeni djelovanjem mikroorganizama. Određivanjem titracijske kiselosti mlijeka mjeri se tzv. latentna kiselost koja potječe od trenutno nedisociranih kiselih sastojaka s velikim puferskim kapacitetom (Stelkić, 1968).

Titracijska kiselost određuje se titracijom mlijeka s otopinom NaOH (Gram – Mol, Hrvatska) određenog molariteta uz indikator fenolftalein. Metoda po Soxhlet-Henkelu u Republici Hrvatskoj predstavlja referentnu titracijsku metodu za određivanje stupnja kiselosti mlijeka i mliječnih proizvoda. Rezultati se izražavaju u stupnjevima po Soxhlet-Henkelu (°SH).

Odvaga (20 g) fermentiranog napitka pipetom je prenesena u dvije Erlenmeyerove tikvice i razrijeđena s 20 mL destilirane vode. Prva tikvica je služila kao standardna boja do koje se mora titrirati analizirani uzorak, a pripremljena je tako da je u nju otpipetirano 0,4 mL 5 %-tne otopine kobaltova sulfata. U drugu Erlenmeyerovu tikvicu otpipetirano je 2 mL otopine fenolftaleina, a zatim titrirano s 0,1 M NaOH. Volumen utrošen za titraciju je očitana kad je postignuta boja otopine jednake onoj u prvoj tikvici.

Titracijska kiselost izračunata je prema izrazu:

$$[a \times 2 \times f = \text{°SH}]$$

gdje je:

a - 0,1 M NaOH mL utrošenih za neutralizaciju 20 mL mlijeka

f - faktor otopine natrijeve lužine (NaOH) 0,1 M = 1 (Sabadoš, 1998).

3.2.4. Određivanje sinereze fermentiranog mlijeka

Sinereza je pojava izdvajanja sirutke ili seruma iz proteinske mreže koja zbog toga postaje vidljiva na površini proizvoda. Izdvajanje sirutke može biti spontano ili pod utjecajem vanjske sile, a posljedica je dinamičke kontrakcije nestabilne proteinske mreže ili prekomjerne preraspodjele čestica kazeina unutar mreže. Stupanj sinereze jogurta ovisi o brojnim tehnološkim parametrima kao što su udio proteina i mliječne masti u mlijeku, način i vrsta homogenizacije mlijeka, uvjeti inkubacije i sl. (Samaržija, 2015).

U kivete od 50 mL odvagano je oko 20 g jogurta. Zatim su kivete s uzorcima centrifugirane na centrifugalnom separatoru (IKA, Rotina 380 R, Njemačka) pri 5 000 okretaja u minuti tijekom 10 min. Nakon centrifugiranja, pipetom se odvojio supernatant, a zaostali talog u kiveti se izvagao. Razlika u masama predstavlja masu odvojenog supernatanta, a izdvojeni supernatant je u rezultatima prikazan u volumnim vrijednostima.

3.2.5. Određivanje reoloških svojstava fermentiranih proizvoda

Reologija se bavi proučavanjem deformacija i protjecanja krutih i tekućih tvari podvrgnutih djelovanju sile. U prehrambenoj industriji reologija ima veliki značaj jer definira i opisuje teksturalna svojstva prehrambenih proizvoda. Za određivanje teksture fermentiranih mliječnih napitaka potrebne su složene analize različitih svojstava kao što su čvrstoća, stabilnost i viskoznost gela te intenzitet sinereze. Navedeni parametri razlikuju se ovisno o sastavu mlijeka, strukturi proteina, udjelu masti i stabilnosti emulzije masti u mlijeku, koncentraciji fosfatnih i kalcijevih iona u mlijeku, vrsti starter kulture korištene za fermentaciju, uvjetima fermentacije, uvjetima čuvanja i dr. (Stijepić i sur., 2011).

Viskoznost svih fermentiranih mlijeka pa tako i jogurta, kompleksan je reološki parametar kvalitete koji predstavlja osnovu za optimiranje tehnološkog procesa, procesnu kontrolu i

potrošačku prihvatljivost proizvoda. Na vrijednost viskoznosti jogurta utječu sastav mlijeka od kojeg se jogurt priprema, način standardizacije mlijeka, toplinska obrada mlijeka, vrsta mikrobnog kulture koja se koristi za fermentaciju mlijeka, količina inokuluma, temperatura i trajanje fermentacije. Također, na viskoznost mogu utjecati i dodaci koji se koriste kod proizvodnje jogurta. Utjecaj dodataka može biti pozitivan i negativan, ovisno o vrsti i količini koje se koriste (Zamberlin i sur., 2007).

Viskoznost je svojstvo tekućine da se opire promjeni položaja svojih molekula, odnosno trenje koje djeluje unutar tekućine kao otpor tečenju. Deformacija izazvana djelovanjem sile može se izraziti kao gradijent brzine između dviju ploha, a izraz koji to opisuje je poznat kao Newtonov zakon:

$$[\tau = \mu * \gamma]$$

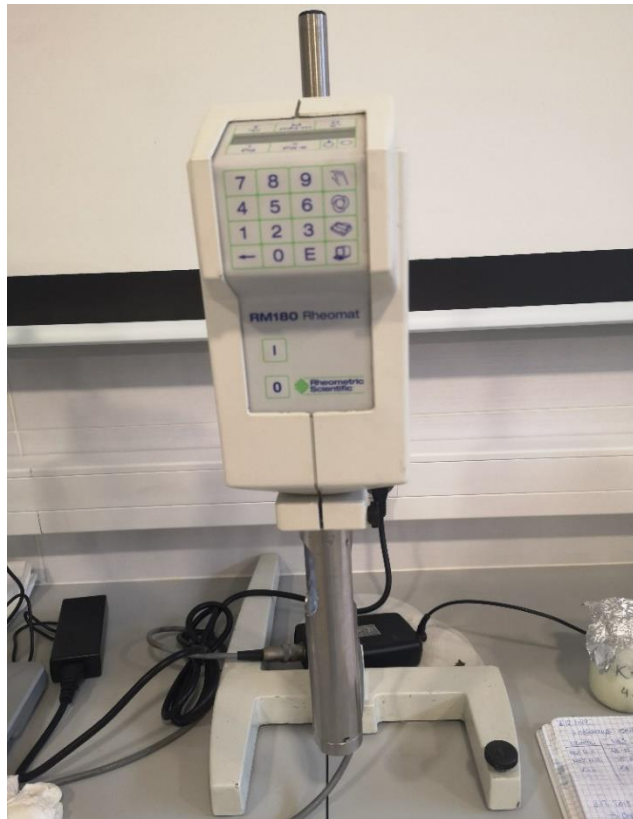
gdje je:

τ = smično naprezanje (Pa)

μ = viskoznost (Pa s)

γ = brzina smicanja (1 s^{-1}) (Lovrić, 2003).

Viskoznost jogurta mjerena je na rotacijskom reometru (Rheometric Scientific RM-180, Rheometric, Inc., Piscataway, SAD) (slika 5) koji se sastoji od cilindričnog vretena (br. 1 ϕ 30 mm, l = 45 mm) i vanjskog plašta (br. 1, ϕ 32,54 mm). U vanjski plašt stavljeno je 32 mL uzorka. Cilindrično vreteno s vanjskim plaštom se pričvrstilo za tijelo uređaja kako bi vreteno tijekom rotacije bilo konstantno uronjeno u uzorak. Za mjerenje obrnutog momenta koji se javlja na rotirajućem vretenu korišteno je relativno obrtanje mjerne osovine u odnosu na pogonsku osovinu. Uređaj potencijometar vezan je na dinometar i prima podatke o relativnom obrtanju, pri čemu se obrtni moment pretvara u električni signal koji se prevodi u digitalnu vrijednost koja je očitana sa zaslona uređaja. Mjerenje viskoznosti provedeno je 1., 7., 14., 21. i 28. dan čuvanja jogurta u području brzine smicanja od 100 do 1290 s^{-1} .



Slika 5. Rotacijski reometar (vlastita fotografija)

3.2.6. Mikrobiološke analize mlijeka i mliječnih proizvoda

Mikrobiološke analize provedene su u pasteuriziranom inokuliranom mlijeku, neposredno prije fermentacije, u jogurtima s ekstraktom moringe (1, 3 i 4 %) i u kontrolnim uzorcima jogurta. Broj laktobacila i streptokoka je određen na početku fermentacije, na kraju fermentacije te na kraju perioda hladnog skladištenja od 28 dana. Uzorci za mikrobiološku analizu pripremljeni su u sterilnim uvjetima kako bi se spriječila kontaminacija. Aseptični uvjeti postignuti su suhom sterilizacijom laboratorijskog posuđa korištenog za analize, dezinficiranjem radne površine etanolom i sve su analize provedene pri otvorenom plamenu.

Mikrobiološka analiza radila se u svrhu određivanja broja živih bakterijskih stanica bakterija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* koji su sastavni dio jogurtne kulture korištene za inokulaciju mlijeka. Stoga su korištene dvije vrste podloga: MRS-agar za laktobacile i M17-agar za streptokoke (obje podloge Biolife, Italija). MRS agar naročito je pogodan za razvoj i rast laktobacila. Osnovne komponente te podloge su ekstrakt mesa, ekstrakt kvasca, glukoza, pepton i tween 80. Konačni pH je 6,5 (Koritnik i Dragojlov, 1974). M17 agar koristi se za izolaciju i razmnožavanje bakterija iz roda *Streptococcus*, posebice za

selektivnu izolaciju bakterije *Streptococcus thermophilus* iz jogurta. Bogat je ekstraktom kvasca, mesa, mineralima, laktozom, a visoka koncentracija natrijevog glicerolfostfata inhibira rast laktobacila i omogućuje kultivaciju laktičkih streptokoka (Terzaghi i Sandine, 1975; IDF, 1981).

Iz homogeniziranog uzorka mlijeka sterilnom mikropipetom prenesen je 1 mL uzorka u epruvetu koja je prethodno napunjena s 9 mL sterilne fiziološke otopine. Nastalo razrjeđenje se homogeniziralo na vorteks mješalici te se čistim sterilnim nastavkom za mikropipetu prenijelo 1 mL homogeniziranog razrjeđenja u sljedeću epruvetu s 9 mL sterilne fiziološke otopine. Postupak je ponavljan dok se nije dobio željeni broj decimalnih razrjeđenja. Mikrobiološka analiza navedenih uzoraka provodila se primjenom direktne metode naciepljivanja decimalnih razrjeđenja na odgovarajuće prethodno pripremljene hranjive podloge i inkubacijom pri 43 °C.

Očitavanje rezultata

Nakon 3 dana inkubacije pri 37 °C izbrojane su kolonije koje su narasle na podlogama. Za brojanje su odabrane one podloge na kojima je naraslo od 30 do 300 kolonija. Broj poraslih kolonija po mL (eng. *Colony-forming Unit*, CFU) izračunat je prema formuli:

[CFU mL⁻¹ = broj kolonija / nasaden volumen x recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja]

3.2.7. Određivanje udjela fenolnih spojeva u jogurtu s ekstraktom moringe

Fenolni spojevi mogu se analizirati primjenom spektrofotometrijskih i kromatografskih metoda. Spektrofotometrijske metode su vrlo praktične i jednostavne, a za određivanje ukupnih fenola najviše se upotrebljava metoda s Folin-Ciocalteu reagensom. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosforwolframove i fosformolibdenske kiseline, a pri oksidaciji fenolnih tvari u blago alkalnim uvjetima ove kiseline se reduciraju do wolframovog oksida i molibdenovog oksida koji su plavo obojeni. Redukcija ovih kiselina bit će intenzivnija što je u fenolnim spojevima prisutan veći broj hidroksilnih skupina ili oksidirajućih grupa. Samim time nastalo plavo obojenje je jače i stabilnije, a intenzitet obojenja mjeri se pri valnoj duljini od 765 nm.

Priprema uzoraka:

Odvaga (20 g) uzorka jogurta s ekstraktom moringe izvagano je u falkonicu od 50 mL te centrifugirano 10 min pri 5 000 okretaja. Nakon centrifugiranja, pipetom je odvojen supernatant u kojem je određen udio ukupnih fenola.

Postupak određivanja:

U staklenu epruvetu otpipetirano je redom 100 μL ekstrakta, 200 μL Folin-Ciocalteu reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute dodano je 1 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sve skupa je promiješano pomoću vorteks mješalice, a potom su uzorci termostatirani 25 minuta pri 50 °C u vodenoj kupelji. Zatim je izmjerena apsorbanacija pri valnoj duljini od 765 nm. Na isti način pripremljena je slijepa proba, ali se umjesto uzorka koristilo otapalo za ekstrakciju (destilirana voda).

Izračun

Izrada baždarnog pravca

Za pripremu baždarnog pravca odvagano je 0,5 g galne kiseline i otopljeno u 10 mL 96 %-tnog etanola u odmjerne tikvici od 100 mL, koja je zatim nadopunjena do oznake destiliranom vodom. Zatim su od otopine galne kiseline napravljena razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL kako bi se dobile koncentracije galne kiseline od 50, 100, 150, 250 i 500 mg L^{-1} . Iz svake tikvice otpipetirano je 100 μL otopine standarda u staklene epruvete. Potom je redom dodano 200 μL Folin-Ciocalteu reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute dodano je 1 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sve skupa se promiješalo na vorteks mješalici i zatim termostatiralo u kupelji 25 minuta pri 50 °C. Apsorbancija je izmjerena pri valnoj duljini od 765 nm.

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbanacija nacrtan je baždarni dijagram u programu Microsoft Excel. Na apscisu su nanese vrijednosti koncentracija galne kiseline, a na ordinatu izmjerene vrijednosti apsorbanacija pri čemu je dobiven pravac uz pripadajuću jednadžbu. Udio ukupnih fenola izražen je kao mg L^{-1} , a izračunat je prema dobivenoj jednadžbi pravca koja glasi:

$$[y = 0,0035 x]$$

Gdje je:

y - izmjerena apsorbanacija pri 765 nm

x - koncentracija galne kiseline (mg L^{-1}) (Shortle i sur., 2014).

3.2.8. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta jogurta s ekstraktom moringe FRAP metodom
FRAP metoda temelji se na reakciji žuto obojenog kompleksa željezo-2,4,6-tripiridil-s triazina (TPTZ) pri čemu nastaje plavo obojeni produkt. Reakcija se odvija u kiselom mediju pri pH 3,6 čime se osigurava topljivost željeza i niži ionizacijski potencijal potreban za prijenos elektrona,

a ujedno povećava i redoks potencijal koji dodatno pomiče reakciju u smjeru prijenosa elektrona. Intenzitet boje je proporcionalan redukcijskoj sposobnosti antioksidansa (Hagerman i sur., 1998; Šimić i Jovanović 1994).

Metoda je jednostavna, jeftina i brza, stoga se koristi za određivanje antioksidacijskog kapaciteta u različitim vrstama namirnica. Rezultati se najčešće izražavaju preko FeSO_4 , ekvivalenta troloxa ili askorbinske kiseline (Benzie i Strain, 1996).

Priprema uzoraka:

Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta uzorak je pripremljen na jednak način kao za određivanje udjela ukupnih fenola.

Postupak određivanja:

U staklenu epruvetu redom je otpipetirano 240 μL destilirane vode, 80 μL uzorka i 2080 μL prethodno pripremljenog FRAP reagensa. Sadržaj se dobro promiješao i 5 min termostatirao pri 37 °C u vodenoj kupelji. Zatim je izmjerena apsorbancija pri 593 nm. Slijepa proba sadrži sve osim uzorka, umjesto kojeg se dodalo otapalo (destilirana voda).

Izračun

Izrada baždarnog pravca

Za pripremu baždarnog pravca pripremljeno je 500 mL 1 mM otopine željezo (II) sulfata septahidrata od koje su napravljena razrjeđenja u koncentracijama 0, 25, 100, 250, 500 i 750 μL . U staklenu epruvetu redom je otpipetirano 240 μL destilirane vode, 80 μL otopine standarda i 2080 μL prethodno pripremljenog FRAP reagensa, kratko pomiješano na vorteks mješalici i termostatirano pri 37 °C u vodenoj kupelji. Zatim je izmjerena apsorbancija na 593 nm. Slijepa proba sadrži sve osim uzorka, umjesto kojeg je dodana destilirana voda.

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancije nacrtan je baždarni dijagram s vrijednostima koncentracije $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ na apscisi, a vrijednostima apsorbancije na ordinati. Na temelju dobivenih rezultata dobivena je jednadžba pravca iz koje su izračunate vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta uzoraka. Na temelju dobivenih rezultata jednadžba pravca glasi:

$$[y = 0,0014 x - 0,0155]$$

Gdje je : x – ekvivalent Fe^{2+} ($\mu\text{mol/L}$)

y – apsorbancija pri 593 nm

Prema dobivenoj jednadžbi pravca izračunate su vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta uzoraka jogurta i izražene su kao kao $\mu\text{mol ekvivalenata Fe}^{2+} \text{ L}^{-1}$.

3.2.9. Određivanje boje fermentiranih mliječnih proizvoda

Mjerenje boje provedeno je pomoću uređaja Spectrophotometer CM-3500d (Konica Minolta, Japan). Određivana su tri parametra boje: L^* (svjetlina), a^* (odnos crvene i zelene) i b^* (odnos žute i plave). Prije svakog mjerenja instrument je standardiziran s bijelom i crnom keramičkom pločicom. Uzorak jogurta stavljen je u staklenu kivetu, koja je zatim umetnuta u spektrofotometar. Na računalnom programu pokrenuto je očitavanje i rezultati su prikazani na računalu spojenom na spektrofotometar (slika 6).



Slika 6. Spektrofotometar CM-3500d (vlastita fotografija)

3.2.10. Senzorsko ocjenjivanje fermentiranih mliječnih proizvoda

Senzorska analiza je znanstvena disciplina koja potiče, mjeri, analizira i interpretira reakcije onih karakteristika hrane i tvari koje se zapažaju osjetilima vida, mirisa, okusa, dodira i sluha. Senzorski panel provodi senzorsku analizu (Šurić, 2016).

U ovom istraživanju skupina od 5 panelista ocjenjivala je uzorke jogurta s ekstraktom moringe i kontrolnih uzoraka jogurta. Uzorci su ocjenjivani 1., 7., 14., 21. i 28. dan skladištenja. Praćeni su sljedeći senzorski parametri: izgled, boja, konzistencija, miris i okus jogurta. Koristila se metoda bodovanja s ponderiranim sustavom bodova. Primjer obrasca za senzorsko ocjenjivanje fermentiranih mliječnih proizvoda nalazi se u tablici 5.

Tablica 5. Obrazac za senzorsku ocjenu fermentiranih mliječnih proizvoda sustavom od 20 ponderiranih bodova (Pravilnik, 2004)

Svojstvo	Najviši broj bodova	Postignut broj bodova	Napomena
Izgled	1		
Boja	1		
Konzistencija	4		
Miris	2		
Okus	10		
Sinereza	2		
Ukupno	20		

3.2.11. Obrada rezultata

Analizirani jogurti su napravljeni u duplikatu. Rezultati prikazani u poglavlju „Rezultati i rasprava“ su srednje vrijednosti dobivenih rezultata.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je proizvesti jogurte s dodatkom ekstrakta lista moringe te odrediti fizikalno-kemijske, reološke, mikrobiološke i senzorske karakteristike tijekom hladnog skladištenja u razdoblju od 28 dana. Proizvedeni su kontrolni uzorak jogurta bez dodataka i jogurti s 1, 3 i 4 % ekstrakta. Jogurti s ekstraktom moringe uspoređeni su s kontrolnim uzorkom jogurta.

Rezultati pH vrijednosti izmjerenih tijekom fermentacije jogurta prikazani su u tablici 6, a rezultati pH vrijednosti izmjerenih tijekom 1., 7., 14., 21. i 28. dana skladištenja prikazani su u tablici 7.

Rezultati °SH vrijednosti izmjerenih tijekom 1., 7., 14., 21. i 28. dana skladištenja prikazani su u tablici 8.

Rezultati sinereze jogurta prvi i zadnji skladištenja prikazani su u tablici 9.

Rezultati reoloških analiza jogurta 1., 7., 14., 21. i 28. dan skladištenja prikazani su na slikama 7, 8, 9, 10 i 11.

Rezultati mikrobioloških analiza jogurta tijekom fermentacije prikazani su u tablicama 10 i 11, a rezultati mikrobioloških analiza zadnjeg dana skladištenja jogurta prikazani su u tablicama 12 i 13.

Rezultati određivanja udjela ukupnih fenola u jogurtima tijekom 1., 7., 14., 21. i 28. dana skladištenja prikazani su u tablici 14.

Rezultati određivanja antioksidacijskog kapaciteta jogurta 1., 7., 14., 21. i 28. dan skladištenja prikazani su u tablici 15.

Rezultati boje jogurta tijekom 1., 7., 14., 21. i 28. dana skladištenja prikazani su u tablici 16.

Rezultati senzorske analize jogurta tijekom 1., 7., 14., 21. i 28. dana skladištenja prikazani su na slikama 12, 13, 14, 15 i 16.

4.1. AKTIVNA I TITRACIJSKA KISELOST JOGURTA

U tablici 6 je prikazana srednja vrijednost pH jogurta tijekom fermentacije, gdje se može vidjeti kako je dodatak moringe u mlijeko imao utjecaja na skraćivanje vremena fermentacije. Fermentacija jogurta s dodatkom 1, 3 i 4 % ekstrakta trajala je 4 sata, dok je fermentacija kontrolnog jogurta trajala 5 sati, što je kraće vrijeme fermentacije za čak jedan sat. Vrijednost pH svih uzoraka jogurta s moringom tijekom fermentacije znatno je pala već nakon 3 sata i niža je od pH vrijednosti kontrolnog jogurta za otprilike 0,40 pH jedinica. Na kraju fermentacije uzoraka koji su bili obogaćeni moringom pH vrijednost je iznosila 4,6 jedinica, a u isto vrijeme je kontrolni uzorak imao za oko 0,30 pH jedinica višu vrijednost. S obzirom na dobivene rezultate može se zaključiti da dodatak ekstrakta lista moringe u mlijeko prije fermentacije, uzrokuje brže sniženje pH vrijednosti isto kao i brže sniženje tijekom fermentacije što je sukladno rezultatima istraživanja Zhang i sur. (2018). Njihov zaključak je bio da do bržeg sniženja pH vrijednosti prilikom fermentacije jogurta s dodatkom moringe dolazi zbog pozitivnog utjecaja na rast i razmnožavanje bakterija jogurtne kulture.

Tablica 6. pH vrijednost jogurta tijekom fermentacije (n=2)

Uzorak	pH prije fermentacije	pH nakon 1 h	pH nakon 2 h	pH nakon 3 h	pH nakon 4 h	pH nakon 5 h
Svježe mlijeko	6,77	/	/	/	/	/
Kontrola	6,64	6,56	6,26	5,42	4,91	4,63 kraj fermentacije
Moringa 1 %	6,63	6,57	6,55	5,03	4,64 kraj fermentacije	
Moringa 3 %	6,62	6,57	6,11	4,99	4,63 kraj fermentacije	
Moringa 4 %	6,61	6,58	5,94	4,98	4,61 kraj fermentacije	

Prema prikazanim rezultatima u tablici 7 može se vidjeti da su pH vrijednosti u gotovo svim uzorcima jogurta s ekstraktom lista moringe tijekom hladnog skladištenja niže od pH vrijednosti kontrolnog jogurta. Rezultati su u skladu s rezultatima istraživanja Saad i Elkhtab (2019) prema kojem do sniženja pH vrijednosti dolazi zbog povećanog rasta i aktivnosti jogurtne kulture tijekom skladištenja jogurta, a samim time dolazi do povećanja kiselosti jogurta.

Tablica 7. pH vrijednosti jogurta za vrijeme hladnog skladištenja (n=2)

Uzorak	pH 1. dan	pH 7. dan	pH 14. dan	pH 21. dan	pH 28. dan
Kontrola	4,53	4,32	4,27	4,34	4,37
Moringa 1 %	4,51	4,22	4,12	4,35	4,32
Moringa 3 %	4,43	4,21	4,24	4,36	4,36
Moringa 4 %	4,40	4,15	4,21	4,29	4,32

Rezultati titracijske kiselosti jogurta iz tablice 8 pokazuju kako se tijekom skladištenja jogurta kiselost povećava s duljinom skladištenja, a najviša vrijednost postignuta je 21. dan skladištenja. Sukladno rezultatima mjerenja ionizacijske kiselosti gdje su pH vrijednosti jogurta s dodatkom ekstrakta moringe niže u odnosu na kontrolni uzorak, titracijska kiselost jogurta s moringom je viša u usporedbi s kontrolnim jogurtom. Jogurtu s dodatkom 4 % ekstrakta moringe izmjerena je najviša titracijska kiselost tijekom skladištenja isto kao što mu je izmjerena i najniža pH vrijednost.

Tablica 8. °SH vrijednosti jogurta za vrijeme hladnog skladištenja (n=2)

Uzorak	SH° prije fermentacije	SH° 1.dan	SH° 7. dan	SH° 14. dan	SH° 21. dan	SH° 28. dan
Svježe mlijeko	8,30	/	/	/	/	/
Kontrola	9,07	35,67	37,30	37,13	39,40	36,80
Moringa 1 %	9,10	32,80	38,40	38,80	39,20	38,02
Moringa 3 %	8,80	39,50	39,40	39,80	43,20	38,80
Moringa 4 %	8,80	41,50	39,30	41,20	46,00	36,30

4.2. SINEREZA JOGURTA

Rezultati sinereze jogurta (tablica 9) pokazuju kako je sinereza jače izražena nakon 28 dana hladnog skladištenja kod svih uzoraka jogurta, nego na početku čuvanja. U jogurtima s dodatkom ekstrakta moringe izdvojio se manji volumen sirutke, nego kod kontrolnog uzorka jogurta. To se posebice može uočiti u zadnjem danu skladištenja gdje je razlika u količini izdvojene sirutke između kontrolnog jogurta i svim uzorcima jogurta s dodatkom ekstrakta moringe čak 1 mL.

Tablica 9. Sinereza jogurta prvi i zadnji dan skladištenja (n=2)

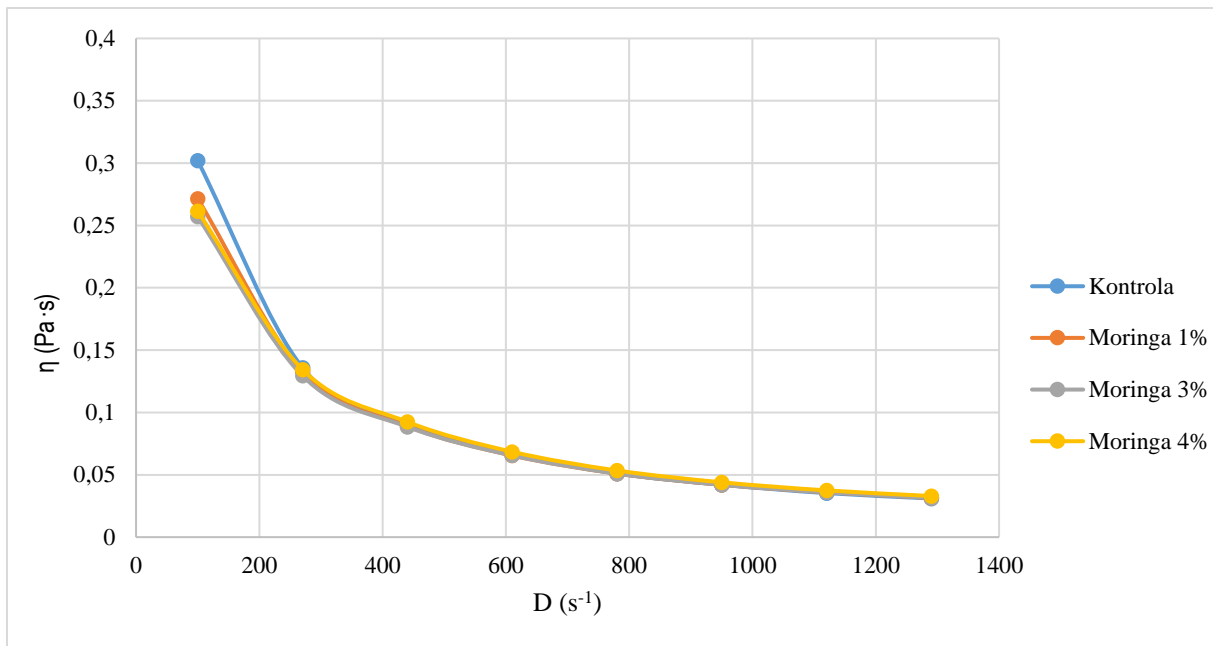
Uzorak	1. dan	28. dan
Kontrola	8,42 mL	10,1 mL
Moringa 1 %	8,55 mL	8,99 mL
Moringa 3 %	8,4 mL	8,91 mL
Moringa 4 %	8,38 mL	8,89 mL

Dobiveni rezultati podudaraju se s rezultatima istraživanja Zhang i sur. (2018) u kojem je dokazano kako dodatak ekstrakta lista moringe uistinu smanjuje stupanj sinereze jogurta i to u značajnom postotku. Uzorci s moringom na površini nisu imali izdvojenu sirutku nakon skladištenja jogurta, te je njihova tekstura bila vidljivo finija. Zhang i sur. (2018) to objašnjavaju utjecajem ekstrakta moringe na povećanje sposobnosti gel matriksa jogurta da zadrži vodu.

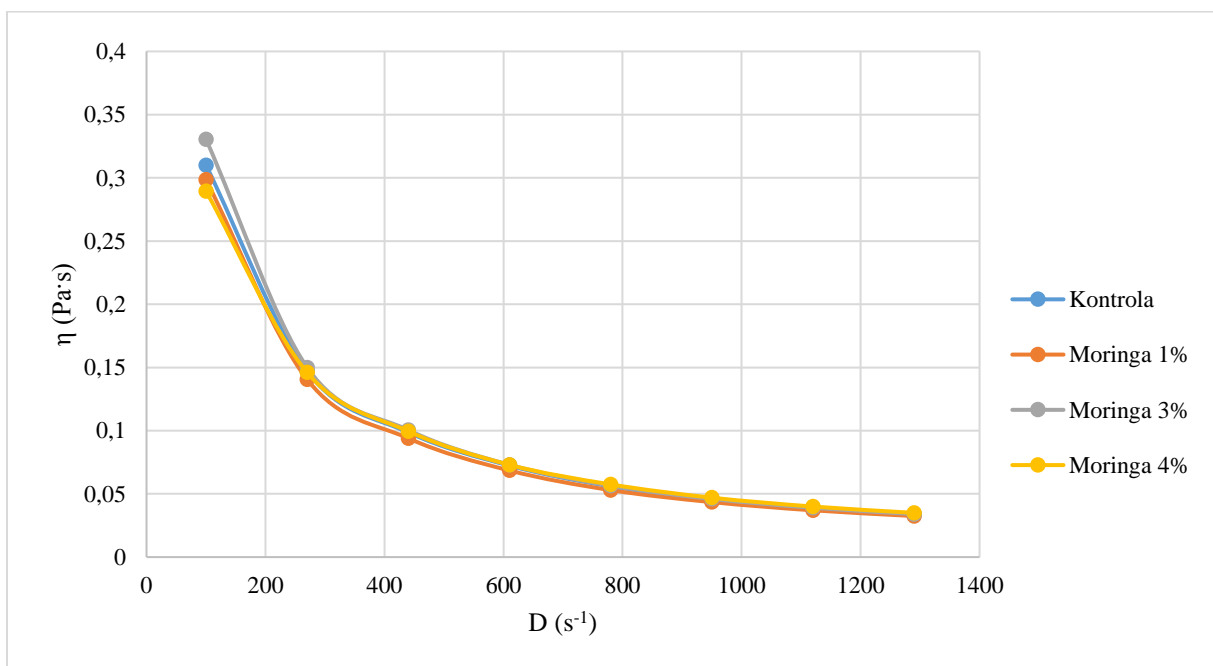
4.3. REOLOŠKA SVOJSTVA JOGURTA

Na početku skladištenja (1. dan) kontrolni uzorak jogurta je imao najveću viskoznost, dok su jogurti s 1 i 4 % ekstrakta lista moringe imali vidljivo manju viskoznost, a jogurt s 3 % ekstrakta moringe najmanju viskoznost (slika 7). Sedmog dana skladištenja (slika 8) viskoznost jogurta s 3 % moringe pokazuje najvišu vrijednost viskoznosti, zatim slijede kontrolni uzorak i jogurt s 1 % ekstrakta, dok jogurt s 4 % ekstrakta moringe ima najmanju viskoznost. Zatim, 14. dan skladištenja (slika 9) jogurt s 3 % moringe i dalje ima najveću viskoznost, slijede jogurt s 1 i 4 % ekstrakta moringe, dok kontrolni uzorak jogurta ima najmanju viskoznost, a isti trend se ponavlja i 21. dan čuvanja (slika 10), izuzev što jogurt s 4 % ekstrakta moringe ima nešto veću viskoznost od jogurta s 1 %. Zadnji dan skladištenja (28. dan) (slika 11) jogurt s 4 % ekstrakta ima najveću viskoznost, kontrolnom uzorku je izmjerena druga najviša vrijednost viskoznosti, dok su jogurtima s 3 i 1 % moringe izmjerene najniže vrijednosti viskoznosti.

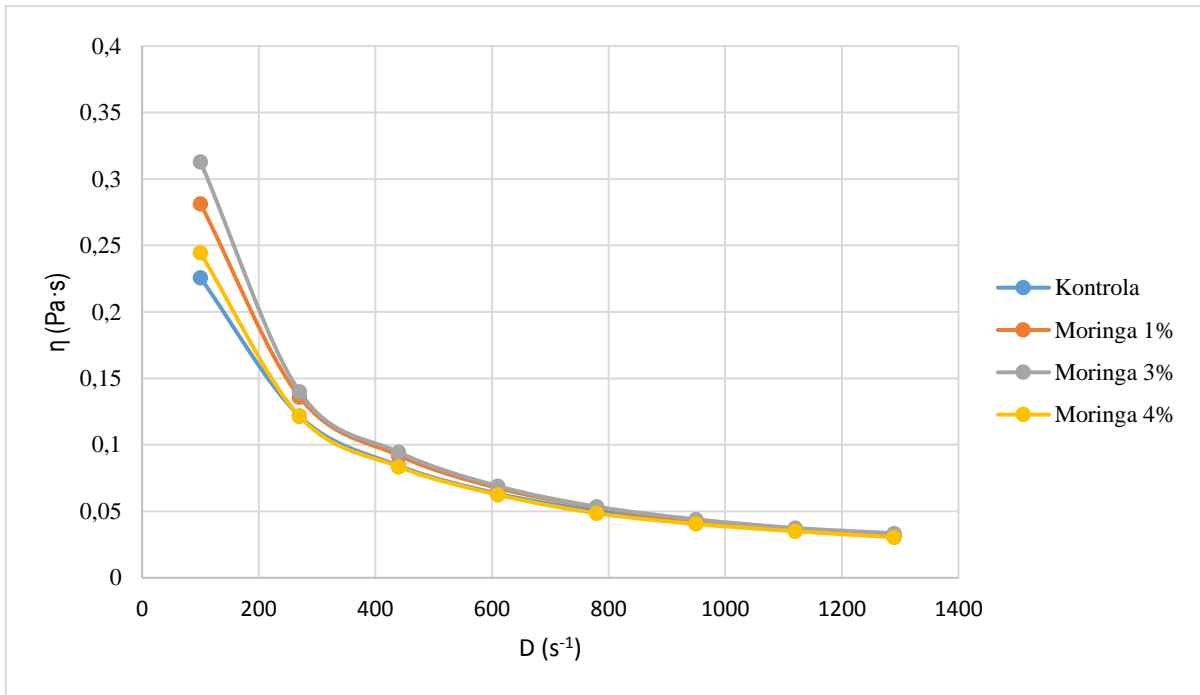
Prema dobivenim rezultatima vidljivo je kako dodatak ekstrakta moringe u jogurt uzrokuje povećanje viskoznosti s vremenom skladištenja u usporedbi s kontrolnim uzorkom jogurta. Zhang i sur. (2018) povezali su tu pojavu s udjelom polifenola u listu moringe koji imaju tendenciju vezanja na proteine. Polifenoli tvore komplekse s proteinima mlijeka kao npr. kazein, a to utječe na povećanje viskoznosti i samim time na bolja teksturalna svojstva.



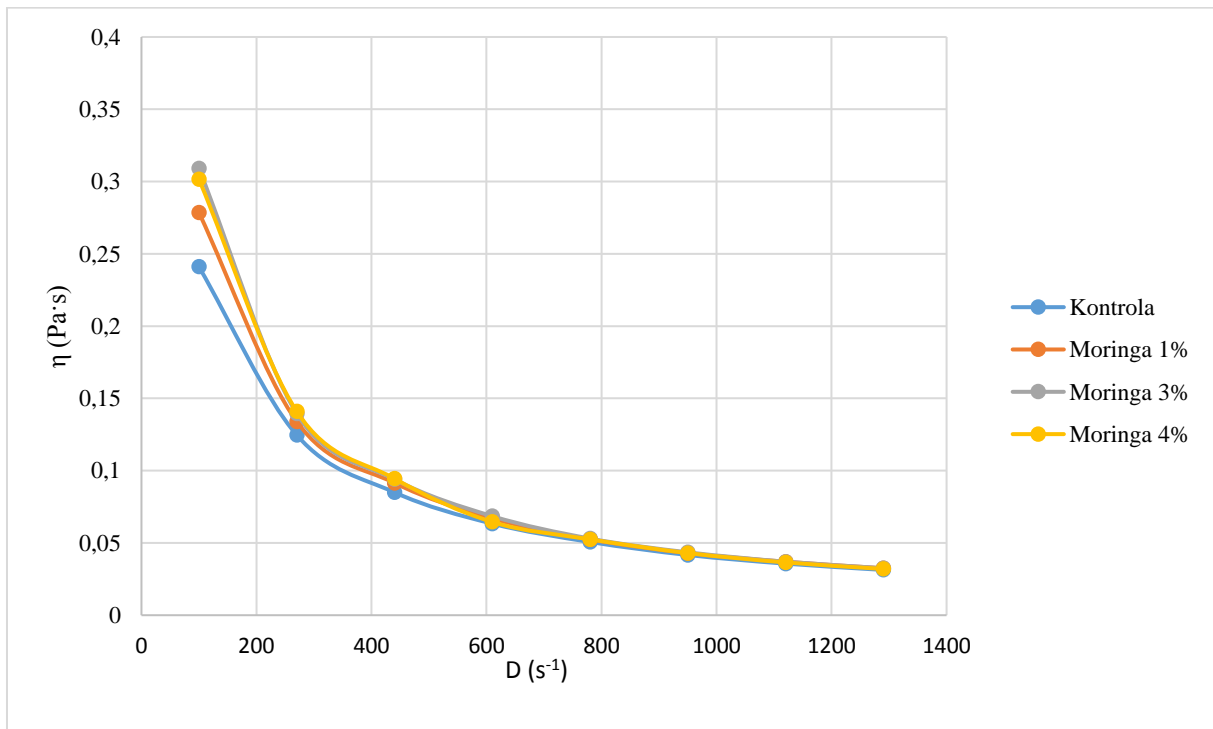
Slika 7. Viskoznost jogurta 1. dan skladištenja (n=2)



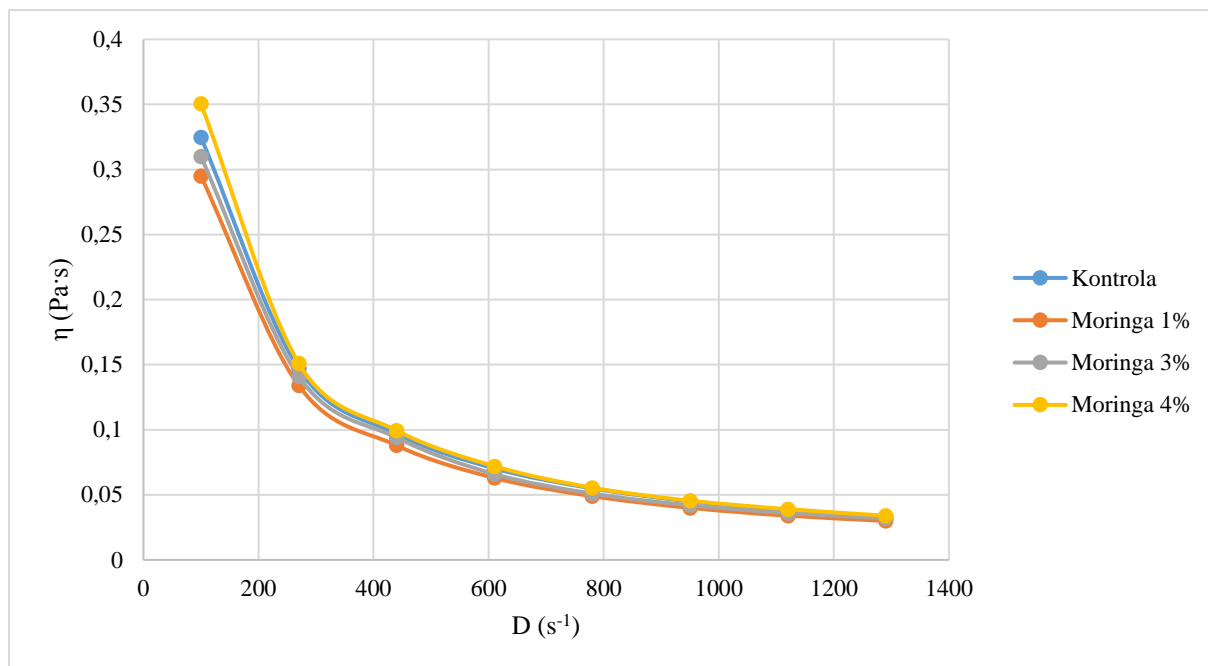
Slika 8. Viskoznost jogurta 7. dan skladištenja (n=2)



Slika 9. Viskoznost jogurta 14. dan skladištenja (n=2)



Slika 10. Viskoznost jogurta 21. dan skladištenja (n=2)



Slika 11. Viskoznost jogurta 28. dan skladištenja (n=2)

4.4. MIKROBIOLOŠKA SVOJSTVA JOGURTA

Tablica 10 prikazuje broj poraslih kolonija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* prije i nakon fermentacije jogurta. Dodatak od 3 % ekstrakta moringe u jogurt pokazalo se najučinkovitijim za rast laktobacila tijekom fermentacije u odnosu na kontrolni uzorak jogurta. Udio od 4 % ekstrakta moringe također je utjecao na porast broja kolonija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, iako je broj poraslih kolonija znatno manji u odnosu na jogurt s 3 % ekstrakta, a manji je čak i od porasta laktobacila u kontrolnom uzorku. Jogurt s 1 % ekstrakta moringe pokazao je pad u rastu broja laktobacila u usporedbi s brojem na početku fermentacije.

U tablici 11 vidljivo je kako se broj kolonija *Streptococcus thermophilus* povećao za vrijeme trajanja fermentacije. Uzorak jogurta s 3 % ekstrakta lista moringe pokazuje znatan porast streptokoka, dok jogurti s 1 i 4 % ekstrakta imaju manji broj streptokoka od kontrolnog uzorka jogurta na kraju fermentacije.

Tablica 10. Prosječni broj poraslih kolonija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (log CFU mL⁻¹) na MRS agaru na početku i kraju fermentacije jogurta (n=2)

Uzorak	log (CFU mL ⁻¹) početak fermentacije	log (CFU mL ⁻¹) kraj fermentacije
Kontrola	8,98	10,42
Moringa 1 %	8,98	8,75
Moringa 3 %	8,98	10,68
Moringa 4 %	8,98	9,18

Tablica 11. Prosječni broj poraslih kolonija *Streptococcus thermophilus* (log CFU mL⁻¹) na M17 agaru na početku i kraju fermentacije jogurta (n=2)

Uzorak	log (CFU mL ⁻¹) početak fermentacije	log (CFU mL ⁻¹) kraj fermentacije
Kontrola	6,95	9,93
Moringa 1 %	6,95	9,09
Moringa 3 %	6,95	11,66
Moringa 4 %	6,95	9,16

Zhang i sur. (2018) istražili su utjecaj dodatka 0,05, 0,1 i 0,2 % ekstrakta moringe na rast starter kulture tijekom proizvodnje jogurta. Svi jogurti s ekstraktom pokazali su značajan porast laktobacila u četvrtom satu fermentacije u odnosu na kontrolni uzorak bez ekstrakta moringe, te je njihov broj i dalje rastao do završetka fermentacije. Jogurt s 0,2 % ekstrakta potaknuo je

najveći porast kolonija *Streptococcus thermophilus* u odnosu na kontrolu. Nagli porast kolonije *Streptococcus thermophilus* zabilježili su u drugom satu fermentacije, dok je najveći broj kolonija zabilježen u zadnjem satu fermentacije.

Iz tablice 12 može se očitati promjena u broju kolonija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* nakon 28 dana hladnog skladištenja jogurta. Uspoređujući s brojem kolonija na kraju fermentacije (tablica 10), broj laktobacila svakako se smanjio tijekom skladištenja u svim uzorcima jogurta. Zadnji dan čuvanja, jogurti s 1, 3 i 4 % ekstrakta imali su uvelike smanjen broj kolonija laktobacila u usporedbi s kontrolnim uzorkom jogurta.

Tablica 13 pokazuje porasle kolonije *Streptococcus thermophilus* u jogurtima tijekom 28 dana hladnog skladištenja. Vidljivo je kako je broj kolonija zadnji dan čuvanja manji od broja kolonija pri završetku same fermentacije (tablica 11) kod kontrolnog uzorka i kod jogurta s 3 % ekstrakta moringe. Jogurti s 1 i 4 % ekstrakta pokazuju neznatan porast broja streptokoka, Uspoređujući uzorke jogurta s ekstraktom moringe i kontrolni uzorak jogurta, jogurt s 3 % ekstrakta ima manji broj streptokoka u odnosu na kontrolu, a jogurti s 1 i 4 % ekstrakta imaju gotovo zanemarivo veći broj kolonija.

Rezultati jogurta s 1, 3 i 4 % ekstrakta moringe odgovaraju istraživanju koje su proveli Saad i Elkhtab (2019) čiji rezultati prikazuju pad broja laktobacila i streptokoka u jogurtima s ekstraktom moringe za vrijeme skladištenja u odnosu na kontrolu.

Tablica 12. Prosječni broj poraslih kolonija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (log CFU mL⁻¹) na MRS agaru zadnji dan hladnog skladištenja jogurta (n=2)

Uzorak	log (CFU mL ⁻¹) 28.dan
Kontrola	7,59
Moringa 1 %	3,98
Moringa 3 %	4,37
Moringa 4 %	5,58

Tablica 13. Prosječni broj poraslih kolonija *Streptococcus thermophilus* (log CFU mL⁻¹) na M17 agaru zadnji dan hladnog skladištenja jogurta (n=2)

Uzorak	log (CFU mL ⁻¹) 28.dan
Kontrola	9,01
Moringa 1 %	9,23
Moringa 3 %	8,8
Moringa 4 %	9,26

Povećani rast bakterija mliječne kiseline u jogurtu s dodatkom ekstrakta lista moringe može se pripisati komponentama moringe kao što su organske kiseline, fenolne kiseline i flavonoidi (Shokery i sur., 2017). Od navedenih nutritivnih komponenti organske kiseline posebice utječu na rast i razmnožavanje bakterija mliječne kiseline (Shori, 2013).

Srodna istraživanja na temu dodatka različitih biljnih ekstrakata u fermentirane mliječne proizvode pokazala su slične rezultate. Joung i sur. (2016) dokazali su kako dodatak ekstrakta lišća draguna i lišća duda utječe na porast kolonija laktobacila i streptokoka u jogurtu tijekom 12 sati fermentacije. Shokery i sur. (2017) dokazali su kako bogati nutritivni sastav ekstrakta zelenog čaja kojeg su dodali u jogurt također potiče rast *L. bulgaricus* i *S. thermophilus* neovisno o dodanoj koncentraciji ekstrakta.

Shodno navedenim rezultatima može se uočiti kako ekstrakti različitih biljaka bogatog polifenolnog sastava (uključujući i moringu) imaju prebiotičko djelovanje potičući rast bakterija jogurtne kulture.

4.5. UDIO UKUPNIH FENOLA U JOGURTIMA

Fenolni spojevi su sekundarni biljni metaboliti i prisutni su u velikom broju biljaka. Osnovnu strukturu fenolnih spojeva čini aromatski prsten na koji može biti vezana jedna ili više hidroksilnih skupina, a prema osnovnoj kemijskoj strukturi dijele se na flavonoide i ne flavonoide.

Fenolni spojevi značajno utječu na miris, okus i boju hrane jer su uključeni u procese nastajanja tvari boje, okusa i arome svojstveno svakoj pojedinoj biljci. Sudjeluju u brojnim važnim

biokemijskim procesima tijekom zrenja i dozrijevanja biljke, a njihovo djelovanje je antioksidacijsko i antimikrobno.

Iz tablice 14 se može vidjeti kako jogurti s ekstraktom lista moringe imaju viši udio ukupnih fenola od kontrolnog jogurta. Gledajući prvi i zadnji dan, fenoli su tijekom skladištenja kod kontrole više – manje konstantni za vrijeme skladištenja, a kod uzoraka s moringom su u porastu osim kod uzorka s 3 % moringe. Uspoređujući međusobno uzorke jogurta s dodatkom ekstrakta moringe, uzorak s 4 % ekstrakta lista moringe ima najviši udio ukupnih fenola, dok jogurt s 1 % ekstrakta ima najniži udio što i odgovara udjelima koji su dodani u jogurte. Sun-Waterhouse i sur. (2013) istražili su utjecaj dodatka polifenolnog ekstrakta bobičastog voća prije i nakon mliječne fermentacije na polifenolni udio jogurta. Jogurti su podvrgnuti određivanju polifenola HPLC-om, a rezultati su pokazali kako dodatak ekstrakta bobica prije fermentacije rezultira višim udjelom fenolnih spojeva u jogurtu nego kod jogurta gdje je ekstrakt dodan nakon fermentacije.

Tablica 14. Udio ukupnih fenola u jogurtu tijekom hladnog skladištenja (mg L^{-1})

(n = 2)

Uzorak	1. dan	7. dan	14. dan	21. dan	28. dan
Kontrola	73,33	76,05	75,81	86,86	73,57
Moringa 1 %	81,71	87,43	78,29	90,86	92,86
Moringa 3 %	89,14	87,43	103,14	97,57	67,29
Moringa 4 %	94,00	86,86	105,43	111,21	102,43

4.6. ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET JOGURTA

Antioksidansi su kemijske tvari koje sprječavaju oksidaciju spojeva. U biološkim sustavima onemogućuju djelovanje slobodnih radikala koji su oksidansi kad su u suvišku, odnosno kad je njihova koncentracija viša nego što je to potrebno za odvijanje normalnih fizioloških reakcija. Slobodni radikali su molekule koji imaju jedan nesporeni elektron i stoga su vrlo reaktivni. Antioksidansi djeluju tako da inaktiviraju slobodne radikale i onemogućuju lančanu reakciju nastanka novih radikala te tako sprječavaju njihovo štetno djelovanje na organizam (Halliwell, 1990).

Iz prikazanih rezultata (tablica 15) vidljivo je kako jogurti kojima je dodan ekstrakt lista moringe pokazuju viši antioksidacijski kapacitet u odnosu na kontrolni uzorak jogurta, pri čemu se ističu jogurti s 3 i 4 % ekstrakta. Trend vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta odgovara rezultatima udjela ukupnih fenola iz tablice 14. Visoka antioksidacijska aktivnost lišća moringe potječe od njenog bogatog polifenolnog sastava (Atawodi i sur., 2010). Moyo i sur. (2012) istražili su antioksidacijski kapacitet lista *Moringe oleifere* u različitim *in vitro* sustavima. Pokazalo se kako moringa ima antioksidacijsko djelovanje na povećanje aktivnosti enzima superoksid dismutaze i katalaze. Antioksidacijsko djelovanje značajno je smanjilo proces lipidne peroksidacije, a potaknulo je redukciju glutaciona.

Tablica 15. Antioksidacijski kapacitet uzoraka jogurta izražen kao ekvivalent Fe^{2+} tijekom hladnog skladištenja ($\mu\text{mol L}^{-1}$) (n=2)

Uzorak	1. dan	7. dan	14. dan	21. dan	28. dan
Kontrola	495,36	537,50	498,93	462,50	523,93
Moringa 1 %	544,64	538,21	591,76	515,36	444,64
Moringa 3 %	642,50	654,64	589,64	647,50	651,79
Moringa 4 %	663,93	636,79	603,21	605,36	649,64

4.7. BOJA JOGURTA

Pri tumačenju rezultata boje vrijednost L^* (engl. Lightness) predstavlja svjetlinu boje ili luminanciju i daje skalu neutralne boje od crne do bijele (od 0 do 100 jedinica svjetline). Kada L^* iznosi 100, to je apsolutno bijelo, a kada je L^* jednak 0, to je apsolutno crno. Dakle, više vrijednosti L^* ukazuju na svjetlije obojenje dok niže L^* vrijednosti ukazuju na tamnije obojenje. Vrijednost a^* predstavlja odnos zelene i crvene komponente, a vrijednost b^* predstavlja odnos žute i plave komponente. Negativna a^* vrijednost označava zelenu, a pozitivna vrijednost crvenu boju, dok negativna b^* vrijednost označava plavu, a pozitivna vrijednost žutu boju.

Tablica 16. Rezultati boje jogurta tijekom hladnog skladištenja (n=2)

Uzorak	<i>L</i>*	<i>a</i>*	<i>b</i>*
1. dan			
Kontrola	15,64	2,87	25,84
Moringa 1 %	14,91	3,82	25,00
Moringa 3 %	13,57	5,36	22,61
Moringa 4 %	12,47	5,56	20,81
7. dan			
Kontrola	15,68	2,82	25,88
Moringa 1 %	15,14	3,51	25,63
Moringa 3 %	13,51	5,02	22,48
Moringa 4 %	13,79	5,24	22,93
14. dan			
Kontrola	15,83	2,62	26,11
Moringa 1%	15,41	3,45	25,42
Moringa 3 %	13,61	5,02	22,7
Moringa 4 %	13,00	5,51	21,83
21. dan			
Kontrola	15,89	2,79	26,40
Moringa 1 %	14,84	3,81	24,73
Moringa 3 %	14,01	5,05	23,40
Moringa 4 %	14, 24	5, 09	23, 68
28. dan			
Kontrola	16,08	2,48	27,68
Moringa 1 %	16,36	3,07	26,85
Moringa 3 %	13,10	5,19	21,95
Moringa 4 %	12,69	5,50	21,31

Iz tablice 16 vidljivo je kako tijekom svih dana skladištenja jogurta kontrolni uzorak jogurta ima najviše L^* i b^* vrijednosti u usporedbi s jogurtima s dodanom moringom. To upućuje da je kontrolni jogurt najsvjetlije boje, dok jogurti s ekstraktom moringe imaju tamniju boju koja se kreće prema žutim nijansama. Budući da je a^* vrijednost svih analiziranih jogurta pozitivna, svi jogurti imaju crvenu komponentu. Jogurti s ekstraktom moringe imaju višu a^* vrijednost, stoga imaju više izraženu crvenu boju od kontrolnog uzorka. Uspoređujući međusobno jogurte s ekstraktom moringe može se uočiti kako L^* vrijednost pada što je koncentracija dodanog ekstrakta veća, a istovremeno vrijednosti žute boje (b^*) i crvene boje (a^*) rastu.

Navedeni rezultati L^* i b^* vrijednosti odgovaraju rezultatima Shokery i sur. (2017) koji su uspoređivali boju jogurta s dodatkom moringe, zelenog čaja i kontrolnog jogurta bez dodataka. Oba jogurta s dodacima ekstrakta moringe i zelenog čaja imali su nižu L^* vrijednost, a višu b^* vrijednost u odnosu na kontrolni jogurt, dakle bili su tamnije i više žute boje.

Nasuprot tome, Shokery i sur. (2017) zabilježili su negativne a^* vrijednosti kod jogurta s ekstraktima, gdje je jogurt s ekstraktom moringe imao najnižu a^* vrijednost, odnosno imao je najviše izraženu zelenu boju.

Hassan i sur. (2016) su dobili slične rezultate u kojima su jogurti s ekstraktom moringe bili tamniji, izraženije žute i crvene boje u odnosu na jogurte bez dodanog ekstrakta. Prema Hassan i sur. (2017) promjena boje mliječnog proizvoda tretiranog ekstraktom lista moringe može se objasniti visokim udjelom vlakana u moringi.

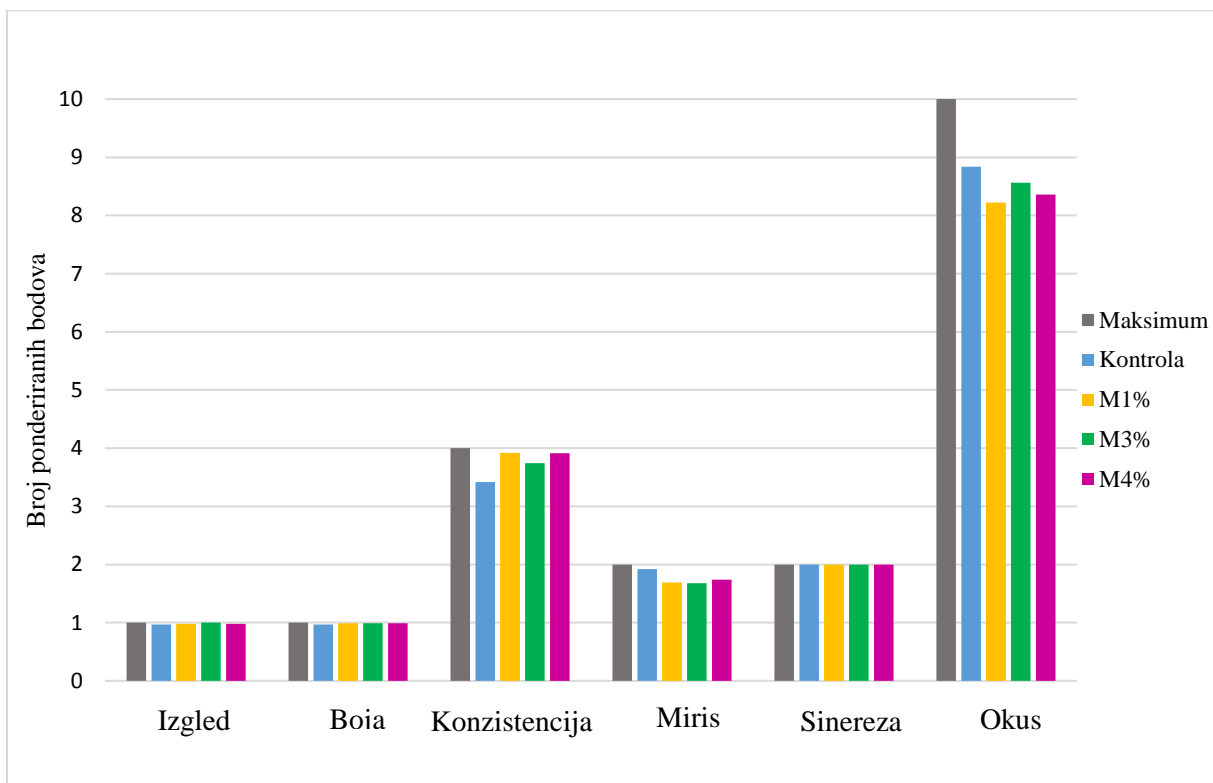
4.8. SENZORSKE OCJENE JOGURTA

Prema ponderiranim bodovima vidljivo je kako 1. dan hladnog skladištenja jogurta (slika 12) nema velike razlike između kontrolnog jogurta i jogurta s dodatkom ekstrakta moringe u svojstvima izgleda, okusa i sinereze. Odstupanja od maksimalnog broja bodova mogu se uočiti kod svojstava konzistencije i mirisa jogurta. Konzistencija svih jogurta s ekstraktom moringe bolje je ocijenjena od konzistencije kontrolnog jogurta, pri čemu su panelisti primijetili u uzorcima jogurta s dodatkom moringe finu teksturu bez grudica za razliku od kontrolnog jogurta koji je imao osjetne grudice prilikom ocjenjivanja. Rezultati senzorskog ocjenjivanja konzistencije su u skladu s rezultatima instrumentalno određene viskoznosti, čije su se više vrijednosti u jogurtima s dodatkom moringe odrazile na ocjene za konzistenciju. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima koje su dobili El-Gammal i sur. (2017) u kojima su svi jogurti

s dodanim ekstraktom moringe u različitim koncentracijama imali veći broj bodova od kontrolnog uzorka prilikom ocjenjivanja konzistencije.

Nasuprot tome, panelisti su okus i miris jogurta s dodatkom moringe ocijenili nižim ocjenama u usporedbi s kontrolom, budući su uzorci jogurta s dodatkom moringe imali blago izraženi biljni okus i miris.

Senzorske analize jogurta s ekstraktom moringe u istraživanju Saad i Elkhtab (2019) također pokazuju slične rezultate. Naime, prvi dan skladištenja jogurti s dodatkom moringe imaju isti ili veći broj ponderiranih bodova za svojstva izgleda i teksture kao i kontrolni uzorak jogurta jer dodatak ekstrakta moringe u mlijeko prije fermentacije poboljšava izgled i teksturu jogurta za vrijeme skladištenja (veća viskoznost i manja sinereza).

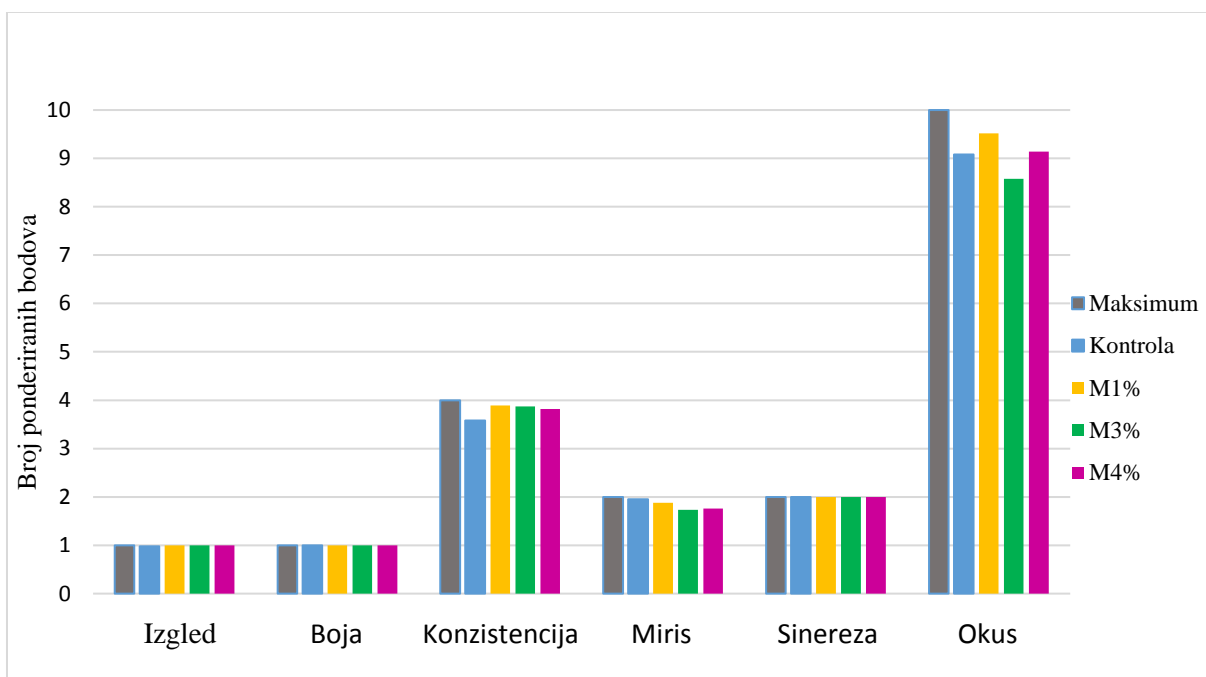


Slika 12. Senzorska analiza jogurta 1. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova (n=2)

Sedmog dana skladištenja (slika 13) također nema razlike u ocjenama izgleda, boje i sinereze svih ispitivanih jogurta, gdje su svi uzorci dobili maksimalan broj ponderiranih bodova. Konzistencija je kao i kod prvog dana bolje ocijenjena u jogurtima s moringom nego u

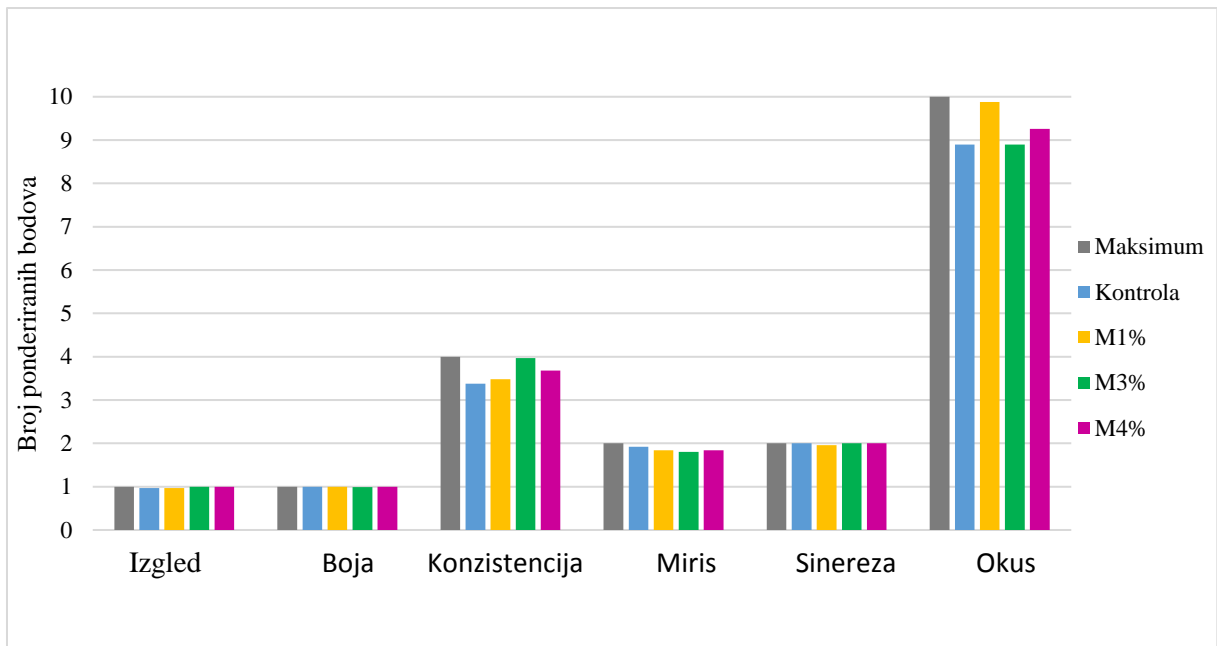
kontrolnom uzorku. Miris jogurta s moringom je 7. dana ocijenjen neznatno višom ocjenom i ima zanemarivo manji broj ponderiranih bodova od kontrolnog uzorka. Jogurti s 1 i 4 % ekstrakta moringe dobili su veći broj ponderiranih bodova od kontrolnog uzorka, dok je jogurt s 3 % moringe ocijenjen nešto nižom ocjenom.

U istraživanju Saad i Elkhtab (2019) i 7. dan skladištenja jogurti s ekstraktom moringe ponovno su bolje ocijenjeni za svojstva izgleda i teksture te je razlika u bodovima u odnosu na kontrolni jogurt bila poprilično velika. Jogurti s višom koncentracijom ekstrakta imali su veći broj bodova za svojstva mirisa i okusa u odnosu na kontrolni uzorak i jogurt s nižom koncentracijom ekstrakta moringe.

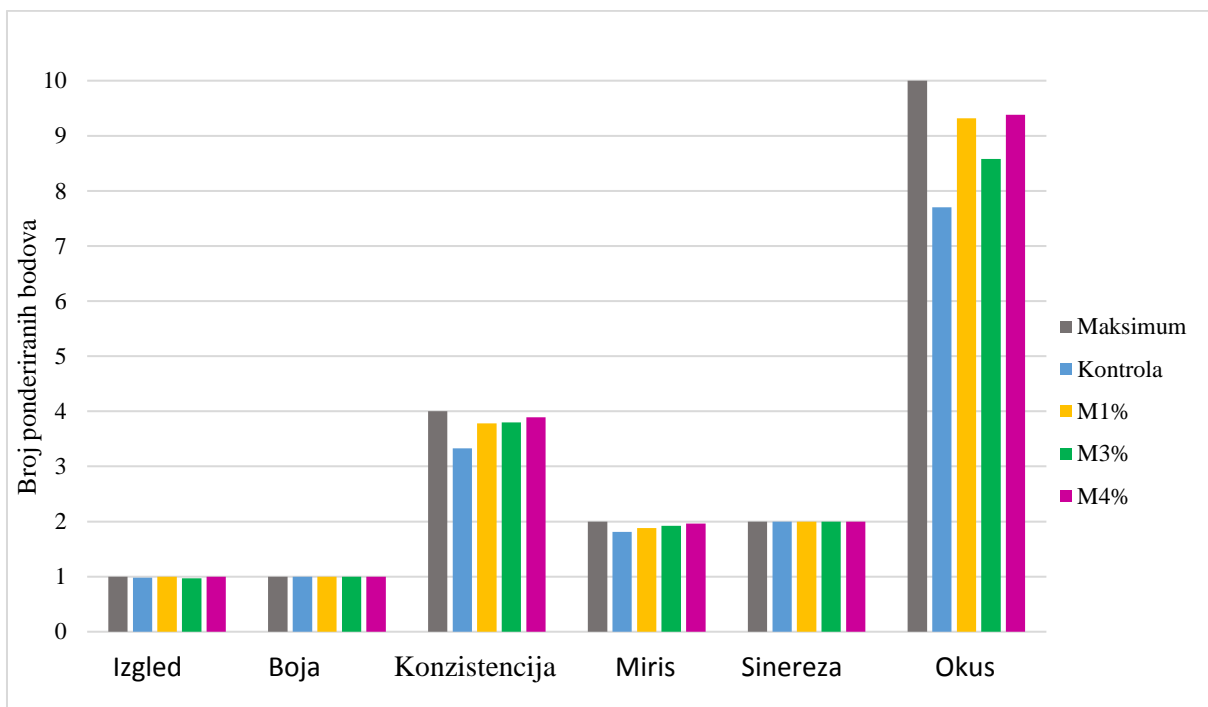


Slika 13. Senzorska analiza jogurta 7. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova (n=2)

Prema rezultatima 14. dana skladištenja jogurta (slika 14) svi jogurti su dobili najviše ocjene u svojstvima izgleda, boje i sinereze kao i u slučaju 1. i 7. dana. Svojstvo mirisa također je ocijenjeno visokim brojem bodova, osim jogurta s 4 % moringe koji je imao nešto niži broj bodova. Konzistencija jogurta s ekstraktom moringe je ocijenjena s više bodova od konzistencije kontrolnog jogurta. U 14. danu skladištenja došlo je do promjene u okusu jogurta, gdje su jogurti s dodatkom ekstrakta moringe (3 i 4 %) imali primjetno više ponderiranih bodova od kontrolnog uzorka.

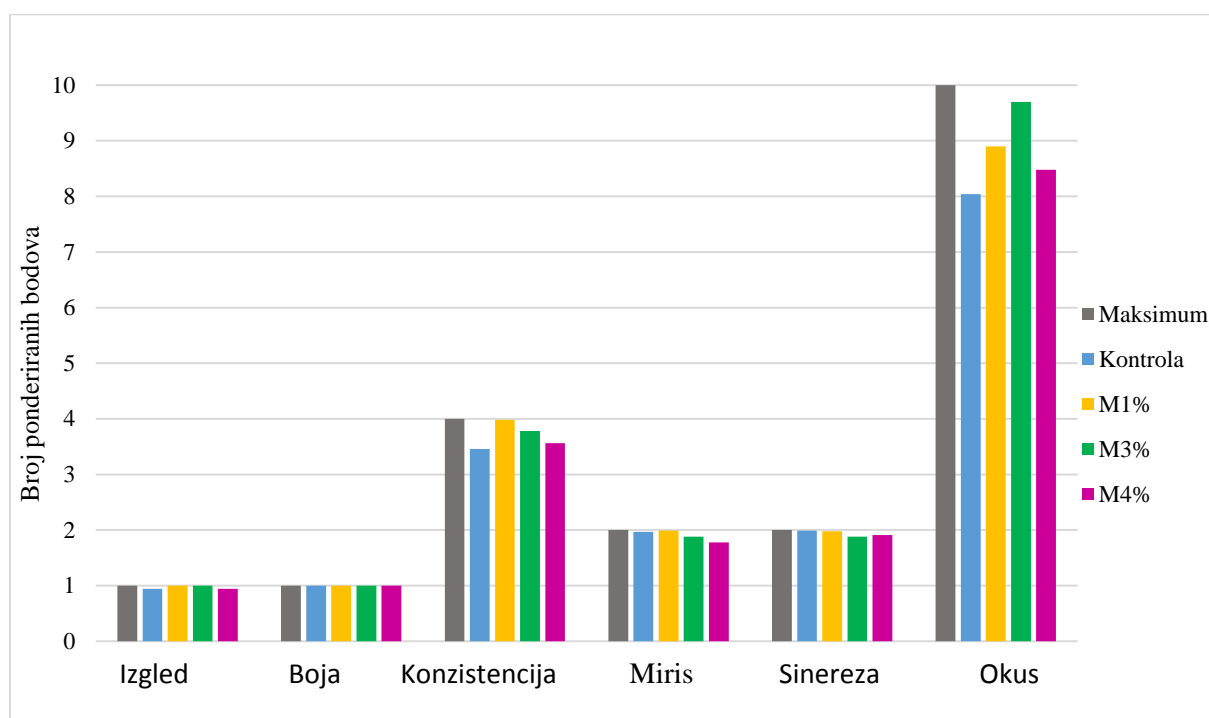


Slika 14. Senzorska analiza jogurta 14. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova (n = 2)



Slika 15. Senzorska analiza jogurta 21. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova (n = 2)

Na 21. dan skladištenja (slika 15) rezultati izgleda, boje i sinereze prikazuju maksimalan broj ponderiranih bodova gotovo za sve uzorke. Promjena u broju bodova može se primijetiti kod ocjenjivanja svojstva mirisa jogurta jer su jogurti s ekstraktom moringe dobili više ocjene u odnosu na jogurt bez ekstrakta. Okus i konzistencija su kao i 14. dana ocijenjeni većim brojem bodova kod jogurta s dodatkom ekstrakta moringe u usporedbi s kontrolnim uzorkom.



Slika 16. Senzorska analiza jogurta 28. dan skladištenja prema sustavu ponderiranih bodova (n =2)

Rezultati senzorske analize zadnji dan skladištenja (slika 16) slični su rezultatima od 21. dana. Izgled, boja i sinereza slično su ocijenjeni, visokim brojem bodova, a ocjena mirisa jogurta s ekstraktom moringe neprimjetno je niža od ocjene kontrolnog uzorka. Okus i konzistencija jogurta s moringom dobili su visoke ocjene u odnosu na ocjenu okusa i konzistencije kontrolnog uzorka.

Ocjene senzorske analize okusa svih jogurta, posebice ocjene kontrolnog uzorka, su bile niže što su ocjenjivani jogurti dulje skladišteni. No, primijećeno je da su tijekom 14., 21. i 28. dana skladištenja jogurti s dodanim ekstraktom lista moringe znatno bolje ocijenjeni od kontrolnog uzorka. Diacetil i acetaldehid su spojevi koji daju tipičnu aromu fermentiranim mliječnim proizvodima. Acetaldehidi nastaju tijekom vrenja laktoze djelovanjem enzima termofilnih

bakterija jogurtne kulture (Tratnik i Božanić, 2012). Prema El-Gammal i sur. (2017) tijekom skladištenja dolazi do značajnog sniženja koncentracije diacetila i acetaldehida u jogurtima. No rezultati njihovog istraživanja pokazuju kako se dodatkom ekstrakta lista moringe u jogurt sniženje udjela acetaldehida tijekom skladištenja može smanjiti. Jogurti s dodatkom različitih koncentracija ekstrakta imali su viši udio acetaldehida od kontrolnog jogurta 1, 7. i 14. dan čuvanja.

5. ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata fizikalno-kemijskih, reoloških, mikrobioloških, senzorskih analiza, analize boje te određivanja ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta na uzorcima kontrolnog jogurta, jogurta s dodatkom 1, 3 i 4 % ekstrakta moringe mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Dodatak ekstrakta lista moringe u mlijeko prije fermentacije skratilo je vrijeme trajanja fermentacije za 1 h u odnosu na kontrolni uzorak jogurta.
2. Vrijednosti pH svih jogurta s ekstraktom lista moringe niže su od pH vrijednosti kontrolnog uzorka za vrijeme fermentacije i tijekom 28 dana hladnog skladištenja.
3. Jogurti s dodatkom ekstrakta lista moringe imaju višu °SH vrijednost u odnosu na kontrolni uzorak jogurta tijekom 28 dana hladnog skladištenja, što je u skladu s izmjerenim nižim vrijednostima pH kod jogurta s moringom.
4. Ekstrakt lista moringe dodan u jogurte smanjio je sinerezu jogurta u usporedbi s uzorkom kontrolnog jogurta.
5. Jogurti s ekstraktom lista moringe imali su veću viskoznost od uzorka kontrolnog jogurta za vrijeme 28 dana hladnog skladištenja.
6. Ekstrakt lista moringe zbog bogatog polifenolnog sastava povećao je broj poraslih kolonija bakterija jogurtne kulture (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*) u jogurtima tijekom fermentacije i tijekom 28 dana hladnog skladištenja.
7. Jogurtima s ekstraktom lista moringe izmjeren je viši udio ukupnih fenola i viši antioksidacijski kapacitet u odnosu na uzorak kontrole, što je u skladu s već spomenutim polifenolnim sastavom moringe.
8. Boja jogurta s ekstraktom lista moringe znatno se razlikovala od boje kontrolnog jogurta. Jogurti s ekstraktom lista moringe bili su tamniji s više žute i crvene komponente u odnosu na kontrolni uzorak.
9. Rezultati senzorske analize slični su za sve uzorke jogurta pri ocjenjivanju izgleda, boje i sinereze. Na početku skladištenja jogurti s dodatkom ekstrakta lista moringe imali su niže ocjene za svojstva okusa i mirisa od kontrolnog uzorka, za razliku od posljednjih dana čuvanja kada su ocjene okusa i mirisa za jogurte s moringom bile više. Prema navodima iz literature to se može objasniti sposobnošću moringe da uspori sniženje koncentracije diacetila i acetaldehida koji su odgovorni za okus i miris u jogurtima.

6. LITERATURA

Anonymous 1, <<http://www.oilseedcrops.org/moringa-o/>> Pristupljeno 23.03.2020.

Anonymous 2, <<https://www.dukat.hr/proizvodi/dukat/mlijeka/svjeze-mlijeko/svjeze-mlijeko-3-2-mlijecne-masti-1-1/>> Pristupljeno 13.06.2020.

Anonymous 3, <https://www.biobio.hr/moringa-prah-proizvod-24069/?gclid=CjwKCAjw8pH3BRAXEiwA1pvMsSI7Bo7prkNtZh47ShHVTV5rQh4tM6w-mbAtiRd9IMrn_y0ulB2FxoCJZEQA_vD_BwE> Pristupljeno 13.06.2020.

Atawodi, S.E., Atawodi, J.C., Idakwo, G.A., Pfundstein, B., Haubner, R., Wurtele, G., Bartsch, H., Owen, R.W. (2010) Evaluation of the Polyphenol Content and Antioxidant Properties of Methanol Extracts of the Leaves, Stem, and Root Barks of *Moringa oleifera* Lam. *J. Med. Food.* **13**, 710 – 716.

Benzie, I. F. F., Strain, J.J. (1996) The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power“: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* **239**, 70 – 76.

Božanić, R., Jeličić, I., Bilušić, T. (2010) Analiza mlijeka i mliječnih proizvoda (urednik: Ranić, I.), Plejada, Zagreb.

Božanić, R., Lisak Jakopović, K., Barukčić, I. (2018) Vrste mlijeka. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

Dorić, I., Lisak Jakopović, K., Barukčić, I., Božanić, R. (2019) Utjecaj mlijeka na zdravlje čovjeka. *Croatian J. Food Technol., Biotechnol., Nutrition.* **14** (1 – 2), 24 – 32.

El – Gammal, R.E., Abdel – Aziz, M.E., Darwish, M.S. (2017) Utilization of Aqueous Extract of *Moringa oleifera* for Production of Functional Yogurt. *J. Food and Dairy Sci.* **8** (1), 45 – 53.

Fahey, J.W. (2005) *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1.

<<https://www.tfljournal.org/article.php?story=20051201124931586>> Pristupljeno 22.03.2020.

Gaucheron, F. (2005) The minerals of milk. *Reprod. Nutr. Dev.* **45**, 473 – 483.

Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W., Reichel, T.W. (1998) High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *J Agric. Food Chem.* **46**(5), 1887 – 1892.

- Halliwell, B. (1990) How to Characterize a Biochemical Antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.* **9(1)**, 1 – 32.
- Hassan, F.A.M., Bayoumi, H.M., Abd El-Gawad, M.A.M., Enab, A.K., Youssef, Y.B. (2016) Utilization of Moringa oleifera Leaves Powder in Production of Yoghurt. *Int. J. Dairy Sci.* **11**, 69 – 74.
- Hassan, F.A.M., Enab, A.K., Abd El-Gawad, M.A.M., Bayoumi, H.M., Youssef, Y.B. (2017) Utilization of Moringa oleifera Leaves Powder in Production of Soft White Cheese. *Int. J. Dairy Sci.* **12**, 137 – 142.
- International Dairy Federation (1981) Joint IDF/1 SO/AOAC Group E 44
- Jennes, R., Patton, S., Zelinger, A. (1967) Grundzüge der Milchchemie. Bayerischer Landwirtschaftsverlag. München, Basel, Wien.
- Joha, M. (2016) *Kemijski sastav kravljeg mlijeka i čimbenici o kojima ovisi*. Diplomski rad. Agronomski fakultet, Zagreb
- Joung, J. Y., Lee, J. Y., Ha, Y. S., Shin, Y. K., Kim, Y., Kim, S. H. (2016). Enhanced microbial, functional and sensory properties of herbal yogurt fermented with Korean traditional plant extracts. *Korean J. Food Sci.* **36(1)**, 90 – 99.
- Koritnik, Z., Dragojlov, D. (1974) Komparativni uzgoj nekih sojeva laktobacila na različitim hranjivim podlogama. Zagrebačka mljekara.
- Lovrić, T. (2003) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva. HINUS, Zagreb.
- Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P.J., Muchenje, V. (2012) Polyphenolic content and antioxidant properties of Moringa oleifera leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with Moringa oleifera leaves/sunflower seed cake. *Meat sci.* **91**, 441 – 447.
- Pandey, A., Pandey, R.D., Tripathi, P., Gupta, P.P., Haider, J. (2012) Moringa Oleifera Lam. (Sahijan) - A Plant with a Plethora of Diverse Therapeutic Benefits: An Updated Retrospection. *J. Med. Aromat. Plants.* **1**, 1 – 8.
- Pandžić I. (2017) *Korištenje bakterija mliječne kiseline u poljoprivrednoj proizvodnji*. Diplomski rad. Poljoprivredni fakultet, Osijek.
- Pravilnik o mlijeku i mliječnim proizvodima (2017) *Narodne novine* **64**, Zagreb.

- Pravilnik za ocjenjivanje kakvoće mlijeka i mliječnih proizvoda (2004) Zavod za mljekarstvo Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.
- Saad, M.A., Elkhtab, E.S. (2019) Antimicrobial activity of Moringa oleifera leaves extract and its effect on the shelf life and quality of yoghurt. *Egypt. J. Dairy Sci.* **47**, 91 – 99.
- Sabadoš, D. (1998) Kontrola i ocjenjivanje kvalitete mlijeka i mliječnih proizvoda. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
- Samaržija, D. (2015) Fermentirana mlijeka. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
- Shokery, E. S., El-Ziney, M. G., Yossef, A. H., Mashaly, R. I. (2017) Effect of green tea and Moringa leave extracts fortification on the physicochemical, rheological, sensory and antioxidant properties of set-type yoghurt. *J. Adv. Dairy. Res.* **5**, 2 – 12.
- Shori, A. B. (2013) Antioxidant activity and viability of lactic acid bacteria in soybean-yogurt made from cow and camel milk. *J. Taibah. Univ. Sci.* **7**, 202 – 208.
- Shortle, E., O'Grady, M. N., Gilroy, D., Furey, A., Quinn, N., Kerry, J. P. (2014) Influence of extraction technique on anti-oxidative potential of hawthorn (*Crataegus monogyna*) extracts in bovine muscle homogenates. *Meat sci.* **98(4)**, 828 – 834.
- Stelkić, R. (1968) Metode određivanja kiselosti mleka. *Mljekarstvo* **18 (6)**, 131 – 136.
- Stijepić, M., Milanović, S., Glušac, J., Vukić, V., Kanurić, K., Đurđević-Milošević, D., Ranogajec, M. (2011) Utjecaj odabranih čimbenika na reološka i teksturalna svojstva probiotičkog jogurta. *Mljekarstvo* **61 (1)**, 92 – 101.
- Sun- Waterhouse, D., Zhou, J., Wadhwa, S.S. (2013) Drinking yoghurts with berry polyphenols added before and after fermentation. *Food control.* **32**, 450 – 460 .
- Šimić, M. G., Jovanović, S.V. (1994) Inactivation of Oxygen Radicals by Dietary Phenolic Compounds in Anticarcinogenesis. U: Ho, T.C., Osawa, T., Huang, M.T., Rosen, R.T. (ur.), *Food Phytochemicals for Cancer Prevention II*. New Jersey: American Chemical Society, str. 20 – 32.
- Šumić, Z. (2008) Osobine i sastav mlijeka. Tehnologija hrane, <<https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/osobine-i-sastav-mlijeka>> Pristupljeno 24.03.2020.
- Šurić, P. (2016) Učinkovitost panela pri senzorskoj procjeni meda. *Diplomski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb.

- Terzaghi, B. E., Sandine, W. E. (1975) Improved Medium for Lactic Streptococci and Their Bacteriophages. *App. Microbiol.* **29**, 807 – 813.
- Tratnik, Lj., Božanić, R. (2012) Mlijeko i mliječni proizvodi, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M., Fernandez, M. L. (2017) Bioactive components in *Moringa Oleifera* leaves protect against chronic disease. *Antioxidants* **6**, 91 – 104.
- Zamberlin, Š., Samaržija, D., Mamula, P., Havranek, J., Pecina, M., Pogačić, T. (2007) Viskoznost tekućeg jogurta tijekom pohrane. *Mljekarstvo*, **57 (3)**, 209 – 218.
- Zhang, T., Jeong, C. H., Cheng, W. N., Bae, H., Geuk Seo, H., Petriello, M. C., Han, S. G. (2018) *Moringa* extract enhances the fermentative, textural, and bioactive properties of yogurt. *LWT - Food Sci. Technol.* **101**, 276 – 284.

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

Ivana Miksera

Ime i prezime studenta