

Optimiranje fermentacije bademovog napitka primjenom različitih starter kultura uz dodatak hidrokoloida i okare

Đula, Mia

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:159:548666>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-28**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, listopad 2023.

Mia Đula

**OPTIMIRANJE FERMENTACIJE
BADEMOVOG NAPITKA
PRIMJENOM RAZLIČITIH
STARTER KULTURA UZ
DODATAK HIDROKOLOIDA I
OKARE**

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 izv. prof. dr. sc. Irene Barukčić Jurina.

ZAHVALA

Iskreno se želim zahvaliti mentorici, izv. prof. dr. sc. Ireni Barukčić Jurina na prihvaćenom mentorstvu te na prenesenom znanju, strpljenju i podršci koju mi je pružila tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Veliko hvala izv.prof.dr.sc. Katarini Lisak Jakopović na izdvojenom vremenu, dodatnim savjetima i pomoći kod eksperimentalnog dijela izrade rada. Zahvaljujem se i Snježani Šimunić na tehničkoj podršci i pomoći prilikom izrade ovog rada.

Od srca želim zahvaliti svojoj obitelji; roditeljima, braći i sestri Tei na neizmjernoj podršci i motivaciji kada je bilo najteže. Hvala vam što ste mi sve omogućili. Zahvaljujem se svima kolegama koji su mi uljepšali studentske dane. Zahvaljujem se i svim bliskim prijateljima na neprestanoj podršci i motivaciji tokom svih godina studiranja.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

OPTIMIRANJE FERMENTACIJE BADEMOVOG NAPITKA PRIMJENOM RAZLIČITIH STARTER KULTURA UZ DODATAK HIDROKOLOIDA I OKARE

Mia Đula, univ. bacc. ing. techn. aliment. 0125162079

Sažetak: Fermentirani biljni napici brzo su rastuća kategorija hrane s potencijalom za smanjenje nepoželjnih utjecaja na zdravlje, povezanih s alergijom na mliječne proteine i intolerancijom na laktozu te negativnih utjecaja na okoliš, zbog emisije stakleničkih plinova. Stoga je cilj ovog rada bio optimizirati fermentaciju bademovog napitka kako bi razvili recepturu inovativnog funkcionalnog proizvoda. Fermentirani biljni napici s i bez dodataka (okara, rižin protein) čuvani su u hladnjaku tijekom 21 dana. Na svim uzorcima određivani su udio ugljikohidrata, suhe tvari i pepela, kiselost, sinereza, kapacitet zadržavanja vode, reološka svojstva, senzorska i mikrobiološka analiza uz ispitivanje prihvatljivosti među potrošačima. Rezultati istraživanja ukazuju na to da dodatak 1 % okare kao izvora prehrambenih vlakana dovodi do manje sinereze u odnosu na ostale uzorke. Fermentirani bademov napitak s dodatkom 1 % okare, 1,5 % smjese škroba i pektina, te 3 % saharoze najbolje je ocijenjen senzorski i dobro prihvaćen među potrošačima.

Ključne riječi: *badem, fermentirani napitak, starter kulture, okara, hidrokoloidi*

Rad sadrži: 65 stranica, 7 slika, 19 tablica, 92 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: izv. prof. dr. sc. Irena Barukčić Jurina

Pomoć pri izradi: izv. prof. dr. sc. Katarina Lisak Jakopović

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obrane:

1. izv. prof. dr. sc. Katarina Lisak Jakopović (predsjednica komisije)
2. izv. prof. dr. sc. Irena Barukčić Jurina (mentorica)
3. izv. prof. dr. sc. Marija Badanjak Sabolović (članica)
4. izv. prof. dr. sc. Marko Obranović (zamjenski član)

Datum obrane: 27. listopada 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Technology of Milk and Milk Products

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Engineering

OPTIMIZING FERMENTATION OF ALMOND DRINK BY APPLYING DIFFERENT STARTER CULTURES WITH THE ADDITION OF HYDROCOLLOIDS AND OKARA

Mia Đula, univ. bacc. ing. techn. aliment. 0125162079

Abstract: Fermented plant-based drinks are gaining popularity in the food industry due to their potential to address health concerns like dairy allergies and lactose intolerance, and to reduce environmental impacts by cutting greenhouse gas emissions. This study aimed to optimize the fermentation process for almond-based drinks, creating an innovative functional product. Samples of fermented almond drinks, with or without additives such as okara and rice protein, were refrigerated for 21 days. All samples were analyzed for carbohydrate content, dry matter, ash, acidity, syneresis, water retention, rheological properties, sensory qualities, microbiology, and consumer acceptance. The research showed that adding 1 % okara as a dietary fiber source reduced syneresis in related to other samples. The fermented almond drink with 1 % okara, 1,5 % starch and pectin, and 3 % sucrose received the highest sensory scores and was well accepted by consumers.

Keywords: *almond, fermented drink, starter cultures, okara, hydrocolloids*

Thesis contains: 65 pages, 7 pictures, 19 tables, 92 references.

Original in: Croatian

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

Mentor: Irena Barukčić Jurina, PhD, Associate Professor

Technical support and assistance: Katarina Lisak Jakopović, PhD, Associate Professor

Reviewers:

1. Katarina Lisak Jakopović, PhD, Associate professor (president)
2. Irena Barukčić Jurina, PhD, Associate professor (mentor)
3. Marija Badanjak Sabolović, PhD, Associate professor (member)
4. Marko Obranović, PhD, Associate professor (substitute)

Thesis defended: 27 October 2023.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. BILJNI NAPICI	2
2.1.1. Bademov napitak.....	4
2.1.2. Proizvodnja bademovog napitka.....	4
2.1.3. Kemijski i nutritivni sastav bademovog napitka.....	6
2.2. USPOREDBA PREHRAMBENE VRIJEDNOSTI BILJNIH NAPITAKA I KRAVLJEG MLJEKA	7
2.3. FERMENTIRANI BILJNI NAPICI	8
2.4. HIDROKOLOIDI	9
2.4.1. Škrob.....	10
2.4.2. Pektin.....	11
2.4.3. Guar guma.....	11
2.5. OKARA	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	15
3.1. MATERIJALI	15
3.1.1. Otapala i reagensi.....	16
3.1.2. Aparatura	17
3.1.3. Pribor	17
3.2. METODE	18
3.2.1. Preliminarna istraživanja	18
3.2.2. Proizvodnja fermentiranog bademovog napitka s dodatkom GRIND-a/ guar gume i okare/ rižinog proteina	19
3.2.3. Određivanje kiselosti	20
3.2.4. Određivanje ugljikohidrata	21
3.2.5. Određivanje udjela suhe tvari.....	23
3.2.6. Određivanje udjela mineralnih tvari (pepela).....	24
3.2.7. Određivanje sinereze i kapaciteta zadržavanja vode	24
3.2.8. Određivanje reoloških svojstava	25

3.2.9.	Određivanje indeksa boje	25
3.2.10.	Mikrobiološka analiza	26
3.2.11.	Senzorska analiza	28
3.2.12.	Prihvatljivost kod potrošača.....	30
3.2.13.	Statistička obrada podataka.....	30
4.	REZULTATI I RASPRAVA.....	31
4.1	PRELIMINARNA ISTRAŽIVANJA	32
4.2.	ODREĐIVANJE KISELOSTI.....	37
4.3.	ODREĐIVANJE UDJELA UGLJIKOHIDRATA	39
4.4.	ODREĐIVANJE UDJELA SUHE TVARI	40
4.5.	ODREĐIVANJE UDJELA MINERALNIH TVARI (PEPELA).....	41
4.6.	ODREĐIVANJE SINEREZE I KAPACITETA ZADRŽAVANJA VODE	43
4.7.	ODREĐIVANJE REOLOŠKIH SVOJSTAVA	45
4.8.	ODREĐIVANJE BOJE	49
4.9.	MIKROBIOLOŠKA ANALIZA.....	50
4.10.	SENZORSKA ANALIZA	53
4.11.	PRIHVATLJIVOST KOD POTROŠAČA.....	56
5.	ZAKLJUČCI	58
6.	LITERATURA	60

1. UVOD

Posljednjih nekoliko godina, primijećen je povećani trend potrošača za prehranom koja se zasniva na namirnicama biljnog porijekla poput mahunarki, žitarica, sjemenki, orašastih plodova, voća i povrća. Veganstvo i vegetarijanstvo, zdravstveni razlozi i ekološka svijest smatraju se glavnim razlozima zašto potrošači sve više konzumiraju biljne napitke. Kao najčešći zdravstveni problemi koji se javljaju kod potrošača su alergija na mlijeko i intolerancija na laktozu koji mogu prouzročiti neke nepoželjne posljedice kod osjetljivih skupina potrošača. Nadalje, alergija na kravlje mlijeko jedna je od najčešćih alergija kod dojenčadi i djece (Santos i sur., 2010), dok intolerancija na laktozu pogađa oko 65 % svjetske populacije (Aydar i sur., 2020). S obzirom na navedeno, potrošači sve više zamjenjuju mlijeko i mliječne proizvode biljnim alternativama.

Fermentacija je prepoznata kao prirodan i učinkovit biotehnoški pristup u proizvodnji mlijeka i mliječnih napitaka. Nedavna istraživanja ističu da je fermentacija važan korak u proizvodnji biljnih napitaka (Adler i sur., 2013). Doprinosi učinkovitoj proteolizi, povećanom sadržaju bioaktivnih spojeva i smanjenom utjecaju antrinitivnih faktora, poboljšavajući senzorska, tehnološka i funkcionalna svojstva proizvoda. Biljni fermentirani napici su proizvodi koji imitiraju teksturu i senzorska svojstva konvencionalnog jogurta dok podržavaju prisutnost bakterija mliječne kiseline za produljeni rok trajanja. Takve proizvode karakterizira visok udio prehrambenih vlakana, proteina visoke vrijednosti i bioaktivnih spojeva (Gobetti i sur., 2020).

Nadalje, izazov u stvaranju fermentiranih biljnih napitaka leži u postizanju proteinske mreže gela slične jogurtu pomoću alternativnih biljnih sastojaka. Ovi sastojci često imaju različite koagulacijske karakteristike, niži udio proteina i zahtijevaju dodatak sredstava za strukturiranje i emulgatora, što može biti skupo i ne u skladu s održivom proizvodnjom.

Cilj ovog istraživanja bio je optimirati proces fermentacije biljnog napitka na bazi badema kako bi dobili inovativni funkcionalni proizvod poželjnih fizikalno-kemijskih i senzorskih karakteristika. Za optimiranje okusa bademovog napitka dodavani su okara i rižin protein, te guar guma, škrob i pektin u funkciji stabilizatora. Na svim uzorcima provedene su analize kako bi se odredile fizikalno-kemijske, mikrobiološke, reološke i senzorske karakteristike te je praćena stabilnost proizvoda.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. BILJNI NAPICI

Probavljivost i intolerancija na laktozu, i malapsorpcija enzima laktaze smatraju se primarnim razlozima koji potrošači navode za povećanom konzumacijom biljnih napitaka (Schnepps i Meixner, 2019). Zdravlje je jedan od čestih razloga zašto potrošači sve više konzumiraju biljne napitke. Biljni napici općenito imaju manje zasićenih masti i kolesterola od punomasnog kravljeg mlijeka (Lu i sur., 2015). Zabrinutost potrošača također izaziva i izloženost kontaminantima u kravljem mlijeku (primjerice hormoni, ostatci pesticida, mikotoksini, metali i antibiotici) osobito u konvencionalno proizvedenom mlijeku (Baldwin i Tan, 2021). Interes za održivom proizvodnjom i povećana ekološka svijest velika su motivacija potrošača za zamjenom kravljeg mlijeka biljnim alternativama.

Biljni napici su koloidni sustavi gdje se uglavnom masna faza, iako ovisno o početnoj sirovini može biti riječi o ukupnoj suhoj tvari, izolirana iz biljnih izvora koristi za formuliranje biljnih napitaka, kao što su sojin napitak, kokosov napitak i bademov napitak (Sethi i sur., 2016). Masna faza se sastoji od masne jezgre (triacilglicerola) okružene slojem fosfolipida i proteina (Tzen i sur., 1993), stoga ima vrlo sličnu strukturu mliječnoj masti. Izolirana masna faza može se dispergirati u odgovarajućoj količini vode kako bi se formirala kremasta tekućina niske viskoznosti koja ima mnoge senzorske karakteristike kravljeg mlijeka. Vodena faza ovih proizvoda također sadrži proteine, mineralne tvari i ugljikohidrate koji imaju doređenu prehrambenu vrijednost i imaju okus sličan mlijeku. S druge strane, proteini u biljnim napicima čvrsto su umotani u kompaktne kuglaste strukture, koje tvore sasvim različitu strukturu prilikom međusobnog povezivanja (Queiros i sur., 2018). To je jedan od razloga zašto fermentirani napici od soje i badema nemaju istu glatku teksturu kao konvencionalni jogurti. Biljni napici se mogu koristiti kako bi poboljšali nutritivnu vrijednost raznih konvencionalnih proizvoda kao što su fermentirano mlijeko, jogurt, sladoled, sir, čokolada i maslac (Yadav i sur., 2010).

Biljni napici mogu se proizvoditi i od žitarica (primjerice zob, riža, kukuruz, pir), pseudožitarica (primjerice kvinoja, amarant), sjemenki (primjerice lan, konoplja, suncokret, sezam), mahunarki (primjerice soja, kikiriki, grašak) ili od orašastih plodova (primjerice kokos,

lješnjak, badem, orah) (Sethi i sur., 2017). Najčešće sirovine za proizvodnju biljnih napitaka su soja, zob, riža, kokos i badem.

Zobeni napitak jedan je od najčešće konzumiranih biljnih napitaka na tržištu zahvaljujući visokoj nutritivnoj vrijednosti te visokom udjelu prehrambenih vlakana i fitokemikalija. Potencijalna funkcionalna svojstva zobenog napitka povezana su sa prehrambenim vlaknima, kao što su β -glukan, proteini, lipidi i škrobne komponente te fitokemikalije prisutne u zrnju zobi. Također, zob je dobar izvor antioksidansa i polifenola. Zob sadrži 60 % škroba, 11-15 % ukupnih proteina, 5-9 % ukupnih lipida, 2,3-8,5 % dijetalnih vlakana i 0,54 % kalcija (Rasane i sur., 2015).

Sojin napitak dobar je izvor esencijalnih mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina koje se smatraju dobrima za zdravlje kardiovaskularnog sustava. Izoflavoni su funkcionalno aktivna komponenta sojinog napitka, a genistein je najzastupljeniji (Cohen i sur., 2000). Osim izoflavona, poznato je da proteini soje imaju terapijske učinke. Također je hrana proizvedena od soje bogata fitokemikalijama kao što su fitosteroli, koji su poznati po tome da snižavaju kolesterol (Fukui i sur., 2002). U prosjeku, suho zrno soje sadrži 40 % proteina, 20 % ulja, 35 % ugljikohidrata i 5 % pepela (Liu, 2004).

Kokosov napitak bogat je vitaminima i mineralima kao što su željezo, kalcij, cink i magnezij. Također sadrži i značajnu količinu vitamina A i E (Seow i Gwee, 1997). Sadrži laurinsku kiselinu koja pomaže u jačanju imunološkog sustava i održavanju krvožilnog sustava. Uporaba kokosovog napitka povezuje se sa njegovim antikancerogenim, antimutagenim i antibakterijskim djelovanjem (Belewu i Belewu, 2007).

Rižin napitak je najviše hipoalergičan napitak od ostalih biljnih napitaka na tržištu. Rižin napitak ekstrahira se iz smeđe kuhane riže i škroba smeđe riže, ima rijetku konzistenciju i nema vlakna (Wongthaweevatana i sur., 2021). Unatoč tome što rižin napitak sadrži manje proteina i kalcija od kravljeg mlijeka, često se na tržištu nalaze rižini napici obogaćeni kalcijem i vitaminom D (Bridges, 2018). Kemijski sastav rižinog napitka je slijedeći: proteini (0,6 %), ugljikohidrata (10,6 %), šećer (4,0 %), masti (1,0 %) i natrij (0,051 %) (Abou-Dobara i sur., 2016).

2.1.1. Bademov napitak

Badem (*Prunus amygdalus*), je član obitelji *Rosaceae*, i ubraja se u najpopularnije orašaste plodove u cijelom svijetu. Zajedno s orahom svrstan je u podrod *Amygdalus*, koji se od ostalih podrodova razlikuje po valovitoj ljuski sjemena. Badem je porijeklom iz vrućih klimatskih područja, koji se najviše uzgaja u saharskim ravninama, od Turske i Irana sve do Indije i Nepala (Zohary i sur., 2012).

Bademi imaju visoku nutritivnu vrijednost budući da su izrazito bogati proteinima, mineralnim tvarima i vitaminima. Vitamin E, jednostruko nezasićene masne kiseline, višestruko nezasićene masne kiseline, arginin, RRR- α -tokoferol i kalij nazastupljeniji su u bademu (Berry i sur., 1992). Pokožica badema bogata je flavonima, izoflavonima, antocijanima, procijanidinima i fenolnim kiselinama (Frison-Norrie i Sporns, 2002).

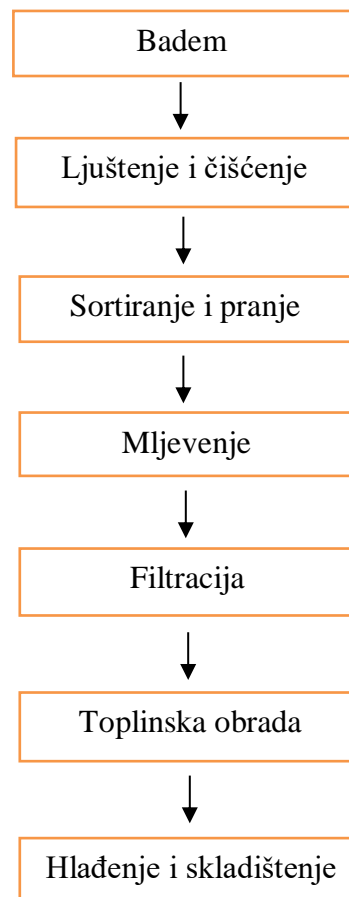
Kako je prethodno navedeno, bademov napitak se na svjetskoj razini proizvodi i konzumira kao jedna od tri najčešće alternative mlijeku. Bademov napitak je jedan od najčešće konzumiranih biljnih napitaka na tržištu zahvaljujući svojim nutritivnim i funkcionalnim svojstvima. U zadnje vrijeme sve je veća upotreba bademovog napitka kao sirovine za proizvodnju analoga jogurtu kako bi se razvio funkcionalni biljni fermentirani napitak s pozitivnim učincima na zdravlje, te za razvoj nutritivnih karakteristika konačnog proizvoda. Bademov napitak može se koristiti kao prirodni sastojak u obogaćivanju prehrambenih proizvoda umjesto upotrebe uvriježenih aditiva kao što su zaslađivači, arome i antioksidansi, a od kojih neki mogu imati štetne učinke na zdravlje ljudi. Osim toga, bademov napitak može se koristiti kao dodatak u proizvodnji nove generacije fermentiranih mliječnih proizvoda (Topcuoglu i Yilmazan-Ersan, 2020).

2.1.2. Proizvodnja bademovog napitka

Za proizvodnju napitka se obično koriste plodovi badema zrelosti od 6 do 8 mjeseci. Plodovi se sortiraju kako bi se uklonili pokvareni i/ili zaraženi plodovi. Time se osigurava proizvodnja napitka bogatog nutritivnog profila i jedinstvenog okusa.

Nakon sortiranja, plodovi se peru i gule, a pulpa se struže nožem kako bi se dobila jezgra badema. Također, važan proces koji se koristi u proizvodnji bademovog napitka je prženje. Prženjem se povećava indeks stabilnosti emulzije i topljivost proteinskog izolata (Zaaboul i sur., 2019). Bademov napitak se zatim estrahira iz oljuštenih plodova badema natapanjem u deioniziranoj vodi nakon čega se bademi samelju u mlinu. Kao rezultat nastaje kaša koja se filtrira. Filtrirani bademov napitak se zatim homogenizira i toplinski obrađuje na 121 °C/15 min prije hlađenja i skladištenja (Alozie i Udofia, 2015).

Tehnološka shema proizvodnje bademovog napitka prikazana je na slici 1.



Slika 1. Shema tehnološkog procesa proizvodnje bademovog napitka

(prema Alozie i Udolfia, 2015)

2.1.3. Kemijski i nutritivni sastav bademovog napitka

Bademov napitak je emulzija masti u vodi, koji sadrži oko 25 % proteina, od kojih je većina prisutna u obliku adenzin monofosfata (AMP-a) ili amandina (Sathe i sur., 2002). U usporedbi s drugim biljnim napicima, bademov napitak prirodni je izvor vitamina E koje ljudsko tijelo ne može sintetizirati i potrebno ga je unijeti prehranom. α -tokoferol je funkcionalno aktivna komponenta vitamina E i jak je antioksidans koji ima ključnu ulogu od reakcija slobodnih radikala (Burton i Ingold, 1989).

Bademov napitak bogat je izvor i drugih mikronutrijenata kao što su kalcij, magnezij, selen, kalij, cink, fosfor i bakar. Također posjeduje potencijalna prebiotička svojstva zahvaljujući arabinozi koja je prisutna u pektinskim tvarima stanične stijenke koji doprinosi njegovoj funkcionalnosti snižavanjem kolesterola u krvnom serumu (Mandalari i sur., 2008).

Tablica 1. Usporedba nutritivne vrijednosti kravljeg mlijeka i bademovog napitka (*prema Clegg i sur., 2021*)

Proizvod	Energijska vrijednost (kcal)	Proteini (g)	Ugljikohidrati (g)	Masti (g)
Kravlje mlijeko	50,27 ± 1,783	3,49 ± 0,017	4,77 ± 0,025	1,91 ± 0,207
Bademov napitak	30,20 ± 2,196	0,74 ± 0,077	2,61 ± 0,444	1,83 ± 0,126

Bademov napitak ima gotovo dvostruko nižu energetska vrijednost od kravljeg mlijeka što se može pripisati znatno nižem udjelu ugljikohidrata, masti i proteina u bademovom napitku (tablica 1). Od svih alternativa mlijeku, bademov napitak ima najniži udio ugljikohidrata (Pointke i sur., 2022).

Najveći nedostatak bademovog napitka je manjak mikro- i makro- nutrijenata kao što su vitamini topljivi u vodi i proteini. Bademov napitak u prosjeku osigurava samo oko 10 %

preporučene dnevne doze proteina dok kravlje mlijeko osigurava više od 50 % preporučenog dnevnog unosa (Verduci i sur., 2019).

Unatoč navedenim nedostacima bademovog napitka, on se smatra najboljom alternativom mlijeku kao niskokalorični napitak. Također, sadržava i razne spojeve koji promiču zdravlje uključujući antioksidanse i bioaktivne spojeve (Sethi i sur., 2016).

2.2. USPOREDBA PREHRAMBENE VRIJEDNOSTI BILJNIH NAPITAKA I KRAVLJEG MLIJEKA

Kravlje mlijeko smatra se cjelovitom namirnicom, što ga čini važnim izvorom mikro- i makronutrijenata kao što su kalcij, vitamin B12 i jod (Host i sur., 2007). Proteini kravljeg mlijeka imaju visoku biološku vrijednost, s obzirom da sadrže sve esencijalne aminokiseline i imaju visoku probavljivost (FAO, 2013). Međutim, sve više ljudi se okreće biljnim alternativama mlijeka zbog zdravstvenih problema (kao što su alergija na kravlje mlijeko i intolerancija na laktozu) ili zbog promjene načina života (kao što su veganstvo i vegeterijanstvo). Sve više potrošača vidi biljne napitke kao zdravu alternativu kravljem mlijeku. Kravlje mlijeko sadrži lipidnu frakciju koja ima visok udio zasićenih masnih kiselina te značajne količine kolesterola što potrošači često povezuju s negativnim utjecajem na zdravlje (Jeske i sur., 2017). Nasuprot tome, biljni napici nemaju kolesterol, a većina ima povoljniji omjer zasićenih i nezasićenih kiselina (Thorning i sur., 2016).

Žitarice, mahunarke, orašasti plodovi i sjemenke sadržavaju mikro- i makronutrijente koji imaju pozitivan učinak na zdravlje. Biljne matrice bogate su prehrambenim vlaknima, izoflavonoidima i antioksidansima. Kravlje mlijeko je bogat izvor energije s obzirom da 100 g proizvoda predstavlja 64 kcal. Stoga, biljni napici moraju imati visoku energetska vrijednost kako bi bili dostojna zamjena kravljem mlijeku. Kravlje mlijeko sadrži visok udio kolesterola i ugljikohidrata. Biljni napici na bazi soje, badema i kokosa imaju manji udio ugljikohidrata dok napitak na bazi riže sadrži više ugljikohidrata od kravljeg mlijeka (Chalupa-Krebdak i sur., 2018). Također, kravlje mlijeko ima veći udio mineralnih tvari od biljnih napitaka. Stoga se korak obogaćivanja mineralnim tvarima provodi u proizvodnji biljnih napitaka. Biljni napici na bazi soje pokazali su visoku dostupnost iona magnezija, bakra, željeza i bakra dok je biljni napitak na bazi

lješnaka dobar izvor natrija (Astolfi i sur., 2020). Također, biljni napici sadrže fitinsku kiselinu, oksalate, lecitin i saponine koji smanjuju apsorpciju i dostupnost minerala. Glavni nedostatak kod biljnih napitaka je mali udio proteina. Kravlje mlijeko je izvor proteina koji sadrže sve esencijalne aminokiseline i ima visoku probavljivost. Kako bi povećali udio proteina, biljni napici se često proizvode upotrebom različitih biljnih matrica. Unatoč tome, biljni napici sadrže manji udio esencijalnih aminokiselina od kravljeg mlijeka kao što su metionin, cistein i lizin (Thorning i sur., 2016). Stoga, među biljnim napicima, napitak na bazi soje sadržava najbolji udio mikro- i makro nutrijenata. Međutim, sojin napitak ima visok udio antinutrijenata i proteina koji mogu izazvati alergijske reakcije. Osim sojinog napitka, bademov napitak smatra se jednim od boljih alternativa mlijeka na tržištu. Bademov napitak ima dobar nutritivan sastav i senzorsku prihvatljivost.

2.3. FERMENTIRANI BILJNI NAPICI

Fermentacija biljnih napitaka povećava nutritivnu vrijednost i poboljšava okus. Pektinaze koje oslobađaju *Lactobacillus* i *Streptococcus* tijekom fermentacije, povećavaju udio proteina, aminokiselina te probavljivost proteina (Amini i sur., 2019). Starter kulture kao što su *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, povećavaju sadržaj i dostupnost minerala, kao i antioksidativna svojstva (Tangyju i sur., 2019). Također, aktivnost β -glukozidaze povećala je sadržaj izoflavona, što je pridonijelo poboljšanju probave biljnih napitaka (Anino i sur., 2019). Utvrđeno je da bakterije mliječne kiseline ublažavaju djelovanje antinutrijenata kao što su stahioza, rafinoza, fitat, oligosaharidi, tanini i inhibitori proteaze što zauzvrat povećava biorasploživost minerala (Castro-Alba i sur., 2019).

Okus graha povezan sa n-heksanolom, n-heksanalom, acetatom, izovaleratom i 2-metilbutiratom smanjen je upotrebom bakterija mliječne kiseline roda *Lactobacillus* što je rezultiralo u smanjenoj gorčini biljnih napitaka. S druge strane, fermentacija je pogodovala nastajanju poželjnih hlapljivih aroma kao što su acetoin, diacetil i acetaldehid, ovisno o vrsti mikroorganizma (Emkani i sur., 2022).

Proizvodnja fermentiranih napitaka slijedi iste korake kao i proizvodnja ne-fermentiranih biljnih napitaka, ali uz dodatak dva dodatna koraka, kondicioniranje (kako bi se postigla optimalna

temperatura za rast mikroorganizama) i fermentaciju (pod odgovarajućim uvjetima za upotrebljene mikroorganizme) (Mefleh i sur., 2022). Većina biljnih napitaka fermentira se pomoću bakterija mliječne kiseline, uglavnom *Lactobacillus* (*Lactobacillus spp.*, *L.casei*, *L.helveticus*, *L.fermentum*, *L.reuteri*, *L.acidophilus*, *L.rhamnosus* i *L.johnsonii*), *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium animalis ssp. Lactis*) i *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*) (Cichońska i Ziarno, 2022). Supstrati na biljnoj bazi pogoduju visokom preživljavanju fermentirajućih mikroorganizama, a posljedično rezultiraju ne-mliječnim probiotičkim proizvodima (Valero-Cases i sur., 2020). Trajanje fermentacije biljnih napitaka obično je 12-24 h, ovisno o svojstvima sirovine biljnog materijala, vrsti mikroorganizama i svojstvima konačnog proizvoda (Navaz i sur., 2020). Predugo vrijeme fermentacije (>24 h) može rezultirati stvaranjem nepoželjnih spojeva koji mogu negativno utjecati na nutritivne i organoleptičke karakteristike (Cichońska i Ziarno, 2022).

Tijekom fermentacije biljnih napitaka, proteini se destabiliziraju stvarajući slab, nekontinuirani gel što rezultira odvajanjem faza (Bernat i sur., 2015). Iz tog razloga, hidrokoloidi se koriste u proizvodnji fermentiranih biljnih napitaka kako bi stabilizirali čestice u suspenziji, pridonoseći formiranju strukture fermentiranih biljnih napitaka (Guo i Yang, 2015). Kombinacija zgušnjivača i emulgatora kao što su škrob, pektin, prirodne gume i ekstrakti proteina se koriste kako bi se dobili fermentirani biljni napici prihvatljive konzistencije (Banarjee i Bhattacharya, 2012).

2.4. HIDROKOLOIDI

Hidrokoloidi su grupa dugolančanih polimera koji se lako raspršuju u vodi, te su potpuno ili djelomično topivi u vodi i skloni su bubrenju u vodi. Prisutnost velikog broja hidroksilnih skupina povećava njihov afinitet vezanja vode čineći ih hidrofilnim spojevima. Nadalje, oni proizvode disperziju, koja je posredna između prave otopine i suspenzije, što ih čini koloidima. S obzirom na ova dva svojstva nazivaju se hidrokoloidi.

Glavni razlog široke uporabe hidrokoloida u prehrambenoj industriji je njihova sposobnost modificiranja reoloških svojstava složenog sustava hrane. To uključuje dva osnovna svojstva prehrambenog sustava, viskoznost i teksturu. Modifikacija teksture i/ili viskoznosti prehrambenog

sustava pomaže modificirati senzorska svojstva prehrambenih proizvoda stoga se često koriste kao aditivi u hrani. Razni prehrambeni proizvodi poput juha, umaka, preljeva za salate i umaka koriste hidrokoloide kao aditive za postizanje viskoznosti i željenog okusa u ustima. Također, koriste se još u proizvodnji sladoleda, džemova, želea, deserta i bombona kako bi se postigla željena tekstura (Saha i Bhattacharya, 2010).

Hidrokoloidi imaju širok spektar funkcionalnih svojstava u hrani. To uključuje zgušnjavanje, želiranje, emulgiranje i stabiliziranje. Većina hidrokoloida klasificirana je kao polisaharidi. Stoga se, karyya guma, tragant guma, qati guma i arapska guma, te druge biljne gume svrstavaju u skupinu eksudata stabala iz koje se proizvode ove gume. Agar, alginat, karagenan, forceseran, fosuidan spadaju u skupinu hidrokoloida morskih algi, a želatina i hitin u kategoriju hidrokolida životinjskog podrijetla (Pirsa i Hafezi, 2023).

Tijekom fermentacije bademovog napitka, proteini se destabiliziraju stvarajući nekontinuirano gel stanje gdje dolazi do odvajanje faza. Dodatak hidrokoloida, kao što su škrob, pektin i guar guma rješavaju problem, proizvedeći čvrstu teksturu fermentiranog napitka (Grasso i sur., 2020).

2.4.1. Škrob

Škrob je prirodni polimer koji se sastoji od monomera glukoze međusobno povezanih α -1,4 i α -1,6 glikozidnim vezama (Jobling, 2004). Dvije su glavne vrste makromolekula prisutne u škrobu: amilopektin i amiloza. Amiloza se sastoji od α -D monomera glukoze povezanih α -1,4 glikozidnom vezom u obliku dugih linearnih lanaca (Bertoft i sur., 2008). Amilopektin je visoko razgranata molekula koje se sastoji od 18-31 glukoznih ostataka povezanih α -1,4- glikozidnim vezama i bočnim lancima sa α -1,6- glikozidnim vezama na mjestima grananja (Tester i sur., 2004). Škrob sadrži prosječno oko 25-28 % amiloze i 72-75 % amilopektina.

Škrob je važan izvor energije u ljudskoj prehrani, kao i funkcionalni sastojak hrane koji pruža poželjna fizikalno-kemijska i senzorska svojstva, kao što su izgled proizvoda, tekstura i osjećaj u ustima (Chen i sur., 2019). Kao rezultat toga, ima mnoge potencijalne primjene u

prehrambenoj industriji: sredstvo za zgušnjavanje u umacima i preljevima, sredstvo za želiranje i vezivno sredstvo u proizvodnji bombona i stabilizator u mliječnim proizvodima (Delcour i sur., 2010).

2.4.2. Pektin

Pektin je složeni strukturni polisaharid koji se uglavnom dobiva iz prirodnih izvora i strukturna je komponenta biljne stanice. S kemijskog gledišta, pektin je polisaharid koji uglavnom sastoji od metoksiesterificiranih jedinica α -1,4-galakturonske kiseline. Strukturno, pektin se može podijeliti u tri glavne regije: glatke (također se nazivaju i linearne regije), dlakave i razgranate regije. Stupanj esterifikacije ostataka galakturonske kiseline pektina je najvažniji parametar koji utječe na topljivost pektina i njegovu sposobnost želiranja. Stupanj esterifikacije varira ovisno o podrijetlu biljnog izvora, kada i gdje je biljka ubrana i uvjetima obrade kao što su izolacija, pročišćavanje, skladištenje i ekstrakcija (Liu i sur., 2007).

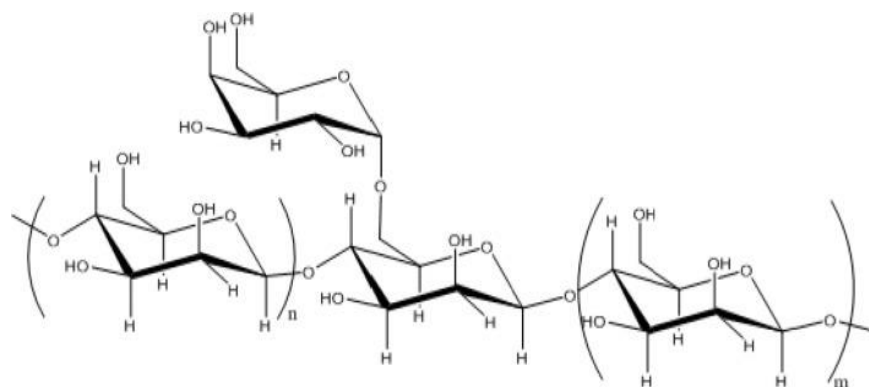
Pektin se prvenstveno u prehrambenoj industriji koristi kao sredstvo za želiranje i koristi se često u proizvodnji džemova i želea, voćnih sokova, konditorskih proizvoda i nadjeva za pekarske proizvode (May, 1997). Druga važna primjena pektina je stabilizacija acidificiranih mliječnih napitaka i jogurta (Willats i sur., 2006). Pektin koji se koristi u prehrambenoj industriji većinom se ekstrahira iz citrusa ili kore jabuke. Važan je sastojak topivih vlakana voća i povrća što je osobito važno za prehranu bogatu vlaknima koja je pogodna za ljudsko zdravlje. Razna istraživanja su utvrdila da pektin smanjuje razinu kolesterola i može imati antikancerogeno djelovanje (Yamada, 1996).

2.4.3. Guar guma

Guar guma je poligalaktomanan dobiven iz endosperma biljke mahunarke *Cyamopsis tetragonolubus*. Strukturno, sastoji se od okosnice (1-4) povezanih β -D-manopiranozilnih jedinica sa pojedinačnim α -D-galaktopiranozilnim jedinicama na svaku drugu jedinici glavnog lanca.

Omogućuje visoku viskoznost čak i pri niskim koncentracijama ($\leq 1\%$ w/v) u vodenim otopinama (Miyazawa i Funazukuri, 2006).

Zahvaljući ovim svojstvima, guar guma se koristi kao sredstvo za želiranje, zgušnjivač, stabilizator, emulgator i stabilizator pjene u prehrambenoj industriji. Nadalje, u djelomično hidroliziranom obliku koristi se i kao topljivo prehrambeno vlakno, a njegovo dokazano prebiotičko djelovanje rezultira snižavanjem glukoze i kolesterola u krvi (Butt i sur., 2007). Guar guma također se koristi za proizvodnju prehrambenih proizvoda niskog glikemijskog indeksa zbog svoje primjene kao prehrambeno vlakno. Također, guar guma se koristi u proizvodnji biorazgradivih filmova za pakiranje hrane (Das i sur., 2011) i kao materijal stijenke za inkapsulaciju komponenta okusa (Sarkar i sur., 2013).



Slika 2. Guar guma (prema Abdulraheim i Manar, 2018)

2.5. OKARA

Prehrambena industrija godišnje proizvede oko 190 milijuna tona nusproizvoda kao što su oštećene sirovine, komine, uljne pogače, sjemenke, melasa i drugi nusproizvodi procesa prerade (Kumari i sur., 2018). Većina ovih nusproizvoda može biti od iznimnog značaja za industriju, ovisno o podrijetlu i količini nusproizvoda (Cecilia i sur., 2019).

Pulpa, kora, sjemenke, kožica i peteljke primjeri su nusproizvoda u proizvodnji voća i povrća. Nusproizvodi u proizvodnji voća i povrća, koji se lako stvaraju u velikim količinama, mogu se koristiti kao proizvodi sa dodanom vrijednošću. Većina ovih nusprodukata imaju značajan

udio prehrambenih vlakana i bioaktivnih spojeva (polifenola, karotenoida, glukozinata, itd.) (Sadh i sur., 2018).

Biljni nusproizvodi bogati su ugljikohidratima, proteinima, fitokemikalijama i/ili antioksidansima u usporedbi s ostalim agroindustrijskim otpadom (Ratu i sur., 2023). Proteini, ugljikohidrati, lipidi i drugi bioaktivni sastojci kao što su prehrambena vlakna, fenoli, alkaloidi i pigmenti prisutni su u značajnim količinama u nizu prehrambenih nusproizvoda. Uporaba velikih količina biljnih nusproizvoda ekonomična je za industrije, zahtijeva odlaganje manje otpada i proširuje raspon dostupnih proizvoda, kao što je funkcionalna hrana i razvoj spojeva visoko dodane vrijednosti (De Los i sur., 2018)

Okara je nusproizvod proizvodnje sojinog napitka i tofua. Odlikuje se svijetložutom bojom, blagim i neutralnim okusom te niskim energetske potencijalom (Ostermann-Porcel i sur., 2017). Globalna proizvodnja okare iznosi oko 1,4 milijardi tona godišnje (Kamble i Rani, 2020), ali je nedovoljno iskorištena s obzirom na nutritivne prednosti okare uzrokujući značajno onečišćenje okoliša (Colletti i sur., 2020). Otprilike 40 % okare proizvedene okare koristi se za prehranu životinja, a samo 10 % za prehranu ljudi dok 50 % okare završi kao prehrambeni otpad.

Okara sadrži 15-40 % proteina (Kumar i sur., 2016), 32-53 % ugljikohidrata (56-58 % prehrambenih vlakana, od čega 42-55 % netopivih prehrambenih vlakana, te 0,17-4,11 % otpada na monosaharide, a 1,61-4,35 % na disaharide) (Stanojevic i sur., 2013). Osim toga, okara sadrži 6-22 % lipida, ovisno o načinu proizvodnje sojinog napitka (Kumar i sur., 2016). Bogata je bioaktivnim spojevima kao što su izoflavoni i fitoestrogeni, vitamini B skupine i vitamin K, i minerali (Stanojevic i sur., 2013). Osim toga, ne sadrži gluten, laktozu i kolesterol, što može imati značajan učinak za zdravstveno ugrožene potrošače.

Okara sadrži izoflavone kao bioaktivne komponente koji štite od osteoporoze, smanjuju protuupalne procese i kontroliraju razvoj kardiovaskularnih bolesti. Unos hrane proizvedene od soje povezan je sa smanjenjem kolesterola u plazmi, smanjenim rizikom od raka, kognitivnih sposobnosti i simptomima menopauze (Kamble i Rani, 2020). Fermentirana okara koristi se kao nutraceutik poput fukoksantina i ekosapentaenske kiseline (EPA) (Kim i sur., 2023).

Također, okara ima veliki potencijal primjene kao aditiva u prehrambenoj industriji s obzirom da može vezati vlagu i ulje. Može se koristiti kao funkcionalni dodatak mesu i mesnim

proizvodima jer obogaćuje nutritivna svojstva finalnog proizvoda, a ne utječe negativno na okus i teksturu proizvoda. Dodatak okare (5 %) u čokoladne kolačiće produžio je rok trajanja i smanjio sinerezu tijekom smrzavanja i odmrzavanja (Mateos-Aparicio i sur., 2010). Ibrahim i sur. (2022) došli su do zaključka da dodatak 2 % i 3 % okare obogaćene probioticima (*L. plantarum*) u sladoledu poboljšala njegova nutritivna, senzorska, kemijska i fizikalna svojstva. U isto vrijeme, Roslan i suradnici promatrali su dodatak okare (1 %, 2 % i 3 %) u proizvodnji probiotičkog jogurta. Također, zaključili su da prehrambena vlakna okare poboljšavaju broj probiotika i kemijska svojstva jogurta tijekom skladištenja. Stoga, okara se može koristiti u prehrambenoj industriji kao hrana s dodanom vrijednošću ili dodatak hrani.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Za proizvodnju fermentiranog napitka od badema korišten je nezaslađeni bademov napitak (Nutrigold, Zagreb) iz kontroliranog organskog uzgoja, a njegova nutritivna vrijednost prikazana je u tablici 2.

Tablica 2. Nutritivna vrijednost bademovog napitka Nutrigold (Zagreb)

Nutritivna vrijednost u 100 mL napitka	
Energija	64,7 kJ / 15,5 kcal
Masti	1,35 g
Od kojih zasićene masne kiseline	0,1 g
Ugljikohidrati	0,4 g
Od kojih šećeri	0,1 g
Vlakna	0,2 g
Proteini	0,5 g
Sol	0,1 g

Od ostalih materijala koristili su se bijeli kristal šećer (Viro, Virovitica), okara (PBF, Zagreb), rižin protein (Nutrigold, Zagreb), smjesa škroba i pektina komercijalnog naziva GRIND (Danisco, Danska) i guar guma. U preliminarnim eksperimentima isprobani su i drugi stabilizatori poput organskog psilijuma u prahu (Nutrigold, Zagreb), proteinski prah od konoplje (Nutrigold, Zagreb), inulin (Naturmind, Zagreb), brašno sjemenki rogača (OPG Goravica, otok Šipan) i ksantan guma (Doves Farms Foods Ltd., Berkshire).

Za fermentaciju organskog napitka od badema koristile su se jogurtne starter kulture (Danisco, Kopenhagen) koje služe za inokulaciju i fermentaciju hrane i napitaka na biljnoj bazi. Sve kulture korištene su u obliku liofiliziranog praha.

VEGE 033 LY0 sadržava:

- *Streptococcus thermophilus*
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*

VEGE 053 LY0 sadržava: *Streptococcus thermophilus*

- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*
- *Bifidobacterium lactis* (HNO19™)
- *Lactobacillus acidophilus* (NCFM®)

3.1.1. Otapala i reagensi

Sljedeća otapala i reagensi koji su korišteni u ovom radu:

- Destilirana voda
- Luffova otopina
- Priprema: 25 g $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ otopi se u 100 mL destilirane vode. Zatim se 50 g limunske kiseline otopi u 50 mL destilirane vode, a 388 g kristalnog $\text{Na}_2\text{CO}_3 \times 10 \text{H}_2\text{O}$ u 300-400 mL tople destilirane vode. U odmjernu tikvicu od 1 L prvo se ulije otopina natrijevog karbonata, a zatim se doda otopina limunske kiseline. Toj dobivenoj smjesi doda se otopina bakrovog (II) sulfata, a ostatak se nadopuni do oznake destiliranom vodom.
- Kalijev jodid, 20 %
- Sumporna kiselina, 25 %
- Otopina škroba, 2 %
- Hranjive podloge za određivanje prisutnosti kvasaca i plijesni (Sabouraud Dextrose Agar CAF 50, Biolife, Italija), enterobakterija (Violet red bile glucose agar, Biolife, Italija),

bakterija mliječne kiseline (Biolife, Italija) i ukupan broj bakterija (Tryptic Glucose Yeast Agar, Biolife, Italija)

- Fiziološka otopina

Priprema: Na laboratorijskoj vagi odvaži se 9 g NaCl te se kvantitativno prenese u tikvicu od 1000 mL, a zatim se do oznake nadopuni destiliranom vodom.

3.1.2. Aparatura

- pH-metar (ProfiLine pH 3110, Xylwm Analytics, Njemačka)
- Analitička vaga (Mettler Toledo, AB 104, Švicarska)
- Eksikator sa sredstvom za izvlačenje vlage
- Sušionik (ST.01/02, Instrumentaria, Zagreb)
- Peć za žarenje (Mufovapeć), (LP-08, Instrumentaria, Zagreb)
- Tehnička vaga (KB 3600-2N, Kern & Sohn GmbH, Njemačka)
- Centrifugalni separator (IKA, Rotina 380 R, Njemačka)
- Rotacijski viskozimetar (Rheometric, Inc., Piscataway, SAD)
- Kolorimetar (CM-700d, Konica Minolta, Japan)
- Vodena kupelj (WNE 45 Waterbath, Memmert, Njemačka)
- Grijač sa magnetskom miješalicom (Rotamix SHP-10, Tehtnica, Slovenija)
- Termostat (Inko, Zagreb)
- Vorteks (MS2 Minishaker, IKA, Njemačka)
- Grijač sa magnetskom miješalicom (Rotamix SHP-10, Tehtnica, Slovenija)
- Centrifuga (Rotina 380R, Hettich Zentrifugen GmbH, Njemačka)

3.1.3. Pribor

- Erlenmeyerove tikvice (1000 mL, 2000 mL)
- Mikropipete (100 µL, 1000 µL)

- Infuzijske boce s čepovima
- Laboratorijske čaše (200 mL)
- Staklene epruvete
- Plastične kivete (50 mL)
- Porculanski lončići za žarenje
- Hvataljke
- Posudice sa ravnim dnom
- Pipete (1 mL, 20 mL)
- Trbušaste pipete (25 mL)
- Štoperica
- Magnetni štapić
- Petrijeve zdjelice
- Plastične žlice
- Bočice za fermentaciju
- Stakleni štapići
- Lađice za vaganje

3.2. METODE

3.2.1. Preliminarna istraživanja

Svrha preliminarnih istraživanja bila je utvrditi optimalno trajanje fermentacije, kao i recepturu konačnog proizvoda konzistencije slične jogurtu, koji bi istodobno bio senzorski prihvatljiv potrošačima, s obzirom na različite dodatke.

Prije samog početka procesa fermentacije, bilo je potrebno osigurati sterilnost aparature i pribora. Laboratorijske čaše, bočice za fermentaciju, menzure i stakleni štapići sterilizirani su suhom sterilizacijom na 200 °C kako bi se dobio mikrobiološki prihvatljiv proizvod.

U prethodno sterilizirane čaše od 1 L dodalo se 300 mL uzorka. U svrhu zgušnjivanja u uzorke su dodani ksantan guma, psilijum, brašno od sjemenki rogača, inulin te škrob i pektin u koncentracijama od 0,5 %, 1 % i 1,5 %. Rižin protein, okara i protein od konoplje dodavani su u koncentracijama od 1 %, 1,5 % i 3 % s ciljem obogaćivanja funkcionalnog proizvoda. Kao zaslađivač koristila se saharoza u koncentraciji od 3 %. Nakon toga, svi sastojci su bili izmiješani staklenim štapićem kako bi se spriječilo stvaranje grudica. Smjesa je dobro homogenizirana štapnim mikserom prije pasterizacije. Zatim se smjesa zagrijavala uz neprestano miješanje na 73 °C/15 s na grijaćoj ploči kako ne bi došlo do zagaranja napitka na dnu čaše.

Uzorci su potom ohlađeni na 43 °C kako bi se stvorili idealni uvjeti za rast starter kulture. Starter kultura je stavljena u posudice za vaganje. Količina jogurtne starter kulture precizno je izvagana na analitičkoj vagi (0,0129 g za VEGE 053 LYO, 0,0117 g za VEGE 033 LYO). Nakon dodavanja starter kulture, uzorci su postavljeni na fermentaciju na termostat pri temperaturi od 42 °C. Tijekom različitih vremenskih intervala (obično 1-2 h) uzimani su uzorci kako bi se pratilo trajanje fermentacije. Kraj fermentacije označavala je pH vrijednost manja ili jednaka 4,65. Fermentacija se prekinula brzim hlađenjem uzoraka u hladnoj vodi, nakon čega su uzorci pohranjeni u hladnjaku na temperaturi od +4 °C.

Preliminarna istraživanja provodila su se s ciljem pronalaska optimalne koncentracije različitih dodataka i vrste starter kulture koja će se koristiti za fermentaciju. Senzorskom analizom određivala se kiselost uzoraka. Nakon utvrđivanja konačne recepture fermentiranog bademovog napitka, provedene su fizikalno-kemijske metode s ciljem određivanja karakteristika proizvoda: udio suhe tvari, udio mineralnih tvari, udio ugljikohidrata, kiselost (pH vrijednost), indeks boje, sinereza, kapacitet zadržavanja vode te reološka svojstva. Također, provodila se mikrobiološka analiza i senzorska procjena u svrhu ispitivanja stabilnosti uzoraka. Uspoređena je prihvatljivost fermentiranih bademovih napitaka s i bez dodataka, te su rezultati obrađeni statistički.

3.2.2. Proizvodnja fermentiranog bademovog napitka s dodatkom GRIND-a/ guar gume i okare/ rižinog proteina

Za poboljšanje teksture dodani su GRIND (smjesa škroba i pektina) i guar guma, a okara i rižin protein su dodani s ciljem obogaćivanja funkcionalnog proizvoda. Saharozu je dodana u svrhu

postizanja željenog okusa napitka. Konačne recepture bademovih fermentiranih napitaka s i bez dodataka prikazane su u tablici 3.

U laboratorijske lađice odvagani su škrob i pektin te guar guma u koncentracijama od 0,5 % i 1,5 %, okara i rižin protein u koncentraciji od 1 % te saharoza u koncentraciji od 3 %. Nakon toga, izvagani sastojci su dodani u 1 L bademovog napitka. Svi sastojci su dobro homogenizirani štapnim mikserom kako bi postigli homogenost smjese i spriječili formiranje grudica. Tako dobivena smjesa se pasterizira na 75 °C na 15 sekundi na grijačkoj ploči sa magnetskim miješačem. Nakon toga se uzorci postupno hlade na 43 °C kako bi se mogla dodati starter kultura. Nakon što su svi sastojci pomiješani, smjesa se raspodijeli u prethodno sterilizirane bočice. Zatim se odredi kiselost mjerenjem pH vrijednosti i te se bočice prekriju aluminijskom folijom i stave na fermentaciju u termostat. Svaka 1-2 h mjeri se pH vrijednost uzoraka kako bi se odredio kraj fermentacije koju označava pH vrijednosti blizu 4,65. Fermentacija se prekida naglim hlađenjem, a uzorci su pohranjeni u hladnjaku na +4 °C tijekom 21 dana.

Tablica 3. Fermentirani bademovi napici s različitim dodacima

Uzorak	Dodaci
K1-33	Fermentirani bademov napitak bez dodataka inokuliran starter kulturom VEGE 033
K1-53	Fermentirani bademov napitak bez dodataka inokuliran starter kulturom VEGE 053
E	Fermentirani bademov napitak sa dodatkom 0,5 % guar gume, 3% saharoze i 1% rižinog proteina inokuliran starter kulturom VEGE 053
F	Fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1,5 % smjese škroba i pektina, 3 % saharoze i 1% okare inokuliran starter kulturom VEGE 033

3.2.3. Određivanje kiselosti

Kiselost bademovog napitka određivala se mjerenjem pH vrijednosti tijekom 1., 7., 14. i 21. dana hladnog skladištenja. Prije mjerenja pH vrijednosti, pH-metar se kalibrira ispiranjem elektrode destiliranom vodom. Nakon uranjanja pH elektrode u uzorak, čeka se dok se pH vrijednost ne stabilizira na zaslonu uređaja te se onda očitava vrijednost.

3.2.4. Određivanje ugljikohidrata

Metoda za određivanje ukupnih ugljikohidrata u mlijeku i mliječnim proizvodima metodom prema Loof- Schoorlu temelji se na njihovoj sposobnosti da reduciraju metale iz alkalnih otopina njihovih soli, zahvaljujući slobodnoj aldehidnoj ili keto skupini.

U tikvicu s brušenim dnom otpipetira se 1 mL uzorka. Zatim se otpipetira 24 mL destilirane vode i 25 mL Luffove otopine. Tikvica se priključi na povratno hladilo i kuha uz lagano vrenje 10 minuta. Nakon toga se tikvica hladi pod mlazom tekuće vode, te se u smjesu otpipetira 15 mL 20 %-tne otopine kalij jodida. Potom se oprezno u smjesu otpipetira 25 mL 25 %-tne otopine sumporne kiseline.

Suvišak bakra (II) u otopini određen je jodometrijskom titracijom s 0,1 M Na_2SO_3 . Tijekom titracije, kada se pojavi blijedožuta boja otopine, doda se 1 mL svježe pripremljene 2 %-tne otopine škroba i nastavi se titracija $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ do promjene boje iz plave u putenastu boju.

Usporedno se radi i slijepa proba gdje se umjesto 1 mL uzorka i 24 mL destilirane vode otpipetira 25 mL destilirane vode, a dalje se ponavlja postupak kao i s uzorkom (Božanić i sur., 2010).

Izračun:

Slijepa proba troši: X mL 0,1 mol/L Na₂S₂O₃

Uzorak troši: Y mL 0,1 mol/L Na₂S₂O₃

$$(X-Y) \times f(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = Z \text{ mL } 0,1 \text{ mol/L Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \quad [1]$$

Iz tablice 4 se za Z mL očitaju mg glukoze u 1 mL uzorka

Tablica 4. Izračunavanje šećera po Shoorl- Luffu (prema Božanić i sur., 2010)

0,1N- tiosulfat	Glukoza, fruktoza ili Invertni šećer		Laktoza		Maltoza	
	mL	razlika	mg	razlika	mg	razlika
1	2,4		3,6		3,9	
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9
3	7,2	2,4	11,0	3,7	11,7	3,9
4	9,2	2,5	14,7	3,7	15,6	3,9
5	12,2	2,5	18,4	3,7	19,6	3,9
6	14,7	2,5	22,1	3,7	23,5	4,0
7	17,2	2,5	25,8	3,7	27,5	4,0
8	19,8	2,6	29,5	3,7	31,5	4,0
9	22,4	2,6	33,2	3,7	35,5	4,0
10	25,0	2,6	37,0	3,8	43,5	4,0
11	27,6	2,6	40,8	3,8	43,5	4,0
12	30,3	2,7	44,6	3,8	47,5	4,0
13	33,0	2,7	48,4	3,8	51,6	4,1

14	35,7	2,7	52,2	3,8	55,7	4,1
15	38,5	2,8	56,0	3,8	59,8	4,1
16	41,5	2,8	59,9	3,9	63,9	4,1
17	44,2	2,9	63,8	3,9	68,0	4,1
18	47,1	2,9	67,7	3,9	72,2	4,2
19	50,0	2,9	71,7	4,0	75,5	4,3
20	53,0	3,0	75,7	4,0	80,9	4,4
21	56,0	3,0	79,8	4,1	85,4	4,5
22	59,1	3,1	83,9	4,1	90,0	4,6
23	62,2	3,1	88,0	4,1	94,6	4,6

3.2.5. Određivanje udjela suhe tvari

Za određivanje udjela suhe tvari fermentiranih bademovih napitaka koristila se direktna metoda za određivanje ukupne suhe tvari koja se temelji na isparavanju vode iz uzorka sušenjem u sušioniku pri konstantnoj temperaturi od 105 °C do postizanje konstantne mase.

U aluminijske posudice s ravnim dnom dodaje se kvarcni pijesak. Zatim se posudice, zajedno sa svojim poklopcem, postave jedna pored druge u sušionik na konstantnu temperaturu od 105 °C. Nakon toga, poklopljene posudice se premijeste u eksikator te se hlade na sobnu temperaturu. Zatim se posudice precizno izvažu na analitičkoj vagi.

U osušene i ohlađene aluminijske posudice sa kvarcnim pijeskom doda se 10 mL uzorka za analizu. Posudice sa uzorke se postave na sušenje dva sata na konstantnoj temperaturi od 105 °C. Nakon sušenja, posudice se poklope i izvade iz sušionika u eksikator da se ohlade do sobne temperature (barem 30 minuta) i važu na analitičkoj vagi. Postupak se ponavlja dok razlika između dva uzastopna mjerenja ne prijeđe 0,5 mg. Za izračun se koristila najniža zabilježena masa uzorka (Božanić i sur., 2010).

Izračun udjela suhe tvari vrši se prema formuli:

$$\frac{\text{zadnja odvaga} - \text{prazna posudica}}{\text{odvaga uzorka}} \times 100 = \% \text{ suhe tvari} \quad [2]$$

3.2.6. Određivanje udjela mineralnih tvari (pepela)

Za određivanje ukupnih mineralnih tvari, odnosno pepela, žario se uzorak pri 550 °C do postizanje konstantne mase.

Porculanski lončići užare se su u Mufovoj peći pri temperaturi od 550 °C, a zatim se ohlade u eksikatoru do sobne temperature. U užarene porculanske lončice izvaže se 10 g uzorka na analitičkoj vagi. Uzorci se stave u sušionik pri konstantnoj temperaturi od 105 °C dok se sasvim ne osuše. Zatim se lončići stave na žarenje u Mufovu peć na temperaturu od 550 °C dok sadržaj ne pobijeli. Potom se lončići hlade u eksikatoru do sobne temperature, važu i ponovno žare do konstantne mase. Za izračun se koristi najniža zabilježena masa uzorka (Božanić i sur., 2010).

Izračun udjela mineralnih tvari odnosno pepela računa se prema formuli:

$$\frac{\text{zadnja odvaga} - \text{prazan lončić}}{\text{odvaga uzorka}} \times 100 = \% \text{ pepela} \quad [3]$$

3.2.7. Određivanje sinereze i kapaciteta zadržavanja vode

Na laboratorijskoj vagi izvagano je 20 g jogurta u kivete od 50 mL. Nakon 1., 7., 14. i 21. dana hladnog skladištenja uzorci se centrifugiraju na brzini od 5000 rpm pri 4 °C tijekom 10 minuta. Nakon centrifugiranja, tekući supernatant se odvoji pipetom, dok se zaostali talog u kiveti odvaže. Razlika u masama predstavlja masu izdvojenog supernatanta, a izdvojeni supernatant se koristi za izračun % sinereze (Feng i sur., 2018).

Kapacitet zadržavanja vode (WHC) izračunava se prema slijedećoj formuli:

$$\text{WHC (\%)} = (m_{\text{talog}} / m_{\text{uzorak}}) \times 100 \quad [4]$$

m_{talog} = masa taloga nakon uklanjanja supernatanta (g)

m_{uzorak} = masa uzorka prije centrifugiranja (g)

Iz dobivenih vrijednosti preračunava se i sinereza kao postotak prema sljedećoj formuli:

$$S (\%) = (m_{\text{supernatant}}/m_{\text{uzorak}}) \times 100 \quad [5]$$

3.2.8. Određivanje reoloških svojstava

Za određivanje reoloških svojstava koristio se rotacijski viskozimetar (Rheometric, Inc., Piscataway, SAD). Rotacijski viskozimetar omogućuje mjerenje vrijednosti smičnog napona i prividne viskoznosti. Viskoznost je fizikalna veličina koja opisuje otpor tekućine prema tečenju.

Mjerenje napona i prividne viskoznosti provedeno je u rasponu brzina smicanja od 100 do 1290 s⁻¹. Rotacijski viskozimetar korišten je radi određivanja napona i prividne viskoznosti pri brzinama smicanja od 100, 270, 440, 660, 780, 950, 1120 i 1290 s⁻¹. Temperatura uzorka je bila oko 20 °C. Rotacijski viskozimetar sam određuje brzine i prikazuje vrijednosti napona smicanja (T) dane u Pa i prividne viskoznosti (μ) dane u Pa na zaslonu uređaja.

U Excel tablici se linearnom regresijom iz odnosa logaritama brzine i napona smicanja određuju parametri kao što su koeficijent konzistencije (mPas), indeks tečenja (n), te koeficijent regresije. Parametri se određuje iz jednadžbe linearne regresije. Indeks tečenja je broj uz x u dobivenoj jednadžbi, a koeficijent konzistencije je antilog drugog člana jednadžbe. Koeficijent regresije je R² te predstavlja točnost metode.

3.2.9. Određivanje indeksa boje

Boja bademovog napitka određena je CIELAB metodom koju je ustanovila Comission Internationale de L'Eclairage (Lancaster i sur., 1997). Metoda se temelji na mjerenju 3 dimenzije u prostoru boja. Mjerenje indeksa boja izražava se vrijednostima L* (svjetlost), a* (crveno/zeleno), i b* (žuto/plavo) za uzorke fermentiranih bademovih napitaka. CIELAB ljestvica boja koristi

indeks boja L, od 0 do 100, za mjerenje svjetline od crne do boje. Indeks a varira od -100 (zelena boja) do +100 (crvena boja), a indeks b varira od -100 (plava boja) do +100 (žuta boja). Ukupna promjena boje između fermentiranih bademovih napitaka izračunava se po formuli:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0)^2 + (a^* - a_0)^2 + (b^* - b_0)^2} \quad [6]$$

- L^*, a^*, b^* - vrijednosti određene za uzorke fermentiranih bademovih napitaka sa dodacima
- L_0, a_0, b_0 - vrijednosti određene za uzorke fermentiranih bademovih napitaka bez dodataka

Tablica 5. Značenje razlika među određenim ΔE^* vrijednostima (prema Mokrzycki i Tatol, 2011)

ΔE^*	Značenje
0-0,5	Razlike u tragovima
0,5-1,5	Mala razlika
1,5-3,0	Primjetna razlika
3,0-6,0	Značajna razlika
6,0-12,0	Velika razlika
>12,0	Vrlo velika razlika

3.2.10. Mikrobiološka analiza

Mikrobiološka analiza provodila se sa ciljem određivanje trajnosti proizvoda praćenjem preživljavanja mikroorganizama (kvasci i plijesni, bakterije mliječne kiseline, enterobakterije i ukupan broj bakterija).

Prema uputi proizvođača, u Erlenmeyerovoj tikvici od 500 mL otopi se određena količina hranjive podloge u destiliranoj vodi. Erlenmeyerova tikvica zagrijavala se na magnetskom grijaču dok se cijeli sadržaj nije otopio i nakon toga se razlio u infuzijske boce. Infuzijske boce sa hranjivom podlogom sterilizirane su u autoklavu pri 121 °C na 20 minuta.

U 1000 mL destilirane vode otopilo se 9 g natrijevog klorida kako bi se pripremila fiziološka otopina. Tako pripremljena fiziološka otopina razdijelila se u epruvete (9 mL). Epruvete su zatim začepljene i stavljene u sterilizacijsku košaru kako bi se sterilizirale u autoklavu pri 121 °C na 10 minuta.

U prethodno sterilizirane Erlenmeyerove tikvice sa staklenim zrcima, otpipetira se 20 mL uzorka, prethodno steriliziranom pipetom, doda se 180 mL fiziološke otopine te se dobro homogenizira vorteksom čime se dobije osnovno razrjeđenje. Iz homogeniziranog uzorka osnovnog razrjeđenja sterilnom mikropipetom 1 mL uzorka se prenese u epruvetu sa 9 mL sterilne fiziološke otopine. Nastalo razrjeđenje se dobro homogenizira, te se sterilnom mikropipetom uzme 1 mL homogeniziranog razrjeđenja i prenese u epruvetu sa 9 mL sterilne fiziološke otopine. Postupak se ponavlja dok se ne dobije željeno razrjeđenje (Božanić i sur., 2010).

Prilikom naciepljivanja ploča, potrebno je osigurati sterilne uvjete korištenjem Bunsenovog plamenika koji je treba biti upaljen cijelo vrijeme. Mikropipetom se uzme 1 mL uzorka i otpusti u Petrijevu ploču. Pri tom se digne jedan kraj poklopca Petrijeve ploče pod kutem od 45 °C kako bi mikropipeta ušla do sredine dna ploče. Potrebno je pripaziti da mikropipeta ne dira vrhom ni poklopac ni rub ploče. U svaku Petrijevu ploču izliju se hranjive podloge, a zatim se poklopljene Petrijeve ploče promiješaju jednoličnim kružnim pokretima 5–10 sekundi. Petrijeve ploče hlade se na sobnoj temperature dok se podloga potpuno ne skrutne. Zatim se ploče okrenu dnom prema gore kako bi se spriječila kondenzacija pare i stavljaju se na inkubaciju u termostat (Božanić i sur., 2010).

Po završetku inkubacije proveden je postupak brojanja izraslih kolonija. Za brojanje se izaberu ploče na kojima je naraslo između 30 i 300 kolonija.

Izračun broj naraslih kolonija provodi se prema formuli, a rezultat se mora izraziti kao CFU mL⁻¹:

CFU mL⁻¹= broj kolonija / (nacijepljen volumen x recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja)

[7]



Slika 3. Nacijepljivanje Petrijevih ploča (vlastita fotografija)

3.2.11. Senzorska analiza

Senzorska analiza često se koristi u prehrambenoj industriji, prvenstveno u razvoju novih proizvoda, poboljšanju kvalitete postojećih proizvoda te pri ispitivanju kvalitete proizvoda prilikom skladištenja (Božanić i sur., 2010).

Pri senzorskoj analizi mlijeka i mliječnih proizvoda, te njihovih analoga često se koristi metoda bodovanja s ponderiranim bodovima. Kod svih uzoraka ocijenjivalo se 5 svojstava: izgled, boja, okus, miris i konzistencija. Svako svojstvo ocijenjuje se ocjenom od 1 do 5, a nedostatak

takve procjene korigira se faktorom značajnosti (Fv). Množenjem faktora značajnosti i ocjena dobiju se ponderirani bodovi.

Tablica 6. Ocjene senzorskih analitičara

Datum:									
Ime i prezime									
Svojstvo i opis svojstva	Maksimalan broj bodova								
Izgled (homogena površina, vez izdvajanja faza, bez vidljivih grudica, prljavo bijela do sivo – bež boja)	1								
Boja (prljavo bijela do sivo-bež boja)	1								
Konzistencija (homogena, glatka, bez grudica, bez razdvajanja faza)	4								
Miris (blago i ugodno kiselkasti, miris po kokosu, po kiselom)	2								
Okus (blago kiselo, po žitaricama i orašastim plodovima, bez grudica, fine konzistencije u ustima)	12								
Ukupno									
Komentari:									

3.2.12. Prihvatljivost kod potrošača

Kada se proizvod plasira na tržište, od iznimne je važnosti procijeniti njegovu prihvatljivost među potrošačima. U tu svrhu provodi se ocjena prihvatljivosti potrošača, koja uključuje veliku skupinu ispitanika – potencijalnih potrošača, koji nisu posebno educirani, ali pripadaju ciljnoj skupini za koju je proizvod namijenjen. Pri ocjenjivanju korištena je hedonistička skala prema Peryamu, koja pruža devet mogućih odgovora i jednostavna je za primjenu, te pruža velike mogućnosti za statističku interpretaciju rezultata (Tratnik i Božanić, 2012).

Hedonistička skala ima 9 mogućih izražavanja dojmova o ispitivanom proizvodu:

- naročito visoko poželjan (9)
- visoko poželjan (8)
- osrednje poželjan (7)
- neznatno poželjan (6)
- neutralan (5)
- neznatno nepoželjan (4)
- osrednje nepoželjan (3)
- visoko nepoželjan (2)
- naročito visoko nepoželjan (1)

Rezultati svih ispitanika zbrajaju se te se izračunava prosječna vrijednost, mjera disperzije i postotak nepoželjnosti. Dobiveni rezultati su statistički obrađeni.

3.2.13. Statistička obrada podataka

Rezultati su obrađeni u programu Microsoft Excel 2007, a prikazani su kao srednje vrijednosti. Također su provedene analiza varijance (one-way ANOVA) i Duncanov test podataka dobivenih analizom prihvatljivosti kod potrošača.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je optimiranje fermentacije bademovog napitka s krajnjim ciljem dobivanjem analoga mliječnom fermentiranom napitku koji će po konzistenciji odgovarati jogurtu, te biti senzorski prihvatljiv širokoj skupini potrošača. U skladu s tim provedena su preliminarna istraživanja proizvodnje bademovog napitka, formulacije proizvoda i njegove fermentacije. Na temelju preliminarnih istraživanja odabrana je optimalna količina i vrsta dodataka kao što su saharoza, rižin protein, guar guma, škrob, pektin i okara. Nakon odabrane formulacije proizvoda, provedena je fermentacija pomoću starter kultura koje su također odabrane putem preliminarnih istraživanja. Rezultati preliminarnih istraživanja koji su doveli do konačne formulacije proizvoda prikazani su na tablicama 7 i 8.

Sukladno tim rezultatima za daljnje istraživanje su odabrane slijedeće recepture uzoraka koji su fermentirani: pasterizirani bademov napitak bez dodataka fermentiran kulturom VEGE-033 (oznaka K1-33) i bademov pasterizirani napitak bez dodataka fermentiran kulturom VEGE-053 (oznaka K1-53), pasterizirani bademov napitak sa dodatkom saharoze (3 %), guar gume (0,5 %) i rižinog proteina (1 %) fermentiran kulturom VEGE 053 (oznaka E) te pasterizirani bademov napitak sa dodatkom saharoze (3 %), GRIND (smjesa škroba i pektina- 1,5 %) i okare (1 %) fermentiran kulturom VEGE 033 (oznaka F).

Svim navedenim uzrocima određivani su slijedeći parametri kvalitete tijekom 21 dana hladnog skladištenja: fizikalno-kemijska svojstva (tablice 9 i 10/ slike 5 i 6), mikrobiološki parametri (tablica 15), reološka svojstva (tablica 13/ slika 7) i senzorska svojstva (tablica 16/ tablica 17). U okviru prihvatljivosti kod potrošača napravljena je statistička obrada podataka (tablica 18/ tablica 19).

4.1 PRELIMINARNA ISTRAŽIVANJA

Cilj preliminarnih istraživanja bio je odrediti vrijeme trajanja fermentacije bademovog napitka i dobiti funkcionalni proizvod poželjnih senzorskih karakteristika s obzirom na različitu količinu dodanih poboljšivača okusa i teksture, a pri tom dobiveni rezultati su prikazani u tablicama 7 i 8.

Prvi pripremni uzorci odnosili su se na fermentaciju bademovog napitka proizvođača Nutrigold VEGE kulturom 053 i VEGE kulturom 033. Prema tablicama 7 i 8 vidljivo je da fermentacija u prosjeku trajala 6 sati.

Optimalna količina poboljšivača okusa i teksture ispitivana je u preliminarnim istraživanjima uzimajući u obzir pH vrijednost, duljinu trajanja fermentacije i senzorska svojstva fermentiranog bademovog napitka.

Tijekom preliminiranih istraživanja praćen je utjecaj dodatka različitih stabilizatora kao što su inulin, rogač, ksantan guma, guar guma, pektin, škrob, psilijum na tijek fermentacije bademovog napitka te funkcionalnih sastojaka kao što su protein od konoplje, rižin protein i okara koji bi povećali vrijednost funkcionalnog proizvoda. Stabilizatori su se dodavali u količinama od 0,5 do 1,5 %, a aditivi od 0,5 do 3 %. Slijedeći metodu po Dhakala i sur. (2014), u nezaslađeno bademovo mlijeko dodani su saharoza i svi ostali sastojci te je sve dobro homogenizirano. Nakon homogenizacije, smjesu je potrebno pasteurizirati pri 73 °C/15 s uz konstantno magnetsko miješanje i ohladiti na 40 °C. Napitak od badema inokuliran je starter kulturama VEGE-033 i VEGE-053 te su uzorci stavljeni na inkubaciju od 40 °C tijekom 6-8 h.

Tablica 7. Prosječne pH vrijednosti tijekom fermentacije bademovog napitka s različitim dodacima i VEGE kulturama* V033 i V053

	Početak	2h	3h	4h	5h	5,5h	6h	7h
K1-V053	7,15	5,51	4,72	4,53	-	-	-	
K1-V033	7,08	5,31	4,57	-	-	-	-	
PSY-V053 (0,5 %)	6,81	5,33	4,40	-	-	-	-	
PSY-V033 (0,5 %)	7,29	5,63	4,91	4,70	4,66	-	-	
XAN-V053 (1 %)	7,11	5,42	5,07	5,05	5,04	5,02	5,03	
XAN-V033 (1 %)	7,36	5,46	4,75	4,80	4,72	4,80	4,80	
R-V053 (0,5 %)	7,37	7,17	-	6,62	-	5,29	4,89	4,67
R-V033 (0,5 %)	7,34	7,21	-	6,39	-	5,09	4,72	4,64
INU-V053 (0,5 %)	7,70	6,63	-	5,20	-	4,73	4,66	
INU-V033 (0,5 %)	7,68	6,40	-	4,99	4,66	-	-	
PSY-V053 (1 %)	7,28	7,09	-	6,01	-	4,59	-	
PSY-V033 (1 %)	7,25	6,62	5,96	-	4,98	-	4,72	4,68
INU- V033 (1 %)	7,71	6,27	4,91	4,63	-	-	-	-
INU-V053 (1 %)	7,73	6,29	5,04	4,67	-	-	-	-
R-V033 (1 %)	7,18	6,74	5,42	-	4,69	-	-	-
R-V053 (1 %)	7,20	6,71	5,39	-	4,75	4,66	-	-
XAN-V033 (1 %)	7,69	7,46	6,75	-	-	6,10	-	-
XAN-V053 (1 %)	7,81	7,49	7,21	-	-	6,93	-	-
OKA-V033 (1 %)	7,78	5,97	4,73	4,58	-	-	-	-

Nastavak tablice 7. Prosječne pH vrijednosti tijekom fermentacije bademovog napitka s različitim dodacima i VEGE kulturama* V033 i V053

OKA-V053 (1 %)	7,74	6,38	4,86	-	4,68	-	-	-
K-V033	7,77	6,39	4,76	4,78	4,78	-	4,78	4,78
K-V053	7,75	6,83	5,06	4,76	4,75	-	4,76	4,76
PSY-V033 (0,5 %)	7,46	7,20	5,98	-	-	4,79	4,68	-
PSY-V053 (0,5 %)	7,44	7,17	5,39	-	-	4,69	-	-

- **K1-V033**- fermentirani bademov napitak bez dodataka inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **K1-V053**- fermentirani bademov napitak bez dodataka inokuliran starter kulturom VEGE 053
- **PSY-V033 (0,5 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 0,5 % psilijuma i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **PSY-V053 (0,5 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 0,5 % psilijuma i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053
- **XAN-V033 (1 %)** - fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % ksantan gume i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **XAN-V053 (1 %)** - fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % ksantan gume i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053
- **R-V053 (0,5 %)** - fermentirani bademov napitak sa dodatkom 0,5 % rogača i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053
- **INU-V033 (0,5 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 0,5 % inulina i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **INU-V053 (0,5 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 0,5 % inulina i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053
- **PSY-V033 (1 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % psilijuma i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **PSY-V053 (1 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % psilijuma i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053
- **INU-V033 (1 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % inulina i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **INU-V053 (1 %)**-fermentiranibademovnapitaksadodatkom 1 % inulina i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053

- **R-V033 (1 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % rogača i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **R-V053 (1 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % rogača i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053
- **OKA-V033 (1 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % okare i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **OKA-V053 (1 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % okare i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053

Tablica 8. Prosječne pH vrijednosti tijekom fermentacije bademovog napitka s različitim dodacima* i VEGE kulturama - V033 i V053

	Početak	2h	4h	5h	5,5h	6h	6,5h	7h	7,5h	8h	8,5h
XAN (1%)+ INU (0,5%) - V033	7,80	7,59	7,43	-	-	5,75	-	5,24	4,94	-	-
XAN- INU (1%) - V033	7,86	7,63	6,89	-	-	5,61	-	4,95	4,68	-	-
GRIND - V033 (1%)	7,52	6,38	4,95	4,60	-	-	-	-	-	-	-
GRIND - V053 (1%)	7,37	6,59	5,13	4,74	4,66	-	-	-	-	-	-
INU (1%) +K (0,5%) - V053	6,77	6,15	5,28	4,84	-	4,58	-	-	-	-	-
INU-K (1%) - V033	6,86	6,67	5,17	4,61	-	-	-	-	-	-	-
GUAR-V033 (0,5%)	7,64	7,24	6,62	-	-	6,76	-	-	5,06	-	4,89
GUAR-V053 (0,5%)	7,74	5,69	5,82	-	-	-	-	-	-	-	-
GRIND-V033 (1,5%)	7,44	6,24	4,87	4,60	-	-	-	-	-	-	-
GRIND-V053 (1,5%)	7,44	6,55	5,18	-	4,68	-	-	-	-	-	-
INU-R-V033 (1%)	6,30	6,28	5,99	-	-	5,44	-	-	5,24	-	5,13
INU-R-V053 (1%)	6,30	6,30	6,07	-	-	5,49	-	-	5,22	-	5,05

Nastavak tablice 8. Prosječne pH vrijednosti tijekom fermentacije bademovog napitka s različitim dodacima i VEGE kulturama* V033 i V053

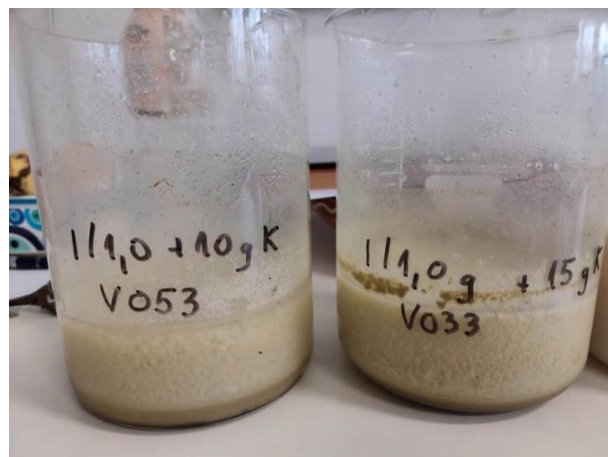
OKA-R-V033 (1%)	6,28	6,28	5,74	-	-	5,28	4,91	-	5,28	-	4,91
OKA-K-V053 (1%)	6,76	6,28	4,69	-	-	-	-	-	-	-	-

- **XAN (1 %) + INU (0,5 %)-V033** – fermentirani bademov napitak s dodatkom 1 % ksantan gume, 0,5 % inulina i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **XAN-INU (1 %)- V033** – fermentirani bademov napitak s dodatkom 1 % ksantan gume, 1 % inulina i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **GRIND-V033 (1 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % GRIND-a (smjesa škroba i pektina) i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **GRIND-V053 (1 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 1 % GRIND-a (smjesa škroba i pektina) i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053
- **INU (1 %) + K (0,5 %)-V033** – fermentirani bademov napitak s dodatkom 1 % inulina, 0,5 % proteina od konoplje i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **INU-K (1 %)-V033** – fermentirani bademov napitak s dodatkom 1 % inulina, 1 % proteina od konoplje i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **GUAR-V033 (0,5 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 0,5 % guar gume i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **GUAR-V053 (0,5 %)** – fermentirani bademov napitak sa dodatkom 0,5 % guar gume i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053
- **INU-R-V033 (1 %)** – fermentirani bademov napitak s dodatkom 1 % inulina, 1 % rogača i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **INU-R-V053 (1 %)** – fermentirani bademov napitak s dodatkom 1 % inulina, 1 % rogača i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053
- **OKA-R-V033 (1 %)** – fermentirani bademov napitak s dodatkom 1 % okare, 1 % rogača i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 033
- **OKA-K-V053 (1 %)** – fermentirani bademov napitak s dodatkom 1 % okare, 1 % proteina od konoplje i 3 % saharoze inokuliran starter kulturom VEGE 053

Nakon prekida fermentacije i naglog hlađenja, uočeno je odvajanje faza kod pojedinih uzoraka, što je najviše bilo vidljivo u uzorku gdje je dodan inulin i protein od konoplje (INU-K-V033), a najbolja tekstura bila je kod uzorka gdje je dodan inulin i ksantan guma. Senzorskim ocjenjivanjem fermentiranih napitaka odlučeno je koja je finalna receptura krajnjeg proizvoda. Uzorak oznake PSY-V053 bio je rijedak i sluzave teksture što se može pripisati maloj količini

vlage zbog koje se nije mogao uklopiti u strukturu fermentiranog napitka. Na slici 4 jasno je vidljivo da dodatkom proteina konoplje dolazi do promjene boje iz bijele u zelenu, što je senzorski neprihvatljivo za potrošača kod ovakvog tipa proizvoda. S obzirom da je većina uzoraka bila rijetka po konzistenciji, odlučeno je da će se kao stabilizatori dodati guar guma, škrob i pektin koji povećavaju viskoznost fermentiranog napitka te saharoza kao izvor ugljika za mikroorganizme.

Finalna receptura fermentiranih napitaka na bazi badema pokazuje da dodatak stabilizatora značajno umanjuje vrijeme fermentacije. Uzorak E sadržava 0,5 % guar gume, 3 % saharoze i 1 % rižinog proteina, dok uzorak F sadržava 1,5 % smjese škroba i pektina, 3 % saharoze i 1 % okare. Kontrolni uzorci K1-33 i K1-53 fermentirani su bez ikakvih dodataka. Preliminarnim istraživanjem utvrđeno je da će se u uzorku E koristiti vege kultura V053, a u uzorku F vege kultura V033, dok će se u kontrolnim uzorcima koristiti obje kulture.



Slika 4. Odvajanje faze i promjena boje u uzorcima nakon naglog hlađenja (vlastita fotografija)

4.2. ODREĐIVANJE KISELOSTI

Postotak konverzije laktoze u mliječnu kiselinu ubraja se u najvažnije tehnološke parametre u proizvodnji fermentiranih mliječnih napitaka. U skladu s tim, i u proizvodnji njihovih analoga ovaj podatak je važan budući da utječe na vrijeme inkubacije i čuvanja proizvoda. Kiselost fermentiranih napitaka određivana je mjerenjem pH vrijednosti tijekom 21 dana skladištenja

uzoraka u hladnjaku na 4 °C, kao što je prikazano u tablici 9. Nakon 7. dana fermentacije primjećuje se povećanje pH vrijednosti u svim uzorcima, osim kod uzorka K1-33. Tijekom 14. dana skladištenja može se uočiti lagani pad pH vrijednosti što se može pripisati naknadnom zakiseljavanju djelovanjem vege kultura V033 i V053 tijekom skladištenja uzoraka. Naknadno zakiseljavanje smatra se nepoželjnim procesom u fermentiranim mliječnim napicima jer skraćuje rok trajanja i može uzrokovati neke nedostatke uključujući jaku kiselost i sinerezu (Deshwal i sur., 2021). pH vrijednosti kontrolnih uzoraka tijekom 21 dana skladištenja su znatno varirale, od 4,96 do 5,11, što se može pripisati tome da prilikom fermentacije kontrolnih uzoraka nije postignut pH od 4,6, vrlo vjerojatno radi nedostatnog izvora ugljika koji je mikroorganizmima potreban za daljnji rast. pH-vrijednosti uzoraka E i F tijekom 21 dana skladištenja bile su gotovo jednake, srednja vrijednost bila je 4,55. Razlike između 7. i 14.dana pH vrijednosti bile su gotove neznčajne. Uzorak E zadržao je nisko područje pH, u rasponu 4,3-4,5, što je u skladu s provedenim istraživanjem Bernat i sur. (2015) u kojem su pH vrijednosti iznosile $4,6 \pm 0,05$ za probiotički bademov napitak. Kod uzorka F vidljiv je blagi porast pH vrijednosti, a daljnjim čuvanjem uzorka pH ostaje u rasponu 4,5 do 4,6. Do sličnih rezultata došli su i Mudgil i sur. (2016) gdje je jogurtu bila dodana parcijalno hidrolizirana guar guma.

Tablica 9. pH vrijednosti mjerene tijekom 21 dana čuvanja uzoraka

	pH			
	1.dan	7.dan	14.dan	21.dan
K1-V033	5,07 ± 0,00	4,99 ± 0,00	5,08 ± 0,00	5,11 ± 0,00
K1-V053	4,96 ± 0,00	5,03 ± 0,00	5,02 ± 0,00	5,07 ± 0,00
E	4,38 ± 0,08	4,58 ± 0,04	4,55 ± 0,02	4,53 ± 0,01
F	4,53 ± 0,00	4,55 ± 0,00	4,56 ± 0,01	4,53 ± 0,00

4.3. ODREĐIVANJE UDJELA UGLJIKOHIDRATA

Udio ukupnih ugljikohidrata određivao se 1. i 21. dan hladnog skladištenja u svim uzorcima, a prikazan je u tablici 10. Prema rezultatima prikazanima u tablici 10 vidljivo je da udio ugljikohidrata odnosno ukupni invert iznosio manje od 2 % na kraju fermentacije u bademovim napitcima bez obzira je li riječ o kontrolnim uzorcima (K1-33, K1-53) ili o uzorcima s dodatcima (E, F). Takve vrijednosti vrlo vjerojatno su rezultat korištenja bademovog nezaslađenog napitka kao početne sirovine, a koji je prema deklaraciji sadržavao 0,1 g šećera na 100 mL, ali i aktivnosti bakterija mliječne kiseline koje koriste šećer kao izvor ugljika za daljnji rast.

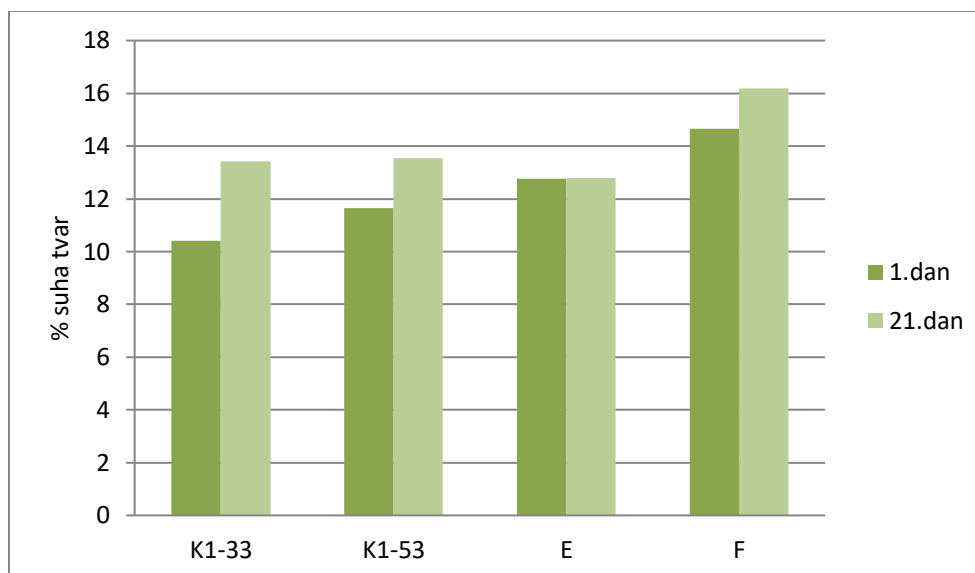
Tablica 10. Udjeli ukupnog invertnog šećera nakon fermentacije bademovog napitka

Oznaka uzorka	Masa (g)	utrošak mL 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	% ukupni invertni šećer
E (1)	10,0360	24,5	< 2
	10,0954	24,4	< 2
E (21)	10,0303	24,5	< 2
	10,0162	24,35	< 2
F (1)	10,0247	24,3	< 2
	10,0466	24,3	< 2
F (21)	10,0070	24,5	< 2
	10,0073	24,6	< 2
K1-33 (1)	10,0512	25,0	< 2
K1-33 (21)	10,0181	25,0	< 2
K1-53 (1)	10,1790	25,0	< 2
K1-53 (21)	10,0510	25,0	< 2

Zhao i sur. (2021) analizirali su udio ugljikohidrata i njihovih derivata u fermentiranim napicima na bazi badema sa različitim udjelima dodatka bademovog proteina, šećera i vode. Uzorak u kojem je dodano 3 % šećera sadržavao je nakon fermentacije 2,97 % ukupnih ugljikohidrata. Sličan udio ukupnih ugljikohidrata utvrdili su Topcoglu i Yilmaz-Ersan (2020) gdje je udio ukupnih ugljikohidrata iznosio 2,53 % u istraživanju provedenom na probiotičkom jogurtu obogaćenog bademovim napitkom. Usporedno s tim rezultatima, mogu se usporediti i rezultati ovog diplomskog rada uzimajući u obzir bademov napitak skladišten u hladnjaku tijekom 21 dana. Fermentirani bademovi napici čuvani na temperaturi hladnjaka, sadržavali su udio ukupnog inverta manji od 2 % za razliku od rezultata koji su dobili Zhao i sur. (2021). To se može pripisati odabiru sirovine, načinu i trajanju fermentacije, vrsti mikrobnih kultura, različitim stabilizatorima i različitim formulacijama proizvoda.

4.4. ODREĐIVANJE UDJELA SUHE TVARI

Udjel suhe tvari određivao se 1. i 21. dan hladnog skladištenja uzorka, a dobiveni rezultati su prikazani na slici 5. Suha tvar je količina tvari zaostala nakon uklanjanja vode iz uzorka, a određivala se direktnim sušenjem pri konstantnoj masi na konstantnoj temperaturi.



Slika 5. Prosječni udjeli suhe tvari uzoraka pri 1. i 21. danu hladnog skladištenja (K1-33 - bez dodataka, K1-53 - bez dodataka, E - 1 % rižin protein, 3% saharoza i 0,5% guar guma, i F- 1 % okara, 1 % GRIND (smjesa škroba i pektina) i 3 % saharoze)

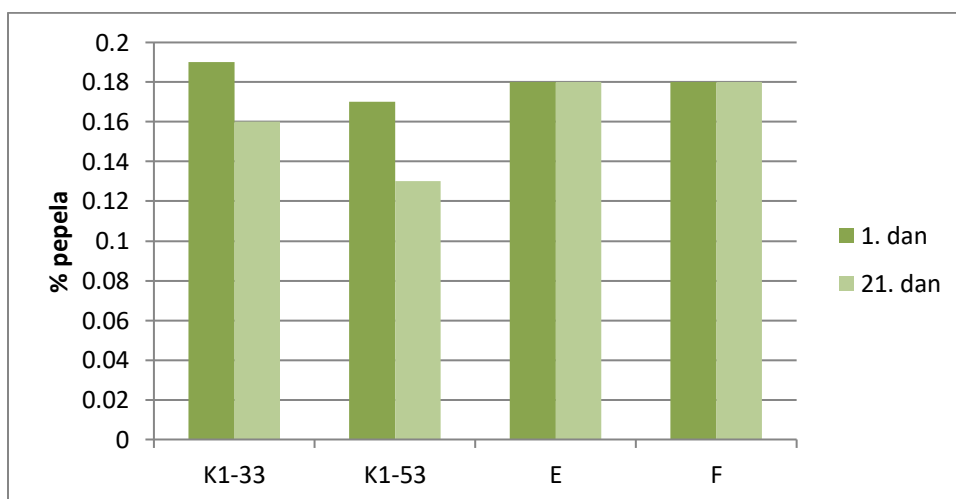
U svim uzorcima vidljiv je porast suhe tvari tijekom 21 dana skladištenja, osim u uzorku E. Najveći udio suhe tvari imao je uzorak F, s dodanom saharozom, okarom i GRIND-om (smjesa škroba i pektina) koji je iznosio 16,19 %, dok su ostali uzorci imali slične udjele suhe tvari od 12-13 %.

Prema istraživanju Zhao i sur. (2021), primijećene su značajne razlike u udjelu ukupne suhe tvari s obzirom na različite formulacije fermentiranih bademovih napitaka u iznosu od 10-15 %, što se poklapa sa rezultatima dobivenim u ovom radu. Do istog zaključka prethodno su došli i Rinaldoni i sur. (2012) koji su uočili varijacije u ukupnoj suhoj tvari različitih mliječnih fermentiranih napitaka uglavnom zbog standardizacije sirovog mlijeka.

4.5. ODREĐIVANJE UDJELA MINERALNIH TVARI (PEPELA)

Pepeo se odnosi na anorganski (mineralni ostatak) nastao spaljivanjem uzorka te se određivao tijekom 1. i 21. dana skladištenja, a dobiveni rezultati su prikazani na slici 6.

Prvog dana skladištenja, najveći udio mineralnih tvari imao je uzorak K1-33 (0,19 %) bez ikakvih dodataka, dok je uzorak K1-53 imao najmanji udio mineralnih tvari koji iznosi 0,17 %. Prema rezultatima prikazanim na slici 9, može se primjetiti da kontrolni uzorci imaju blagi pad udjela mineralnih tvari, dok uzorci E i F imaju jednaki iznos udjela mineralnih tvari tijekom skladištenja. Prema istraživanju Topcuoglu i Yilmaz-Ersan (2020) udio mineralnih tvari iznosio je 0,39 % što je viša vrijednost u odnosu na rezultate dobivene u ovom radu, međutim treba uzeti u obzir da je probiotički jogurt proizveden od 75 % bademovog napitka i 25 % rekonstituiranog mlijeka. Također, Shi i sur. (2020) istraživali su udio mineralnih tvari u bademovom napitku koji je iznosio 0,22 % što je slično rezultatima dobivenim u ovom radu.



Slika 6. Prosječni udjeli mineralnih tvari 1. i 21. dana hladnog skladištenja (K1-33 - bez dodataka, K1-53 - bez dodataka, E - 1 % rižin protein, 3% saharoza i 0,5% guar guma, i F- 1 % okara, 1% GRIND (smjesa škroba i pektina) i 3 % saharoze)

4.6. ODREĐIVANJE SINEREZE I KAPACITETA ZADRŽAVANJA VODE

Sinereza i kapacitet zadržavanja vode su se određivali tijekom 21 dana hladnog skladištenja uzoraka, a rezultati su prikazani u tablicama 11 i 12.

Kako se mliječna kiselina proizvodi mliječno-kiselom fermentacijom, smanjenjem pH mijenja se naboj proteina što dovodi do koagulacije proteina. Ako su koagulum stvoreni procesom koji ima nisku strukturalnu stabilnost, to dovodi do pojačane sinereze, a to je proces gdje se tekućina (sirutka) odvoji i ekstrahira iz gela (Garcia-Perez i sur., 2005). Sa stajališta potrošača, pojava sinereze i promjena pH između koagulum narušava kvalitetu proizvoda. Stoga, sinereza je jedan od značajnih pokazatelja kvalitete fermentiranih mliječnih proizvoda i njihovih analoga koje treba uzeti u obzir prilikom same proizvodnje. Stoga se stabilizatori kao škrob, pektin i guar guma koriste kako bi stabilizirali strukturu i viskoznost jogurta. Tijekom skladištenja uzoraka, možemo primjetiti značajan porast sinereze kod svih uzoraka. Kontrolni uzorci K1-33 i K1-53 pokazali su značajne razine sinereze nakon fermentacije i tijekom skladištenja uzoraka. Uzorak E nije pokazao sinerezu tijekom 1. dana nakon fermentacije, međutim tijekom daljnjeg skladištenja pokazao je značajnu sinerezu u odnosu na uzorak F, od 0 do 84,85 %. Slične rezultate dobili su Zhao i sur. (2021) gdje je dodatak rižinog proteina u fermentiranom napitku od soje uzrokovao značajnu sinerezu. Međutim, uzorak F je imao manju sinerezu za razliku od uzorka E, gdje se kao sredstvo za zgušnjivanje koristila smjesa škroba i pektina, što je u skladu s rezultatima dobivenima u istraživanju koje su proveli Grasso i sur. (2020) na kokosovom fermentiranom napitku gdje su se također škrob i pektin koristili kao sredstva za zgušnjivanje i želiranje.

Tablica 11. Sinereza tijekom 21 dana čuvanja uzoraka

<i>Sinereza (%)</i>	1.dan	7.dan	14.dan	21.dan
K1-V033 (1)	82,02	90,96	97,41	98,47
K1-VO33(2)	82,57	99,36	95,91	93,71
K1-V053 (1)	84,36	84,12	97,86	98,5

K1-V053 (2)	89,51	98,15	82,88	95,81
E (1)	0	84,85	81,1	85,5
E (2)	0	89,4	83,56	85,48
F (1)	58,97	56,12	63,02	63,44
F (2)	58,82	55,12	56,56	60,13

Za razliku od sinereze, kapacitet zadržavanja vode smanjivao se tijekom skladištenja. Kapacitet zadržavanja vode (WHC) kretao se između 1,36 % (K1-33) i 100 % (E). Uzorak E je na početku imao najveći WHC (100 %), međutim tijekom vremena skladištenja značajno mu se smanjio kapacitet zadržavanja vode. Kontrolni uzorci imali su malu sposobnost vezanja vode što je vrlo vjerojatno posljedica nedostatka stabilizatora odnosno sastojaka koji bi na sebe vezali vodu i pridonosili stabilnoj konzistenciji. Garcia i Perez (2005) zaključili su da jogurt koji ima najveći udio dodanih vlakana, ima najveći kapacitet vezanja vode. Slično prethodnim istraživanjima, uzorak F (45,55 %), gdje je dodana okara koja je bogat izvor prehrambenih vlakana, ima najveći kapacitet vezanja vode od svih uzoraka.

Tablica 12. Kapacitet zadržavanja vode (WHC) tijekom 21 dana čuvanja uzoraka

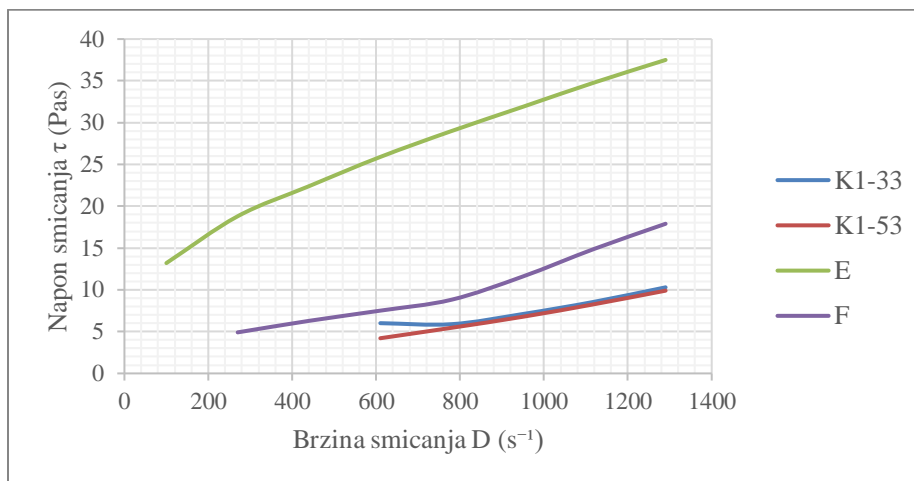
WHC (%)	1.dan	7.dan	14.dan	21.dan
K1-V033 (1)	17,23	8,04	1,50	1,73
K1-V033(2)	14,72	0,54	3,03	6,19
K1-V053 (1)	15,00	12,17	1,20	1,36
K1-V053 (2)	10,24	1,17	12,86	3,46
E (1)	100	9,37	15,60	13,67
E (2)	100	8,62	15,79	14,52
F (1)	42,77	43,33	36,88	37,35

F (2)	42,73	45,55	43,09	39,87
--------------	-------	-------	-------	-------

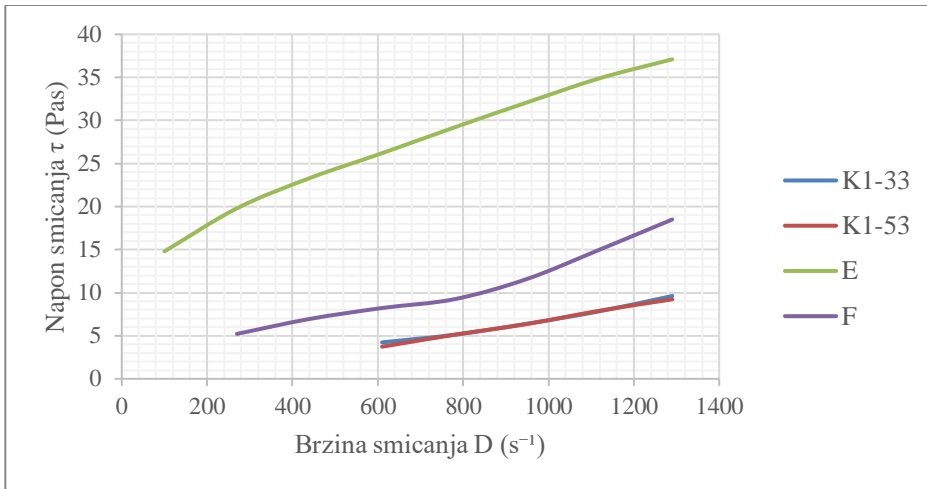
4.7. ODREĐIVANJE REOLOŠKIH SVOJSTAVA

Reološki parametri su izračunati iz izmjerenih podataka kako bi opisali odnos viskoznosti μ (Pas) prema brzini smicanja D (s^{-1}). Viskoznost je fizikalna veličina koja opisuje otpor tekućine prema smicanju. Utjecajem međusobnih sila kojima se međusobno privlače molekule tekućine, smanjuje se otpor smicanja susjednih slojeva tekućina, a time je i viskoznost manja. Slika 7 a-d prikazuje kako se prividna viskoznost svih uzoraka smanjuje sa povećanjem brzine smicanja.

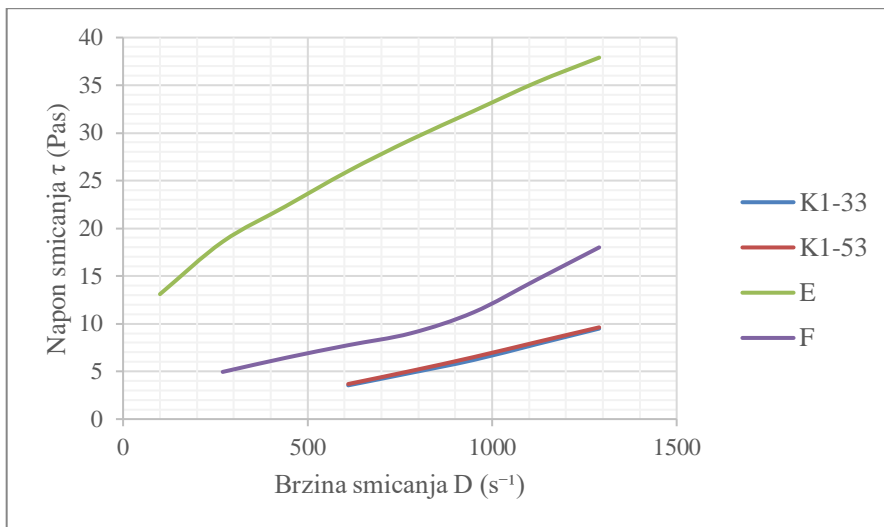
a)



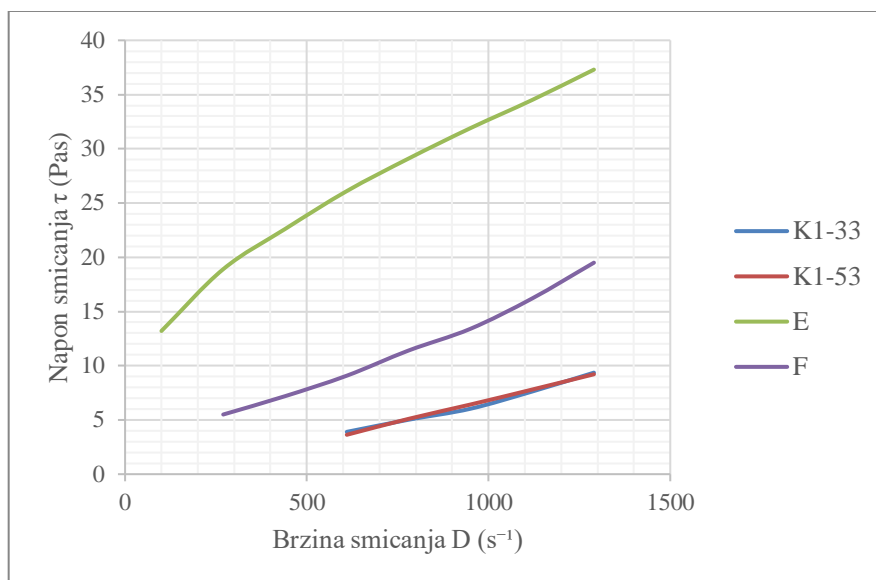
b)



c)



d)



Slika 7. Promjena viskoznosti μ (Pas) uzoraka sa i bez dodataka poboljšivača okusa i teksture (0,5 % guar gume, 1 % rižinog proteina, 3 % saharoze, 1,5 % smjese škroba i pektina (GRIND), 1 % okare) obzirom na brzinu smicanja D (s⁻¹) nakon 1 (a), 7 (b), 14 (c) i 21 (d) dana čuvanja

Viskoznost jogurta je važan čimbenik koji opisuje teksturu jogurta. Najveću viskoznost imao je uzorak E, s dodatkom 0,5 % guar gume kao zgušnjivača, zatim uzorak F, s dodanom 1 % okarom, a kontrolni uzorci su imali najmanju viskoznost od svih ispitivanih uzoraka. Zbog nedostatka stabilizatora, najmanju viskoznost imali su kontrolni uzorci gdje je se jasno vidjelo odvajanje faza zbog male sposobnosti vezanja vode. Dodatak 1 % okare nije značajno poboljšao teksturu i viskoznost finalnog proizvoda što se može pripisati tome da je okara bogat izvor dijetalnih vlakana čijim dodavanjem u fermentirani napitak dolazi do povećanja pseudoplastičnosti zbog većeg sadržaja topljivih tvari. Slične su rezultate dobili Ibrahim i sur. (2021) gdje dodatak okare od 1 % u smjesu za sladoled nije značajno utjecao na povećanje viskoznosti. Na početku, prelaskom brzine smicanja sa 100 do 270 s⁻¹, došlo do je naglog pada prividne viskoznosti kod uzorka E, a daljnjim povećanje brzine smicanja uslijedio je blagi pad vrijednosti. Kod kontrolnih uzoraka i uzorka F možemo uočiti blagi pad prividne viskoznosti, od brzine smicanja 270 do 1290 s⁻¹. Viskoznost svih uzoraka nije se značajno mijenjala tijekom svih dana čuvanja. Sveukupno

gledajući, uzorak E imao je najveću viskoznost tijekom cijelog vremena skladištenja, zatim uzorak F, a najmanju viskoznost imali su kontrolni uzorci.

Prividna viskoznost pri brzini smicanja 1290 s^{-1} te koeficijent konzistencije i indeksi tečenja ispitivanih uzoraka prikazana je u tablici 13.

Tablica 13. Tablica reoloških parametara tijekom 1. dana čuvanja uzoraka

Uzorak	Prividna viskoznost/ mPas	Koeficijent konzistencije/ mPas	Indeks tečenja, n	Koeficijent regresije, R^2
K1-V033	8	4,591	0,054	0,904
K1-V053	8	3,501	0,092	0,995
E	29	13,677	0,060	0,930
F	14	3,948	0,094	0,996

Svi uzorci pokazali su svojstvo pseudoplastičnosti s obzirom da su vrijednosti indeksa tečenja svih uzoraka bila <1 . Eksperimentalni podaci za koeficijent konzistencije i indeks tečenja odgovaraju Herschel- Burkleyjevom modelu, gdje se vrijednosti koeficijenta regresije R^2 nalaze u rasponu od 0,9 do 1,0. Svi uzorci jasno pokazuju tiksotropno ponašanje. Slični rezultati su dobiveni i kod proizvodnje fermentiranog napitka od soje (Mishra i Mishra, 2017). Dodatak tvari za

želiranje i hidrokoloida, kao što su guar guma, škrob i pektin značajno utječu na reološka svojstva fermentiranih biljnih napitaka. Kombinacija ovih stabilizatora često se koristi u prehrambenoj industriji kako bi dobili željenu teksturu, bilo direktno ili putem interakcija polisaharid-protein (Nazir i sur, 2017). Dodatak guar gume značajno uzrokuje niži indeks tečenja i viši koeficijent konzistencije.

4.8. ODREĐIVANJE BOJE

Određivanje boje jedna je od važnijih analiza u proizvodnji prehrambenih proizvoda jer vizualno potiče prihvatljivost, sigurnost i željene senzorske karakteristike proizvoda, a dobiveni rezultati parametara boje prikazani su u tablici 14.

Tablica 14. Vrijednosti L*a*b* za ispitivane uzorke

Uzorak	L*	a*	b*	ΔE^*
1. dan čuvanja				
K1-33	42,97	1,36	6,11	-
K1-53	42,02	0,79	3,99	-
E1	55,91	1,06	6,51	14,12
F1	52,96	0,58	4,78	10,11
21. dan čuvanja				
K1-33	40,86	1,28	6,66	-
K1-53	42,42	0,73	2,82	-
E21	58,81	1,19	7,23	16,98
F21	56,63	0,42	4,75	15,91

Parametar L označava svjetlinu u rasponu od 0-100 gdje je 0 crna boja, a 100 je bijela boja. U istraživanju koji su proveli Bernat i sur. (2015) raspon L vrijednost za fermentirane bademove napitke iznosio je od 90,48 do 90,51. U ovom diplomskom radu raspon L vrijednosti iznosio je od 42,97 do 58,81 što se može prepisati različitim formulacijama proizvoda (različiti udjel proteina, masti, aditiva) i/ili različitim sastavu bademovog napitka kao početne sirovine.

Parametar a^* ima raspon vrijednosti od -100 do +100. Negativne vrijednosti parametra a označavaju crvenu boju, dok pozitivne vrijednosti označavaju zelenu boju. Raspon vrijednosti parametara a iznosi 0,42 do 1,36 što ukazuje na pojačani intenzitet zelene boje.

Parametar b^* ima isti raspon kao i parametar a^* , međutim kod njega negativne vrijednosti označavaju plavu boju, a pozitivne vrijednosti žutu boju. Raspon vrijednosti parametra b^* u uzorcima iznosio je od 2,82 do 7,23 što znači da uzorke karakterizira žuta boja.

U istraživanju koji su proveli Aydar i sur. (2020) na fermentiranom bademovom napitku obogaćenom jeruzalemskom artičokom također je određivan indeks boje. Vrijednost L parametra iznosila je 48,75 što je približna vrijednost (58,81) analiziranim uzorcima u ovom istraživanju.

Raspon parametara a^* kretao se od 0,34 do 0,71 što ukazuje na povećani intenzitet zelene boje. U ovom istraživanju raspon vrijednosti parametra a^* iznosio je od 0,42 do 1,36 što također ukazuje na pojačani intenzitet zelene boje u analiziranim uzorcima.

Vrijednosti parametara b^* u ovom istraživanju kretale su se od 2,82 do 7,23 dok su u istraživanju koji su proveli Aydar i sur. (2020) iznosile od 5,64 do 6,13 što znači da uzorke u oba rada karakterizira žuta boja.

4.9. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA

Dokazivanje određenog broja mikroorganizama tijekom skladištenja jedan je od značajnih kvalitativnih parametara u proizvodnji fermentiranih biljnih napitaka. Broj mikroorganizama određivao se brojanjem naraslih kolonija fermentiranog bademovog napitka nacijepjenog na različite hranjive podloge, a određivala se prisutnost za kvasce i plijesni, ukupan broj bakterija, bakterija mliječne kiseline i koliformne bakterije. Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 15.

Tablica 15. Rezultati mikrobiološke analize fermentiranih bademovih napitaka tijekom 21 dana hladnog skladištenja

Dan	Mikroorganizam	K1-33	K1-53	E	F
Log CFUmL⁻¹					
1.	Kvasci i plijesni	3,66	2,74	4,09	2,34
	Enterobakterije	0,69	0,6	4,35	1,45
	Bakterije mliječne kiseline	2,42	0,48	7,87	2,32
	Ukupan broj bakterija	1,79	1,59	4,63	3,16
7.	Kvasci i plijesni	0	0	1,49	2,89
	Enterobakterije	0,69	1,93	3,27	2,88
	Bakterije mliječne kiseline	1,81	5,35	5,56	2,56

	Ukupan broj bakterija	2,81	3,8	4,64	4,28
14.	Kvasci i plijesni	1,97	0	0	0
	Enterobakterije	1,23	1	2,4	2,82
	Bakterije mliječne kiseline	1,89	5,96	4,41	3,44
	Ukupan broj bakterija	4,97	4,97	4	3,9
21.	Kvasci i plijesni	1,18	0	0	0
	Enterobakterije	0	1,36	1,64	2,28
	Bakterije mliječne kiseline	0,69	5,56	5,71	2,44
	Ukupan broj bakterija	4,31	5,7	5,47	3,48

Ukupan broj bakterija kretao se od 1,79 do 5,7 log CFU mL⁻¹ (tablica 15) u svim ispitivanim uzorcima.

Kvasci mogu biti uzročnici kvarenja u jogurtu. Njihova sposobnost rasta pri niskim temperaturama i visokoj koncentraciji šećera (50-60 %) omogućuje razmnožavanje kvasaca u fermentiranim mliječnim proizvodima, a poznata je činjenica da proizvode velike količine enzima i vitamina B skupine. Plijesni razgrađuju ugljikohidrate, masti i neke proteine, a preferiraju kiselu i vlažnu sredinu (Božanić i sur., 2010).

Određene vrijednosti za broj kvasaca i plijesni u fermentiranim bademovim napicima kretao se od 0 do 3,66 log vrijednosti. Kod fermentiranih bademovih napitaka primijećen je trend smanjenja broja kvasaca i plijesni tijekom skladištenja.

Broj koliformnih bakterija kretala se od 0,69 do 4,35 log CFU mL⁻¹. Povećani broj enterobakterija prepisuje se minimalnoj temperaturi pasterizacije, stoga je potrebno pasterizirati pri strožem režimu pasterizacije.

Tijekom 21 dana skladištenja uzoraka, primijećeno je smanjenje preživljavanja bakterija mliječne kiseline kod gotovo svih uzoraka što može

biti posljedica nedostatka šećera koji je glavni izvor ugljika za daljnji rast mikroorganizama.

Uspoređujući 1. i 21. dan hladnog skladištenja uzoraka, preživljavanje bakterija mliječne kiseline iznosi 70–80 %. Najbolje preživljavanje bakterija mliječne kiseline ima uzorak F s dodatkom 1 % okare, 3 % saharoze i 1,5 % smjese škroba i pektina što se može prepisati okari koja je bogat izvor prehrambenih vlakana odnosno prebiotika koji služe kao hrana mikroorganizmima dok uzorak K1–33, bez dodataka, ima najmanje preživljavanje bakterija mliječne kiseline.

4.10. SENZORSKA ANALIZA

Senzorsku analizu provelo je 5 panelista koji su ocijenjivali izgled, boju, konzistenciju, miris i okus uzoraka fermentiranih bademovih napitaka bez dodatka, te fermentiranih bademovih napitaka sa dodatkom stabilizatora i aditiva. Rezultati senzorskog ocjenjivanja uzoraka fermentiranih napitaka za 1. i 21. dan hladnog skladištenja prikazani su u tablicama 16 i 17.

Tablica 16. Senzorske ocjene kvalitete uzoraka 1. dana hladnog skladištenja (K1–33 - bez dodataka, K1–53 - bez dodataka, E - 1 % rižin protein, 3 % saharoza i 0,5 % guar guma, i F- 1 % okara, 1 % GRIND (smjesa škroba i pektine) i 3 % saharoze)

Uzorak	K1–33	K1–53	E	F
IZGLED (max 1)	0,8	0,7	0,9	1,0
BOJA (max 1)	0,9	0,9	0,9	0,9
KONZISTENCIJA (max 4)	3,2	2,5	3,2	3,7
MIRIS (max 2)	1,5	1,5	1,7	1,6
OKUS (max 12)	5,0	5,1	8,7	10,2

UKUPNO (max 20)	11,4	10,7	15,4	17,4
------------------------	------	------	------	------

Iz rezultata (tablica 16) je vidljivo da su analitičari najvišu ocjenu dali fermentiranim bademovim napicima koji su sadržavali poboljšivače okusa i teksture, s obzirom na boju i izgled. Analitičari su dali slične ocjene mirisu svim uzorcima, dok je fermentirani bademov napitak bez ikakvih dodataka dobio najnižu ocjenu. Najčešći komentari su bili da su fermentirani bademovi napici dobre konzistencije, ako se radi o napitku, ali ako se radi o desertu, treba još poraditi na teksturi finalnog proizvoda.

Tablica 17. Senzorske ocjene kvalitete uzoraka 21. dana hladnog skladištenja (K1-33 - bez dodataka, K1-53 - bez dodataka, E - 1 % rižin protein, 3% saharoza i 0,5% guar guma, i F- 1 % okara, 1% GRIND (smjesa škroba i pektine) i 3 % saharoze)

Uzorak	K1-33	K1-53	E	F
IZGLED (max 1)	1,0	1,0	1,0	0,9
BOJA (max 1)	1,0	1,0	0,9	0,9
KONZISTENCIJA (max 4)	2,8	2,6	4,0	4,0
MIRIS (max 2)	1,8	1,8	1,9	2,0

OKUS (max 12)	6,0	6,0	11,6	11,6
UKUPNO (max 20)	12,6	12,4	19,4	19,4

Tijekom hladnog skladištenja, ocjene konzistencije proizvoda (tablica 17) uglavnom su bile maksimalne za uzorke koji su sadržavali dodatke, dok su uzorci bez dodataka pokazivali prisutnost grudica, zbog čega su dobili nižu ocjenu konzistencije u usporedbi s uzorcima s dodacima. Panelisti su zaključili da uzorci s dodatkom škroba i pektina, rižinog proteina, guar gume te saharoze, okare i smjese škroba i pektina imaju najbolju konzistenciju, pri čemu se daje blaga prednost uzorku koji sadrži saharozu, okaru i smjesu škroba i pektina.

Senzorska analiza znanstvena je disciplina koja se koristi za procjenu, analizu i proučavanje karakteristika prehrambenih proizvoda koje promatraju i interpretiraju panelisti koristeći svoja osjetila vida, mirisa, okusa, njuha i sluha. Interpretacija panelista kvalitativno se procjenjuje. Općenito, podaci prikupljeni na ljudskoj percepciji pokazuju veliku varijabilnost među sudionicima panela. Kako bi senzorska analiza bila što objektivnija, potrebno je uzeti u obzir mnoge čimbenike kako bi se riješile varijacije međupanelistima kako bi se povećala točnost analize: adekvatan izbor osoblja, obuka, priprema panela, mjesto održavanja senzorske analize (soba za kušanje s individualnim ispitnim kabinama), priprema i posluživanje uzoraka, označavanje uzoraka, itd. (Delarue i sur., 2015). S druge strane, senzorska analiza koristan je alat za razvoj novih proizvoda. Osim kemijsko-fizikalnih i mikrobioloških analiza, prehrambeni proizvodi ističu se svojim organoleptičkim svojstvima (okus, miris, tekstura i dr.) koja je potrebno uzeti u obzir prilikom razvoja novog proizvoda jer određuju hoće li potrošač kupiti neki proizvod ili ne.

Jedan od najbitnijih parametara za potrošače je okus, s obzirom da je presudan faktor hoće li potrošači kupiti neki proizvod ili ne. S obzirom da su rezultati mikrobiološke analize pokazivali granične vrijednosti enterobakterija tijekom 1. dana hladnog skladištenja, analitičari su samo ocijenjivali svojstvo okusa samo 1. i 21. dan hladnog skladištenja. Najveću ocjenu okusa 1. i 21. dana hladnog skladištenja imao je uzorak fermentiranog bademovog napitka sa

dodatkom 3 % saharoze, 1 % okare i 1,5 % smjese škroba i pektina. Najlošiju ocjenu imali su fermentirani bademovi napici bez dodataka. Panelisti su komentirali da je za niske ocjene fermentiranih bademovih napitaka bez dodataka bio zaslužan prazan okus napitaka.

Uzimajući u obzir sve prethodne rezultate prikazane tablicama 16 i 17 najvišu ukupnu ocjenu dobili su uzorci s dodatkom 3 % saharoze, 1 % okare i 1,5 % smjese škroba i pektina (tablica 16). Tijekom 21. dana hladnog skladištenja panelisti su svrstavali uzorke s dodatkom 3 % saharoze, 1 % okare i 1,5 % smjese škroba i pektina na prvo mjesto, dok su fermentirane bademove napitke bez ikakvih dodataka svrstavali na zadnje mjesto (tablica 17).

4.11. PRIHVATLJIVOST KOD POTROŠAČA

Utvrdjivanje prihvatljivosti potrošača provedeno je testiranjem 47 ispitanika različite dobne starosti (20-60 godina), ocjenjivala su se 4 uzorka fermentiranog bademovog napitka. Sastav i distribucija ocjena primjenom hedonističke skale fermentiranih bademovih napitaka različitih receptura prikazan je u tablici 18. Tako pripremljene uzorke ocjenjivali su potrošači. Ocjene potrošača su sumirane, te su izračunati: prosječna vrijednost (\bar{x}), standardna devijacija (s) i koeficijent varijabilnosti (C_v) te postotak poželjnosti koji su također prikazani u tablici 18. Analiza varijance (tablica 19) pokazala je značajne razlike između uzorka F i ostalih uzoraka jer izračunati F koeficijent ima veću vrijednost od granične vrijednosti očitanih iz statističkih tablica.

U tablici 18 su prikazani rezultati za poželjnost ocjenjivanih uzoraka fermentiranih bademovih napitaka, a vidljivo je da se prosječna vrijednost uzoraka kreće od 4,40 (uzorak K1-33) do 5,66 (uzorak F), a izračunati postotak poželjnosti iznosi od 46,81 % (uzorak K1-33) do 70,21 % (uzorak F). Najbolje ocjene i postotak poželjnosti dobio je fermentirani bademov napitak sa dodatkom saharoze, smjese škroba i pektina te okare (uzorak F). Uzorak E je dobio značajno slabiju ocjenu od uzorka F ($\bar{x}=4,34$) što se može pripisati različitoj formulaciji proizvoda. Kontrolni uzorci dobili su znatno slabije ocjene (približno 4,40) što se može pripisati tome da u

uzorke nisu dodavani nikakvi zaslađivači i stabilizatori. Kao najmanje poželjan proizvod ocijenjen je uzorak K1-53 (P=44,68 %), koji je zapravo fermentirani bademov napitak s vege kulturom 053 bez ikakvih dodataka.

Tablica 18. Ocjenjivanje prihvatljivosti fermentiranih bademovih napitaka od strane potrošača pomoću hedonističke skale

Ocjena	Uzorci			
	K1-33	K1-53	E	F
Scores				
9	2	3	2	5
8	2	0	0	7
7	4	8	7	9
6	2	5	5	6
5	12	5	9	6
4	8	5	5	3
3	9	12	5	5
2	6	7	13	3
1	2	2	1	3
Σ^*	47	47	47	47
x^*	4,40	4,47	4,34	5,66
s^*	1,98	2,19	2,10	2,39
Cv^*	45,08	48,91	48,35	42,21
poželjnost desirability	46,81%	44,68%	48,94%	70,21%

* Σ = Ukupan broj ispitanika; x = Prosječna vrijednost; s = Standardna devijacija; Cv = koeficijent varijabilnosti

Nakon obrade rezultata pomoću Duncanovog testa utvrđeno je da se uzorci značajno razlikuju, te je utvrđeno da je uzorak F statistički značajno različit od svih ostalih ispitivanih uzoraka odnosno da je uzorak F je značajno bolji od uzoraka E, K1-33 i K1-53. Isto tako, utvrđeno je da se uzorci E, K1-33 i K1-53 se statistički ne razlikuju.

Tablica 19. Analiza varijance podataka iz tablice 18

Izvor varijance	Sume kvadrata	Stupnjevi slobode	Prosjeci kvadrata	F
-----------------	---------------	-------------------	-------------------	---

Između proizvoda	55,931	3	18,64	6,92
Analitičkagreška	371,819	138	2,69	/
Ukupno	427,750	141	/	/

$$F_{0,05}(3/138)=2,67$$

Ukupna prihvatljivost ispitivanih proizvoda je niska, s obzirom da svi uzorci imaju manju prosječnu vrijednost od 7,5 što se može pripisati visokom intezitetu osjetilnih atributa ili prisutnosti i neočekivanih osjetilnih atributa. Glavni nedostatak kod fermentiranih bademovih napitaka bio je nedostatak slatkoće ili kiselosti. Niska prihvatljivost analoga jogurta može se pripisati nerazmjeru između očekivanja potrošača, formiranih prvenstveno na temelju iskustva sa mliječnim proizvodima i stvarnog osjetilnog doživljaja fermentiranih biljnih napitaka što se podudara sa raznim istraživanjima prihvatljivosti biljnih fermentiranih napitaka. Rezultati ovog istraživanja pokazuju kako postoji interes potrošača za ovaj tip proizvoda međutim daljnja ispitivanja trebala bi se usmjeriti na rješavanju negativnih senzorskih atributa kako bi se postiglo povećanje prihvatljivosti većim skupinama potrošača.

5. ZAKLJUČCI

1. Najveći udio suhe tvari imali su uzorci s dodatkom 1 % okare, 1 % smjese škroba i pektina i 3 % saharoze koji iznosi 16,19 %, dok su ostali uzorci imali slične udjele suhe tvari od 12-13

% . Udio mineralnih tvari kod uzoraka s dodacima bio je uglavnom konstantan, dok se kod kontrolnih uzoraka može primijetiti blagi pad tijekom skladištenja. Može se zaključiti da je u uzorcima prisutnane znatna količina ugljikohidrata (manje od 2 %).

2. Najveći kapacitet zadržavanja vode imali su uzorci sa dodatkom 1 % okare, 1 % smjese škroba i pektina i 3 % saharoze (45,55 %), a najmanje fermentirani bademov napitak bez dodataka (1,36 %). Sinereza je bila najveća kod kontrolnih uzoraka (98,5 %), dok je najmanja bila kod uzorka sa dodatkom 1 % okare, 1 % smjese škroba i pektina i 3 % saharoze.
3. Indeks tečenja svih uzoraka je manji od 1 što ukazuje na to da su fermentirani bademovi napici pseudoplastične tekućine.
4. Preživljavanje bakterija mliječne kiseline iznosi 70-80 %. Najbolje preživljavanje ima uzorak s dodatkom 1 % okare, 1 % smjese škroba i pektina i 3 % saharoze koja se može pripisati okari koja je bogat izvor prehrambenih vlakana odnosno prebiotika.
5. Senzorskom analizom najveću ukupnu ocjenu dobili su uzorci sa dodatkom 1 % okare, 1 % škroba i pektina i 3 % saharoze te uzorci s dodatkom 1 % rižinog proteina, 0,5 % guar gume i 3 % saharoze.
6. Statičkom analizom utvrđeno je da su najbolje prihvaćeni uzorci s dodatkom 1 % okare, 1 % smjese škroba i pektina i 3 % saharoze, a najmanje prihvaćeni su uzorci bez dodataka.
7. Ukupno gledajući rezultate svih provedenih analiza, fermentirani bademov napitak obogaćen okarom, saharozom te škrobom i pektinom kao stabilizatorom je dobro prihvaćen od strane potrošača, i pokazuje najveći potencijal za daljnje optimiranje recepture konačnog proizvoda.

6. LITERATURA

- Abou-Dobara MI, Ismail MM, Refaat NM (2016) Chemical composition, sensory evaluation and starter activity in cow, soy, peanut and rice milk. *Nutr Health Food Eng J* **5** (3), 1-8. <http://dx.doi.org/10.15406/jnhfe.2016.05.00175>
- Alozie Yetunde E, Udofia US (2015) Nutritional and sensory properties of almond (*Prunus amygdalu* var. *Dulcis*) seed milk. *World J Dairy Food Sci* **10** (2), 117-121.
- Amini R, Islam M, Kitamura Y, Kokawa M (2019) Utilization of Fermented Rice Milk as a Novel Coagulant for Development of Paneer (SoftCheese). *Foods* **8** (8), 339. <https://doi.org/10.3390/foods8080339>
- Anino C, Onyango A, Imathiu S, Maina J (2019). Effect of Lactic Acid Bacteria Starter Cultures on Vitamin and Oligosaccharide Composition of Milk Extracted from Three Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L) Varieties. *J Food Res* **8** (3), 103. <https://doi.org/10.5539/jfr.v8n3p103>
- Astolfi ML, Marconi E, Protano C, Canepari S (2020) Comparative elemental analysis of dairy milk and plant-based milk alternatives. *Food Control* **116**, 107327. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107327>
- Aydar EF, Tutuncu SI, Ozcelik B (2020) Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *J Funct Foods* **70**, 103975. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103975>
- Baldwin H, Tan J (2021) Effects of Diet on Acne and Its Response to Treatment. *Am J Clin Dermatol* **22** (1), 55–65. <https://doi.org/10.1007/s40257-020-00542-y>
- Banerjee S, Bhattacharya, S (2012) Food gels: gelling process and new applications. *Crit Rev Food Sci* **52** (4), 334-346. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.500234>
- Belewu MA, Belewu KY (2007) Comparative physico-chemical evaluation of tiger-nut, soybean and coconut milk sources. *Int J Agr Biol* **9** (5), 785-787.
- Bernat N, Cháfer M, Chiralt A, González-Martínez C (2015) Development of a non-dairy probiotic fermented product based on almond milk and inulin. *Food Sci Technol Int* **21** (6), 440-453. <https://doi.org/10.1177/1082013214543705>
- Berry E, Eisenberg S, Friedlander Y, Harats D, Kaufmann N, Norman Y, Stein Y (1992) Effects of diets rich in monounsaturated fatty acids on plasma lipoproteins—the Jerusalem Nutrition Study. *Am J Clin Nutr* **53** (4), 394–403. <https://doi.org/10.1093/ajcn/56.2.394>
- Bertoft E, Piyachomkwan K, Chatakanonda P, Sriroth K (2008) Internal unit chain composition in amylopectins. *Carbohydr Polym* **74**(3), 527–543. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.04.011>

- Bong DD, Moraru CI (2014) Use of micellar case in concentrate for Greek-style yogurt manufacturing: Effects on processing and product properties. *J Dairy Sci* **97**(3), 1259–1269. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-748>
- Božanić R, Jeličić I, Bilušić T (2010) Analiza mlijeka i mliječnih proizvoda, Plejada, Zagreb.
- Bridges M (2018) Moo-ove over, cow's milk: The rise of plant-based dairy alternatives. *PractGastroenterol* **21**, 20-27.
- Burton GW, Ingold KU (1989) Vitamin E as an *in Vitro* and *in Vivo* Antioxidant. *Ann NY AcadSci* **570**, 7–22. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1989.tb14904.x>
- Butt MS, Shahzadi N, Sharif MK, Nasir M (2007) Guar Gum: A Miracle Therapy for Hypercholesterolemia, Hyperglycemia and Obesity. *Crit Rev Food Sci* **47**(4), 389–396. <https://doi.org/10.1080/10408390600846267>
- Castro-Alba V, Lazarte CE, Perez-Rea D, Carlsson N, Almgren A, Bergenståhl B, Granfeldt Y (2019) Fermentation of pseudocereals, quinoa, canihua, and amaranth to improve mineral accessibility through degradation of phytate. *J Sci Food Agr* **99**(11), 5239–5248. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9793>
- Cecilia JA, García-Sancho C, Maireles-Torres PJ, Luque R (2019) Industrial Food Waste Valorization: A General Overview. U: Bastidas-Oyanedel JR, Schmidt JE (ured.) Biorefinery, Springer International Publishing, New York, str. 253-277.
- Chalupa-Krebszda S, Long CJ, Bohrer BM (2018) Nutrient density and nutritional value of milk and plant-based milk alternatives. *Int Dairy J* **87**, 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.07.018>
- Chen L, Ma R, McClements DJ, Zhang Z, Jin Z, Tian Y (2019) Impact of granule size on microstructural changes and oil absorption of potato starch during frying. *Food Hydrocolloid* **94**, 428–438. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.046>
- Cichońska P, Ziarno M (2021) Legumes and Legume-Based Beverages Fermented with Lactic Acid Bacteria as a Potential Carrier of Probiotics and Prebiotics. *Microorganisms* **10**(1), 91. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010091>
- Clegg ME, Ribes AT, Reynolds R, Kliem K, Stergiadis S (2021) A comparative assessment of the nutritional composition of dairy and plant-based dairy alternatives available for sale in the UK and the implications for consumers' dietary intakes. *Food Res Int* **148**, 110586. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110586>
- Cohen LA (2000). Effect of intact and isoflavone-depleted soy protein on NMU-induced rat mammary tumorigenesis. *Carcinogenesis* **21** (5), 929–935. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.5.929>
- Colletti A, Attrovio A, Boffa L, Mantegna S, Cravotto G (2020) Valorisation of By-Products from Soybean (*Glycinemax* (L.) Merr.) Processing. *Molecules* **25** (9), 2129. <https://doi.org/10.3390/molecules25092129>

- Das D, Ara T, Dutta S, Mukherjee A (2011) New water resistant biomaterial biocide film based on guar gum. *Biores. Technol.* **102** (10), 5878–5883. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.034>
- Delarue J, Ben Lawlor J, Rogeaux M (2015) *Rapid Sensory Profiling Techniques and Related Methods*. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Delcour JA, Bruneel C, Derde LJ, Gomand SV, Pareyt B, Putseys JA, Wilderjans E, Lamberts L (2010) Fate of Starch in Food Processing: From Raw Materials to Final Food Products. *Annu Rev Food Sci T* **1**(1), 87–111. <https://doi.org/10.1146/annurev.food.102308.124211>
- Deshwal GK, Tiwari S, Kumar A, Raman RK, Kadyan S (2021) Review on factors affecting and control of post-acidification in yoghurt and related products. *Trends Food Sci Tech* **109**, 499–512. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.057>
- Emkani M, Oliete B, Saurel R (2022) Effect of Lactic Acid Fermentation on Legume Protein Properties, a Review. *Fermentation* **8** (6), 244. <https://doi.org/10.3390/fermentation8060244>
- FAO (2013) Milk and dairy products in human nutrition. FAO- Food and Agriculture Organization, <https://www.fao.org/3/i3396e/i3396e.pdf> , Pristupljeno 1. listopada 2023.
- Feng, C., Wang, B., Zhao, A., Wei, L., Shao, Y., Wang, Y., Cao, B., Zhang, F. (2018) Quality characteristics and antioxidant activities of goat milk yogurt with added jujube pulp. *Food Chem* **277**, 238-245.
- Fernández MÁ, Espino M, Gomez FJV, Silva MF (2018) Novel approaches mediated by tailor-made green solvents for the extraction of phenolic compounds from agro-food industrial by-products. *Food Chem* **239**, 671–678. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.150>
- Frison-Norrie S, Sporns P (2002) Identification and Quantification of Flavonol Glycosides in Almond Seedcoats Using MALDI-TOF MS. *J AgrFoodChem* **50** (10), 2782–2787. <https://doi.org/10.1021/jf0115894>
- Fukui K, Tachibana N, Wanezaki S, Tsuzaki S, Takamatsu K, Yamamoto T, Hashimoto Y, Shimoda T (2002) Isoflavone-Free Soy Protein Prepared by Column Chromatography Reduces Plasma Cholesterol in Rats. *J Agr Food Chem* **50** (20), 5717–5721. <https://doi.org/10.1021/jf025642f>
- García-Pérez FJ, Lario Y, Fernández-López J, Sayas E, Pérez-Alvarez JA, Sendra E (2005) Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. *Color Res Appl* **30** (6), 457–463. <https://doi.org/10.1002/col.2015>
- Grasso N, Alonso-Miravalles L, O'Mahony JA (2020) Composition, Physicochemical and Sensorial Properties of Commercial Plant-Based Yogurts. *Foods* **9** (3), 252. <https://doi.org/10.3390/foods9030252>
- Guo J, Yang, XQ (2015) Texture modification of soy-based products. U: Chen J, Rosenthal A (ured.) *Modifying food texture*, Woodhead Publishing, Cambridge, str. 237-255.

- Haas R, Schneppps A, Pichler A, Meixner O (2019) Cow Milk versus Plant-Based Milk Substitutes: A Comparison of Product Image and Motivational Structure of Consumption. *Sustainability* **11**(18), 5046. <https://doi.org/10.3390/su11185046>
- Haug A, Hostmark AT, Harstad OM (2007) Bovine milk in human nutrition—areview. *Lipids Health Dis* **6**, 25. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-6-25>.
- Ibrahim IN, Kamaruding NA, Ismail N, Shaharuddin S (2022) Value addition to icecream by fortification with okara and probiotic. *J Food Process Pres* **46** (2). <https://doi.org/10.1111/jfpp.16253>
- Jeske S, Zannini E, Arendt EK (2017) Evaluation of physicochemical and glycaemic properties of commercial plant-based milk substitutes. *Plant Food Hum Nutr* **72**, 26-33. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0583-0>
- Jobling S (2004). Improving starch for food and industrial applications. *Curr Opin Plant Biol* **7**(2), 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2003.12.001>
- Kamble DB, Rani S (2020) Bioactive components, invitro digestibility, microstructure and application of soybean residue (okara): a review. *Legume Sci* **2** (1). <https://doi.org/10.1002/leg3.32>
- Kim J, Lee J, Voo AYH, Tan YX, Mok WK, Li AZ, Chen WN (2022) Okara Waste as a Substrate for the Microalgae *Phaeodactylum tricornutum* Enhances the Production of Algal Biomass, Fucoxanthin, and Polyunsaturated Fatty Acids. *Fermentation* **9** (1), 31. <https://doi.org/10.3390/fermentation9010031>
- Kumar V, Rani A, Husain L (2016) Investigations of Amino Acids Profile, Fatty Acids Composition, Isoflavones Content and Antioxidative Properties in Soy Okara. *Asian J Chem* **28** (4), 903–906. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2016.19548>
- Kumari B, Tiwari BK, Hossain MB, Brunton NP, Rai DK (2018) Recent Advances on Application of Ultrasound and Pulsed Electric Field Technologies in the Extraction of Bioactives from Agro-Industrial By-products. *Food Bioprocess Tech* **11** (2), 223–241. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1961-9>
- Lancaster JE, Lister CE, Reay PF, Triggs CM (1997) Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruit and vegetables. *J Am Soc Hortic Sci* **122** (4), 594-598. <https://doi.org/10.21273/JASHS.122.4.594>
- Liu K (2004) Soybeans as functional foods and ingredients. AOCS Publishing, New York.
- Liu L, Fishman ML, Hicks KB (2006) Pectin in controlled drug delivery – a review. *Cellulose* **14** (1), 15–24. <https://doi.org/10.1007/s10570-006-9095-7>
- Lu W, Chen H, Niu Y, Wu H, Xia D, Wu Y (2016) Dairy products intake and cancer mortality risk: a meta-analysis of 11 population-based cohort studies. *Nutr J* **15** (1), 91. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0210-9>

- Mandalari G, Nueno-Palop C, Bisignano G, Wickham MSJ, Narbad A (2008) Potential Prebiotic Properties of Almond (*Amygdalus communis* L.) Seeds. *Appl Environ Microb* **74** (14), 4264–4270. <https://doi.org/10.1128/AEM.00739-08>
- Mateos-Aparicio I, Redondo-Cuenca A, Villanueva-Suárez MJ (2010) Isolation and characterization of cell wall polysaccharides from legume by-products: Okara (soymilk residue), pea pod and broad bean pod. *Food Chem* **122** (1), 339–345. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.042>
- May CD (1990) Industrial pectins: Sources, production and application. *Carbohydr Polym* **12** (1), 223–232. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(90\)90105-2](https://doi.org/10.1016/0144-8617(90)90105-2)
- Mefleh M, Faccia M, Natrella G, de Angelis D, Pasqualone A, Caponio F, Summo C (2022) Development and Chemical-Sensory Characterization of Chickpeas-Based Beverages Fermented with Selected Starters. *Foods* **11** (22), 3578. <https://doi.org/10.3390/foods11223578>
- Mishra S, Mishra HN (2013) Effect of Synbiotic Interaction of Fructooligosaccharide and Probiotics on the Acidification Profile, Textural and Rheological Characteristics of Fermented Soy Milk. *Food Bioprocess Tech* **6** (11), 3166–3176. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-1021-4>
- Miyazawa T, Funazukuri T (2006) Noncatalytic hydrolysis of guar gum under hydrothermal conditions. *Carbohydr Res* **341** (7), 870–877. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.02.014>
- Nadkarni KM, Nadkarni AK, Chopra, RN (1996). *The Indian Materia Medica*, Popular Prakashan, Bombay.
- Nazir A, Asghar A, AslamMaan A (2017) *FoodGels: Gelling Process and New Applications*. U: Ahmed J, Ptaszek P, Basu S (ured.) *Advances in Food Rheology and Its Applications*, Woodhead Publishing, Cambridge, str. 335–353.
- Ostermann-Porcel MV, Quiroga-Panelo N, Rinaldoni AN, Campderrós ME (2017) Incorporation of Okara into Gluten-Free Cookies with High Quality and Nutritional Value. *J Food Quality* **2017** (4), 1–8. <https://doi.org/10.1155/2017/4071585>
- Pirsa S, Hafezi K (2023) Hydrocolloids: Structure, preparation method, and application in food industry. *Food Chem* **399**, 133967. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133967>
- Pointke M, Albrecht EH, Geburt K, Gerken M, Traulsen I, Pawelzik E (2022) A Comparative Analysis of Plant-Based Milk Alternatives Part 1: Composition, Sensory, and Nutritional Value. *Sustainability* **14** (13), 7996. <https://doi.org/10.3390/su14137996>
- Queirós RP, Saraiva JA, da Silva JAL (2018) Tailoring structure and technological properties of plant proteins using high hydrostatic pressure. *Crit Rev Food Sci* **58** (9), 1538–1556. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1271770>
- Rasane P, Jha A, Sabikhi L, Kumar A, Unnikrishnan VS (2015) Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods - a review. *J Food Sci Tech* **52** (2), 662–675. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1072-1>

- Rațu RN, Veleșcu ID, Stoica F, Usturoi A, Arsenoia VN, Crivei IC, Postolache AN, Lipșa FD, Filipov F, Florea AM, Chițea MA, Brumă IS (2023) Application of Agri-Food By-Products in the Food Industry. *Agriculture* **13** (8), 1559. <https://doi.org/10.3390/agriculture13081559>
- Rinaldoni AN, CampderrósME, Pérez Padilla A (2012) Physico-chemical and sensory properties of yogurt from ultrafiltered soy milk concentrate added with inulin. *LWT - Food Sci Tech* **45** (2), 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.09.009>
- Roslan IND, Kamaruding NA, Ismail, N, Shaharuddin S (2021) Sensory Attributes and Other Properties of Yogurt Fortified with Immobilized Lactobacillus Plantarum and Soybean Residue (Okara). *Int J Probiot Prebiot* **16** (1), 1-6.
- Saha D, Bhattacharya S (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *J Food Sci Tech* **47** (6), 587–597. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6>
- Sahan N, Yasar K, Hayaloglu AA (2008) Physical, chemical and flavor quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucanhydrocolloidal composite during storage. *Food Hydrocolloid***22** (7), 1291–1297. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.06.010>
- Santos A, Dias A, Pinheiro JA (2010) Predictive factors for the persistence of cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immu* **21** (8), 1127–1134. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2010.01040.x>
- Sarkar S, Gupta S, Variyar PS, Sharma A, Singhal RS (2013) Hydrophobic derivatives of guar gum hydrolysate and gum Arabic as matrices for microencapsulation of mint oil. *CarbohydPolym* **95** (1), 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.070>
- Sathe SK, Wolf WJ, Roux KH, Teuber SS, Venkatachalam M, Sze-Tao KWC (2002) Biochemical Characterization of Amandin, the Major Storage Protein in Almond (*Prunusdulcis* L.). *J Agr Food Chem* **50** (15), 4333–4341. <https://doi.org/10.1021/jf020007v>
- Seow CC, Gwee CN (1997) Coconut milk: chemistry and technology. *Int J Food Sci Techn* **32** (3), 189–201. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1997.00400.x>
- Sethi S, Tyagi SK, Anurag RK (2016) Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *J Food Sci Tech* **53** (9), 3408–3423. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2328-3>
- Shi H, Kraft J, Guo M (2020) Physicochemical and microstructural properties and probiotic survivability of symbiotic almond yogurt alternative using polymerized whey protein as a gelation agent. *J Food Sci* **85** (10), 3450-3458. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15431>
- Stanojevic SP, Barac MB, Pesic MB, Jankovic VS, Vucelic-Radovic Bv (2013) Bioactive Proteins and Energy Value of Okara as a Byproductin Hydrothermal Processing of Soy Milk. *J AgrFoodChem* **61** (38), 9210–9219. <https://doi.org/10.1021/jf4012196>
- Tangyu M, Muller J, Bolten CJ, Wittmann C (2019) Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavor and nutritional value. *Appl Microbiol Biot* **103**, 9263–9275. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10175-9>

- Tester RF, Karkalas J, iQi X (2004) Starch—composition, fine structure and architecture. *J Cereal Sci* **39** (2), 151–165. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.001>
- Thorning TK, Raben A, Tholstrup T, Soedamah-Muthu SS, Givens I, Astrup A (2016) Milk and dairy products: good or bad for human health? An assessment of the totality of scientific evidence. *Food Nutr Res* **60** (1), p.32527. <https://doi.org/10.3402%2Ffnr.v60.32527>
- Topcuoglu E, Yilmaz-Ersan L (2020) Effect of fortification with almond milk on quality characteristics of probiotic yoghurt. *J Food Process Pres* **44** (12). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14943>
- Tratnik Lj, Božanić R (2012) Mlijeko i mliječniproizvodi. Hrvatska mljekarska udruga. Zagreb.
- Tzen JTC, Cao YZ, Laurent P, Ratnayake C, Huang AHC (1993) Lipids, Proteins, and Structure of Seed Oil Bodies from Diverse Species. *Plant Physiol* **101** (1), 267–276. <https://doi.org/10.1104/pp.101.1.267>
- Valero-Cases E, Cerdá-Bernad D, Pastor JJ, Frutos MJ (2020) Non-Dairy Fermented Beverages as Potential Carriers to Ensure Probiotics, Prebiotics, and Bioactive Compounds Arrival to the Gut and Their Health Benefits. *Nutrients* **12** (6), 1666. <https://doi.org/10.3390/nu12061666>
- Verduci E, D’Elios S, Cerrato L, Comberiat P, Calvani M, Palazzo S, Martelli A, Landi M, Trikamjee T, Peroni DG (2019) Cow’s Milk Substitutes for Children: Nutritional Aspects of Milk from Different Mammalian Species, Special Formula and Plant-Based Beverages. *Nutrients* **11** (8), 1739. <https://doi.org/10.3390/nu11081739>
- Willats WGT, Knox JP, Mikkelsen JD (2006) Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends Food Sci Tech* **17** (3), 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.10.008>
- Wongthaweevatana I, Srinophakun TR, Saramala I, Kasemwong K (2021) Production of milk analogues from rice bran protein hydrolysate using the subcritical water technique. *Food Sci Tech* **41**, 722-729. <https://doi.org/10.1590/fst.16520>
- Yadav DN, Singh KK, Bhowmik, SN, Patil RT (2010) Development of peanut milk-based fermented curd. *Int J Food Sci Tech* **45** (12), 2650–2658. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02446.x>
- Yamada, H (1996). Contribution of pectins on health care. U: Visser J, Voragen AGJ (ured.) Progress in Biotechnology, 2 izd., Elsevier, Wageningen, str. 173–190.
- Zaaboul F, Raza H, Cao C, Yuanfa L (2019) The impact of roasting, high pressure homogenization and sterilization on peanut milk and its oil bodies. *Food Chem* **280**, 270–277.
- Zhang T, Jeong CH, Cheng WN, Bae H, Seo HG, Petriello MC, Han SG (2019) Moringa extract enhances the fermentative, textural, and bioactive properties of yogurt. *LWT* **101**, 276–284. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.010>

Zhao J, Bhandari B, Gaiani C, Prakash S (2021) Physicochemical and microstructural properties of fermentation-induced almond emulsion-filled gels with varying concentrations of protein, fat and sugar contents. *Curr Res Food Sci* 4, 577-587. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.08.007>

Zohary D, Hopf M (2000). Domestication of plants in the Old World: The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley, 4 izd., Oxford university press, Oxford.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, Mia Đula, izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis