

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Ivana Buljeta

**PRIPREMA I STABILNOST BIOAKTIVNIH DODATAKA HRANI NA BAZI
CITRUS VLAKANA I SOKA ARONIJE**

DOKTORSKI RAD

Osijek, mjesec, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DOKTORSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Doktorski studij Prehrambena tehnologija i nutricionizam
Smjer: Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za tehnologiju voća i povrća
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska
UDK: 658.624:664(043.3)
663.814 : 543.613.3(043.3)

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Znanstvena grana Inženjerstvo
Tema rada je prihvaćena na I. sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 31.10.2022.
Mentor: prof. dr. sc. *Mirela Kopjar*

PRIPREMA I STABILNOST BIOAKTIVNIH DODATAKA HRANI NA BAZI CITRUS VLAKANA I SOKA ARONIJE

Ivana Buljeta, 0113135981

Sažetak: U prvom dijelu istraživanja ispitana je mogućnost korištenja citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara kao nosača polifenola i hlapljivih spojeva soka aronije. Bioaktivni dodaci hrani sa sokom aronije i različitim količinama vlakana (1 %, 2 % i 3 %) pripremljeni su liofilizacijom. U drugom dijelu istraživanja uz vlakna dodavani su saharoza ili trehaloza te se je ispitivao utjecaj na definirane parametre. U dobivenim kompleksima određeni su sadržaj polifenola i hlapljivih komponenti, antioksidacijska aktivnost, mogućnost inhibicije enzima, parametri boje i strukturne promjene primjenom FTIR analize. Kompleksi su skladišteni osam mjeseci te je ispitana njihova stabilnost tijekom skladištenja. Rezultatima je utvrđeno da količina vlakana i tip vlakna, te dodatak disaharida utječu na vezanje polifenola i konačni aromatski profil dobivenih kompleksa. Najveći udio polifenola i antioksidacijska aktivnost određeni su u kompleksima s 1 % vlakna te je povećanjem količine vlakna utvrđeno smanjenje ovih parametara. Dodatak disaharida nije utjecao ili je negativno utjecao na vezanje polifenola i hlapljivih komponenti na vlakna. Rezultati dobiveni ovim istraživanjem potvrdili su da se ispitivana vlakna mogu koristiti za formuliranje novih bioaktivnih aditiva te njihovu moguću primjenu za obogaćivanje proizvoda kojima se dodaju polifenolima i hlapljivim komponentama aronije.

Ključne riječi: aronija, prehrambena vlakna, polifenoli, hlapljive komponente, bioaktivni dodaci hrani

Rad sadrži: 172 stranice
58 slika
45 tablica
0 priloga
193 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

- | | |
|--------------------------------|-------------|
| 1. titula <i>Ime i prezime</i> | predsjednik |
| 2. titula <i>Ime i prezime</i> | član |
| 3. titula <i>Ime i prezime</i> | član |

4. titula *Ime i prezime*
5. titula *Ime i prezime*

zamjena člana
zamjena člana

Datum obrane: Kliknite ili dodirnite ovdje da biste unijeli datum.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Rektoratu sveučilišta u Osijeku, Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu te samo u elektroničkom obliku u Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici u Osijeku

DO NOT COPY

BASIC DOCUMENTATION CARD

PHD (DOCTORAL) THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Doctoral Study Food Technology and Nutrition
Department of Food Technologies
Subdepartment of Fruits and Vegetables Technology
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia
UDC: 658.624:664(043.3)
663.814 : 543.613.3(043.3)

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. I held on 31 October 2022.

Mentor: *Mirela Kopjar*, PhD, Full Professor

PREPARATION AND STABILITY OF BIOACTIVE FOOD ADDITIVES BASED ON CITRUS FIBERS AND CHOKEBERRY JUICE

Ivana Buljeta, 0113135981

Summary: In the first part of the research, the possibility of citrus fibers, citrus fibers/xanthan and citrus fibers/guar as carriers of polyphenols and volatile compounds of chokeberry juice was examined. Bioactive food additives with chokeberry juice and different fiber amounts (1%, 2% and 3%) were prepared by lyophilization. In the second part, sucrose or trehalose was added to the fibers and the influence on the defined parameters was examined. Complexes were evaluated on the content of polyphenols and volatile compounds, antioxidant activity, possibility of enzyme inhibition, color parameters and structural changes by FTIR analysis. The stability of complexes was evaluated during eight months of storage. The results showed that the amount and type of fiber, as well as the addition of disaccharides, influenced the binding of polyphenols and aromatic profile of complexes. The highest concentration of polyphenols and antioxidant activity were in complexes with 1% fiber while increase of fiber amount caused a decrease in these parameters. Disaccharides did not affect or negatively affected the binding of polyphenols and volatile components to the fibers. The results confirmed that selected fibers can be used for formulation of novel bioactive additives and could be used for the enrichment of products with polyphenols and volatile chokeberry components.

Key words: chokeberry, dietary fibers, polyphenols, volatile compounds, bioactive food additives

Thesis contains: 172 pages
58 figures
45 tables
0 supplements
193 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|---|--------------|
| 1. <i>Name and surname</i> , PhD, prof./associate prof./assistant prof. | chair person |
| 2. <i>Name and surname</i> , PhD, prof./associate prof./assistant prof. | member |
| 3. <i>Name and surname</i> , PhD, prof./associate prof./assistant prof. | member |
| 4. <i>Name and surname</i> , PhD, prof./associate prof./assistant prof. | stand-in |

5. *Name and surname*, PhD, prof./associate prof./assistant prof.

stand-in

Defense date: date

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, University of Osijek; Rector's office, University of Osijek; University Library in Zagreb and only in electronic version in University Library in Osijek

DO NOT COPY

DO NOT COPY

Zahvala

DO NOT COPY

Ovaj rad financiran je od strane Hrvatske zaklade za znanost i Europskih strukturnih i investicijskih fondova unutar projekta PZS-2019-02-1595 „Vlakna i proteini kao osnova za razvoj novih bioaktivnih dodataka hrani“.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	5
2.1. ARONIJA	6
2.2. POLIFENOLI	7
2.3. POLIFENOLI U ARONIJI	9
2.3.1. Antocijanini	9
2.3.2. Flavan-3-oli	11
2.3.3. Proantocijanidini	11
2.3.4. Fenolne kiseline	12
2.3.5. Flavonoli	13
2.4. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST	14
2.5. ZDRAVSTVENE POGODNOSTI ARONIJE	16
2.6. TVARI AROME	19
2.7. TVARI AROME U ARONIJI	20
2.8. PREHRAMBENA VLAKNA	21
2.8.1. Citrus vlakna	22
2.8.2. Gume	27
2.9. DISAHARIDI	29
2.9.1. Trehaloza	29
2.9.2. Saharoza	31
2.10. INKAPSULACIJA	32
2.10.1. Sušenje smrzanjem (liofilizacija)	33
2.10.2. Inkapsulacija polifenola i hlapljivih komponenti	35
2.10.3. Interakcije polifenola i hlapljivih komponenti s prehrambenim vlaknima	36
3. EKSPERIMENTALNI DIO	39
3.1. ZADATAK RADA	40
3.2. MATERIJALI	45
3.3. METODE	47
3.3.1. Priprema bioaktivnih dodatka hrani (kompleksa)	47
3.3.2. Ekstrakcija uzoraka za spektrofotometrijske analize i analizu polifenola HPLC metodom	49
3.3.3. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola	49

3.3.4. Određivanje sadržaja monomernih antocijanina	50
3.3.5. Određivanje sadržaja proantocijanidina.....	50
3.3.6. HPLC metoda za identifikaciju i kvantifikaciju pojedinačnih polifenola prisutnih u uzorcima.....	51
3.3.7. Određivanje antioksidacijske aktivnosti	52
3.3.8. Inhibicija enzima α -amilaze	54
3.3.9. Inhibicija enzima α -glukozidaze	55
3.3.10. Analiza hlapljivih komponenti u uzorcima primjenom GC-MS metode.....	56
3.3.11. Parametri boje uzoraka	59
3.3.12. FTIR-ATR analiza.....	60
3.3.13. Statistička obrada podataka	61
4. REZULTATI.....	62
4.1. SOK ARONIJE I VLAKNA	63
4.2. BIOAKTIVNI DODACI HRANI NA BAZI CITRUS VLAKANA, CITRUS VLAKANA/KSANTANA I CITRUS VLAKANA/GUARA SA SOKOM ARONIJE	67
4.2.1. Sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u kompleksima	67
4.2.2. Sadržaj individualnih polifenola u kompleksima određenih HPLC analizom	69
4.2.3. Antioksidacijska aktivnost kompleksa	72
4.2.4. Koeficijenti korelacije utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost kompleksa.....	73
4.2.5. Inhibicija enzima α -amilaze kompleksima	74
4.2.6. Inhibicija enzima α -glukozidaze kompleksima.....	75
4.2.7. Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima određenih GC-MS analizom	76
4.2.8. Parametri boje kompleksa	81
4.2.9. IR spektri kompleksa.....	82
4.3. BIOAKTIVNI DODACI HRANI NA BAZI VLAKANA I DISAHARIDA SA SOKOM ARONIJE.....	84
4.3.1. Sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u kompleksima	84
4.3.2. Sadržaj individualnih polifenola u kompleksima određenih HPLC analizom	85
4.3.3. Antioksidacijska aktivnost kompleksa	88
4.3.4. Koeficijenti korelacije utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost kompleksa.....	89
4.3.5. Inhibicija enzima α -amilaze kompleksima	90
4.3.6. Inhibicija enzima α -glukozidaze kompleksima.....	91
4.3.7. Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima određenih GC-MS analizom	92
4.3.8. Parametri boje kompleksa	97
4.3.9. IR spektri kompleksa.....	98
5. RASPRAVA.....	102

5.1. SOK ARONIJE I VLAKNA	104
5.2. BIOAKTIVNI DODATCI HRANI NA BAZI CITRUS VLAKANA, CITRUS VLAKANA/KSANTANA I CITRUS VLAKANA/GUARA SA SOKOM ARONIJE	108
5.2.1. Sadržaj polifenola u kompleksima	108
5.2.2. Antioksidacijska aktivnost kompleksa	115
5.2.3. Inhibicija enzima α -amilaze i α -glukozidaze kompleksima	118
5.2.4. Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima	121
5.2.5. Parametri boje kompleksa	128
5.2.6. FTIR analiza	129
5.3. BIOAKTIVNI DODATCI HRANI NA BAZI CITRUS VLAKANA, CITRUS VLAKANA/KSANTANA I CITRUS VLAKANA/GUARA SA SOKOM ARONIJE I DISAHARIDIMA	132
5.3.1. Sadržaj polifenola u kompleksima	132
5.3.2. Antioksidacijska aktivnost kompleksa	138
5.3.3. Inhibicija enzima α -amilaze i α -glukozidaze kompleksima	141
5.3.4. Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima	142
5.3.5. Parametri boje kompleksa	146
5.3.6. FTIR analiza	147
6. ZAKLJUČCI	150
7. LITERATURA	155

Popis oznaka, kratica i simbola

AACC	Američko udruženje kemičara za žitarice (eng. American Association of Cereal Chemist)
ABTS	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) diamonijeva sol (eng. <i>2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt</i>)
ANOVA	analiza varijanci (eng. <i>analysis of variance</i>)
CUPRAC	kapacitet antioksidacijske redukcije bakra eng. (<i>cupric-reducing antioxidant capacity</i>)
Da	Dalton (izjednačuje se s g/mol)
DMAC	4-(dimetilamino)-cinamaldehyd (eng. <i>4-(dimethylamino)-cinnamaldehyde</i>)
DNK	deoksiribonukleinska kiselina (eng. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (eng. <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>)
DVB/CAR/PDMS	divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (eng. <i>Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxan</i>)
FRAP	eng. (<i>ferric-reducing/antioxidant power assay</i>)
FTIR-ATR	infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom-tehnika prigušene totalne refleksije (eng. <i>Fourier transform infrared spectroscopy – attenuated total reflectance</i>)
GC-MS	plinska kromatografija s masenom spektrometrijom (eng. <i>gas chromatography-mass spectrometry</i>)
HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. <i>high-performance liquid chromatography</i>)
IC ₅₀	koncentracija inhibitora koja uzrokuje 50 %-tnu inhibiciju
IR	infracrveno (eng. <i>infrared</i>)
LDL	lipoprotein niske gustoće (eng. <i>low-density lipoprotein</i>)
LOD	granica detekcije (eng. <i>limit of detection</i>)
LSD	Fisher-ov test najmanje značajne razlike (eng. <i>least significant difference</i>)
LOQ	granica kvantifikacije (eng. <i>limit of quantification</i>)
PTFE	politetrafluoretilen (eng. <i>polytetrafluoroethylene</i>)
RNS	reaktivne vrste dušika (eng. <i>reactive nitrogen species</i>)
ROS	reaktivne vrste kisika (eng. <i>reactive oxygen species</i>)
SPME	mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (eng. <i>solid-phase microextraction</i>)
TPTZ	2,4,6-tris (2-piridil)-s-triazin (eng. <i>2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine</i>)

DO NOT COPY

1. UVOD

Promjene u načinu života, prehrambenim navikama i zahtjevima potrošača dovele su do značajnih promjena u prehrambenoj industriji. Kako je svijest potrošača o povezanosti hrane i zdravlja u porastu, fokus se stavlja na primjenu prirodnih spojeva za obogaćivanje postojećih i razvoj novih proizvoda (Faustino i sur., 2019). Prethodna istraživanja utvrdila su pozitivnu korelaciju prehrane bogate voćem i povrćem sa smanjenim upalnim poremećajima za koje je poznato da predstavljaju jedan od glavnih čimbenika za razvoj karcinoma, pretilosti, kardiovaskularnih i neurodegenerativnih bolesti (Kasprzak-Drozd i sur., 2021).

Bioaktivni spojevi kao što su polifenoli privlače pozornost potrošača, znanstvenika i proizvođača zbog svojih pozitivnih učinaka na ljudsko zdravlje. Polifenoli su sekundarni biljni metaboliti izgrađeni od aromatskog prstena s jednom ili više hidroksilnih grupa vezanih na prsten (Quirós-Sauceda i sur., 2014). Dosadašnja istraživanja rezultirala su nizom pozitivnih učinaka polifenola u prevenciji i liječenju različitih bolesti. Poznato je kako imaju pozitivan utjecaj na dijabetes i pretilost što je vjerojatno uzrokovano njihovom sposobnošću inhibicije probavnih enzima kao što su α -amilaza i α -glukozidaza (Sahiner i sur., 2019). Osim toga, polifenoli utječu na senzorska svojstva proizvoda kao što je trpkost vina, soka aronije, itd. Boja i aroma su važne senzorske karakteristike proizvoda koje utječu na kvalitetu konačnog proizvoda. Antocijanini su prirodni pigmenti koji daju crvenu, plavu i ljubičastu boju nekim biljkama, a pripadaju skupini flavonoida. Aromu sirovine ili proizvoda čine hlapljivi spojevi odgovorni za miris i nehlapljivi spojevi koji utječu na okus. Prisutnost drugih komponenti u hrani (proteina, ugljikohidrata i lipida) utječe na zadržavanje i percepciju arome (Tromelin i sur., 2010). Tvari arome su uglavnom organski spojevi niske molekulske mase (< 400 Da). Ti spojevi su osjetljivi na prisutnost svjetlosti, topline i kisika te imaju nisku točku vrenja i visoku hlapljivost (Zhang i sur., 2015).

Crna aronija (*Aronia melanocarpa*) pripada porodici biljaka *Rosaceae* i podrijetlom je iz istočnih dijelova Sjeverne Amerike i Kanade (Jurendić i Ščetar, 2021). Plodovi aronije konzumiraju se rijetko zbog svog oporog okusa, a češće se prerađuju u sokove, sirupe, džemove, čajeve, itd. (Sidor i Gramza-Michałowska, 2019). Po količini polifenola aronija sadrži veće količine tih bioaktivnih spojeva u usporedbi s drugim bobičastim voćem (Jakobek i sur., 2007a). Iz skupine fenolnih kiselina, u aroniji su u najvećim količinama prisutne klorogenska i neoklorogenska kiselina. Antocijanini prisutni u aroniji su većinom cijanidin glikozidi, dok se flavonoli nalaze u jako niskim

koncentracijama većinom kao glikozidi kvercetina. Proantocijanidini čine oko 65 % ukupnih polifenola u aroniji.

Polifenoli i hlapljive komponente su osjetljivi na razne okolišne čimbenike kao što su visoke temperature, prisustvo svjetlosti, vode i kisika. Prilikom pripreme prehrambenih proizvoda, procesi koji uključuju visoke temperature, prisustvo kisika i vode često su neizbježni što može dovesti do degradacije i gubitka tih komponenti. Kako bi se takve komponente sačuvale od degradacije moguće je primijeniti proces inkapsulacije. Inkapsulacija je proces u kojem se aktivna tvar oblaže ili hvata u drugi materijal koji služi kao zaštitni zid ili omotač (Madene i sur., 2006). Kao nosači većinom se koriste polisaharidi, proteini i lipidi ili njihove kombinacije (Ballesteros i sur., 2017), a odabir metode inkapsulacije ovisi o primjeni krajnjeg proizvoda, prirodi nosača, željenoj veličini čestica, itd. (Wilkowska i sur., 2016a). U znanstvenim istraživanjima, sušenje smrzavanjem (liofilizacija) je metoda koja se često koristi za potrebe inkapsulacije termoosjetljivih komponenti (Bhatta i sur., 2020).

Prehrambena vlakna često su korištena kao nosači bioaktivnih spojeva. Osim dokazanih pozitivnih utjecaja na zdravlje ljudi, imaju sposobnost vezanja polifenola, ali i hlapljivih komponenti različitim molekulskim vezama (uglavnom su to vodikove veze i hidrofobne interakcije) (Jakobek, 2015). Nusproizvodi prehrambene industrije postaju predmetom brojnih istraživanja zbog mogućnosti ponovne upotrebe u prehrambene svrhe te u isto vrijeme smanjenja velike količine otpada. Otpad od citrusa je materijal bogat prehrambenim vlaknima, a najviše pektinom, celulozom i hemicelulozom (Lundberg i sur., 2014).

U ovom istraživanju za pripremu novih bioaktivnih dodataka hrani odabrana su citrus vlakna, citrus vlakna/guar i citrus vlakna/ksantan. Sok aronije koristio se kao izvor polifenola i hlapljivih komponenti. Različite količine vlakana koristile su se za pripremu uzoraka kako bi se ispitalo utjecaj njihove količine na vezanje polifenola i hlapljivih spojeva iz soka aronije. Osim toga, utvrđeno je kako je dodatak disaharida (saharoze i trehaloze) imao utjecaj na vezanje polifenola i hlapljivih komponenti kupine na vlakna jabuke (Kopjar i sur., 2022) stoga se u ovom istraživanju ispitalo i utjecaj dodatka saharoze i trehaloze. Bioaktivni dodaci hrani na bazi soka aronije i citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara te bioaktivni dodaci hrani s dodatkom disaharida

pripremljeni su procesom liofilizacije. U dobivenim kompleksima ispitan je sadržaj polifenola i hlapljivih komponenti, antioksidacijska aktivnost tih dodataka, mogućnost inhibicije enzima, parametri boje i strukturne promjene primjenom FTIR analize. Ujedno su kompleksi skladišteni osam mjeseci te je ispitana njihova stabilnost tijekom skladištenja.

DO NOT COPY

DO NOT COPY

2. TEORIJSKI DIO

2.1. ARONIJA

Crna aronija (*Aronia melanocarpa*) je podrijetlom iz istočnih dijelova Sjeverne Amerike i Kanade. U Europi se prvi put pojavljuje početkom dvadesetog stoljeća. Pripada porodici *Rosaceae*, a osim crne aronije postoji i crvena aronija (*Aronia arbutifolia*) i ljubičasta aronija (*Aronia prunifolia*) – hibrid crne i crvene aronije (Jurendić i Ščetar, 2021). Najvažnije sorte aronije su „Nero“ (Češka), „Rubina“ (nastala križanjem ruske i finske biljke), „Viking“ (Finska), „Kurkumäcki“ (Finska), „Hugin“ (Švedska), „Aron“ (Danska) i „Fertödi“ (Mađarska). Grm aronije raste do visine od 2 m do 3 m. Iz bijelih cvjetova koji pupaju od svibnja do lipnja nastaje plod promjera od 6 mm do 13 mm i težine od 0,5 g do 2 g (Slika 1). Berba zrelih plodova se odvija u kolovozu i rujnu (Kulling i Rawel, 2008). Berba početkom rujna pokazala se optimalnom za postizanje maksimalne mase ploda i količine antocijanina (Jurikova i sur., 2017). Zbog svog oporog okusa, kiselosti i mirisa koji podsjeća na gorki badem i sirovo voće, rijetko se konzumira u svježem stanju, a češće u obliku prerađevina kao što su sok, sirup, džem, žele i čaj (Sidor i Gramza-Michałowska, 2019). Česta je i kombinacija drugih sokova kao što je jabuka, kruška ili crni ribiz sa sokom aronije zbog bolje prihvatljivosti od strane potrošača. Osim toga, plodovi aronije se često koriste i za proizvodnju voćnih likera i kao sastojak u voćnim vinima. Tijekom fermentacije aronije, dobije se visok prinos alkohola i razvije se poželjna aroma (Kulling i Rawel, 2008).



Slika 1 Plodovi aronije (<https://biomed.ba/blog/aronija/>)

Kemijski sastav aronije ovisi o nizu čimbenika kao što su sorta, gnojidba, zrelost ploda, vrijeme berbe i lokacija (Kulling i Rawel, 2008). U usporedbi s drugim bobičastim voćem (kupina, malina,

borovnica), aronija ima veću količinu polifenola (Jakobek i sur., 2007a) i sorbitola (Kulling i Rawel, 2008). U **Tablici 1** prikazan je kemijski sastav ploda aronije i soka.

Tablica 1 Kemijski sastav ploda aronije i soka aronije (Jurendić i Ščetar, 2021)

Kemijski sastav	Plod aronije (g/kg)	Sok aronije (g/L)
Suha tvar (%)	15 – 31	11 – 17
Ukupni šećeri	68 – 158	110 – 143
Prehrambena vlakna	56	3
Proteini	7	2
Masti	1,4	< 1
Minerali	4 – 6	5
Ukupni polifenoli	79	4,7 – 9,0

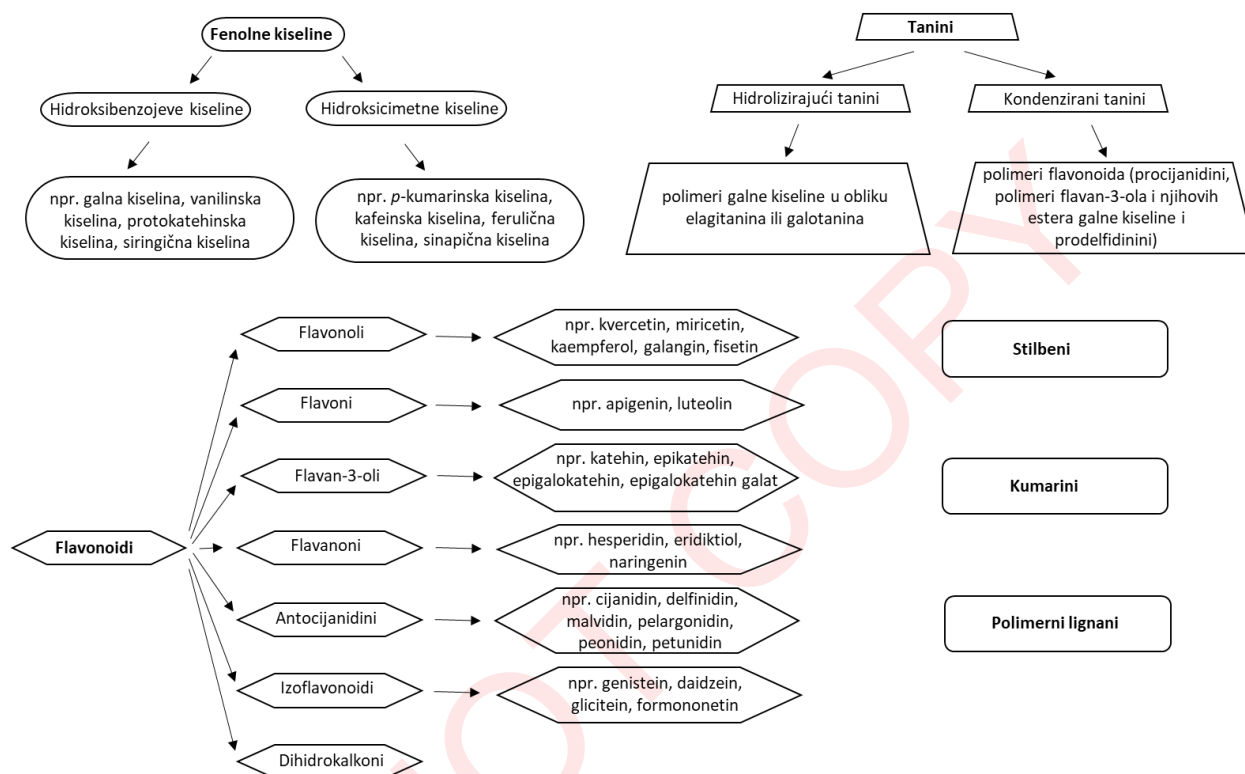
2.2. POLIFENOLI

Polifenoli su sekundarni biljni metaboliti izgrađeni od aromatskog prstena na koji su vezane jedna ili više hidroksilnih skupina (Quirós-Sauceda i sur., 2014). Ovi spojevi se sintetiziraju prilikom razvoja biljke i/ili kao odgovor biljke na neke stresne okolišne čimbenike. Njihovo prisustvo čak i u niskim koncentracijama u biljkama utječe na zaštitu biljaka od predatora ili od štete uzrokovane ultraljubičastim zračenjem (Ballesteros i sur., 2017; Malapert i sur., 2019). Nalaze se u sjemenkama biljaka, listovima, voću, stabljikama i korijenju (Pyrzynska and Sentkowska, 2019). Polifenoli se dijele u nekoliko grupa, a to su: fenolne kiseline, flavonoidi, tanini, silbeni, kumarini i polimerni lignani (Dobson i sur., 2019) (**Slika 2**). Njihova struktura varira od jednostavne do vrlo složene. Osim hidroksilnih skupina, na aromatski prsten mogu biti vezane organske kiseline, šećeri i acilirani šećeri. Struktura polifenola odgovorna je za nisku do umjerenu topljivost u vodi, antioksidacijsku aktivnost te sklonost oksidaciji (Cao i sur., 2021). Najveću grupu polifenola čine flavonoidi (preko 4000 poznatih flavonoida). Oni se dijele u nekoliko podgrupa, a to su: flavonoli, flavoni, flavan-3-oli, flavanoni, antocijanidini, izoflavonoidi i dihidrokalkoni (Crozier i sur., 2009). Njihovu strukturu čine dva aromatska prstena povezana mostom s tri ugljikova atoma (López-Fernández i sur., 2020). Ovi spojevi se razlikuju prema stupnju oksidacije i nezasićenosti segmenta s tri ugljika. Na hidroksilne skupine flavonoida mogu se vezati različite molekule šećera. Flavonoidi se obično nalaze u obliku glikozida što im poboljšava topljivost u vodi. Uobičajena je acilacija šećernih grupa (s octenom ili feruličnom kiselinom) (Jakobek, 2015).

Stabilnost polifenola je veoma važna u pogledu kvalitete hrane. Procesiranje hrane i uvjeti skladištenja dovode do kemijskih/strukturnih promjena polifenola. Stabilnost polifenola može biti narušena strukturnim promjenama polifenola bez utjecaja vanjskih čimbenika (temperature, svjetla, pH, itd.). Kemijske modifikacije kao što su hidroksilacija, glikozilacija i acilacija mogu uzrokovat promjenu u stabilnosti polifenola. Hidroksilacija smanjuje stabilnost polifenola dok druge kemijske modifikacije povećavaju stabilnost. Glikozilacija antocijanina poboljšava njihovu stabilnost u kiselom i lužnatom mediju i pri visokim temperaturama, ali smanjuje njihovu antioksidacijsku aktivnost. Acilirani antocijanini su stabilniji od njihovih osnovnih oblika (Cao i sur., 2021). Autooksidacija je također jedan od mehanizama koji uzrokuje nestabilnost polifenola. U prisutnosti kisika polifenoli mogu podlijegati autooksidaciji stvarajući perokside i hidroperokside (Wang i sur., 2008). Zbog prisutnosti nezasićenih veza u strukturi polifenola oni su osjetljivi na različite okolišne čimbenike kao što su pH, prisustvo kisika, svjetlosti, vlage i visokih temperatura (Ballesteros i sur., 2017). Promjene pH vrijednosti mogu utjecati na stabilnost polifenola mijenjajući njihovu strukturu. Općenito je poznato da su polifenoli stabilniji na nižim pH vrijednostima otopina. Antocijanini ovisno o pH podliježu strukturnim promjenama (Cao i sur., 2021). Flavium kation je dominantni oblik koji je prisutan pri kiselom pH (pH 1-3) i crvene je boje. U vodenim otopinama s povišenjem pH (pH 4-5) reakcijama hidratacije stvara se bezbojna karbinol pseudobaza koja može biti podvrgnuta fisiji prstena te nastaju svijetlo žuti kalkoni. Flavium kation može biti transformiran u kinonsku bazu uzastopnim gubitcima protona i stvaranjem kinonske strukture (Jacob i sur., 2012). Temperatura je također jedan od čimbenika koji utječe na stabilnost polifenola. Procesiranje i skladištenje na nižim temperaturama je poželjno za stabilnost polifenola. Na temperaturi od 4 °C stabilnost polifenola odnosno njihove strukture je dobra na duži period što može biti povezano s inhibicijom enzima polifenol oksidaze na niskim temperaturama i posljedično smanjenjem oksidacije. U usporedbi s antocijaninima, fenolne kiseline su puno stabilnije na višim temperaturama. Antocijanini su spojevi koji su visoko osjetljivi na svjetlost, a općenito vrijedi kako je oksidacija polifenola proporcionalna koncentraciji kisika. Interakcije s drugim komponentama hrane (askorbinska kiselina, šećeri, ioni metala, itd.) također utječu na stabilnost polifenola (Cao i sur., 2021).

Polifenoli pridonose senzorskoj kvaliteti proizvoda (vinu, sokovima, čokoladi, itd.). Zbog svojih

mnogih funkcionalnih svojstava od velike su koristi za prehrambenu, kemijsku i farmaceutsku industriju (Ballesteros i sur., 2017).



Slika 2 Podjela polifenola po skupinama i neki od predstavnika pojedine skupine (Dobson i sur., 2019)

2.3. POLIFENOLI U ARONIJI

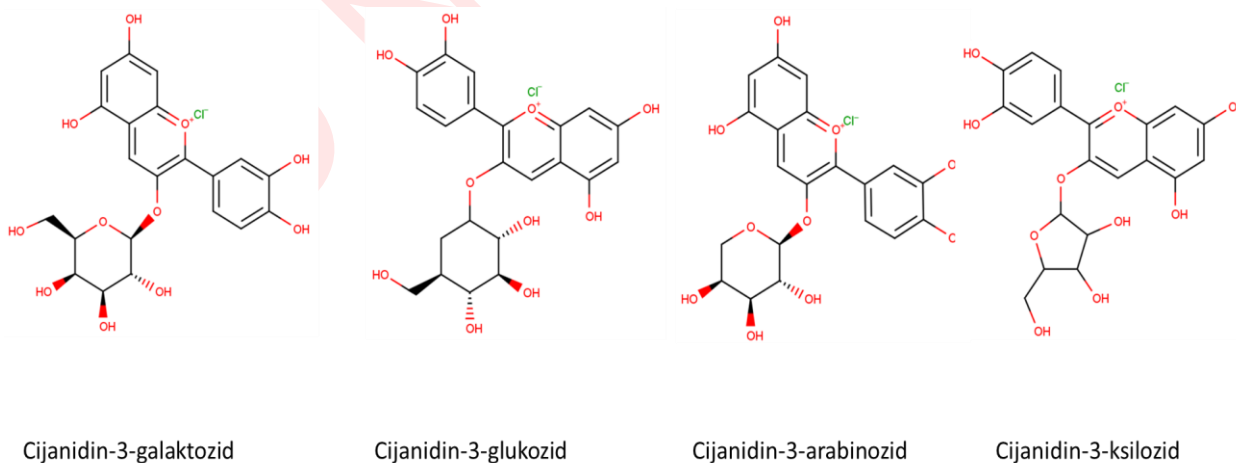
Aronija je jedan od najbogatijih izvora polifenola u usporedbi s drugim bobičastim voćem. U najvećim količinama zastupljeni su proantocijanidini, antocijanini i fenolne kiseline dok se u manjim količinama nalaze i flavonoli. Istraživanjima je utvrđeno kako se sastav polifenola u aroniji mijenja tijekom njenog dozrijevanja, a najveće količine polifenola su prisutne kod nezrelog voća. Utvrđeno je kako suhi i topli vremenski uvjeti utječu na povećanu količinu polifenola.

2.3.1. Antocijanini

Antocijanini su grupa polifenola odgovorna za crvenu, ljubičastu i plavu boju voća i povrća. Kemijsku strukturu antocijanina čini flavium kation, odnosno ugljični kostur C6-C3-C6. Prisutni su

u formi glikozida i acil glikozida antocijanidina. Antocijanidini su aglikoni koji imaju različite hidroksilne ili metoksilne skupine u svojoj strukturi, a njihovi predstavnici su cijanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin i petunidin. Šećeri prisutni u strukturi antocijanina su obično glukoza, ksiloza, ramnoza, galaktoza, fruktoza i arabinoza. Ovisno o pH vrijednosti oni mijenjaju svoju boju od crvene do plave zbog različitih kemijskih formi (Ossman i sur., 2016). Antocijanini su se dugo godina koristili kao prirodne prehrabene boje, ali se sve više koriste kao suplementi i u medicinske svrhe (Willemse i sur., 2013).

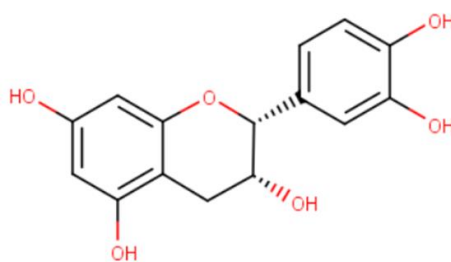
Aronija je jedan on najbogatijih biljnih izvora antocijanina te oni čine oko 25 % ukupnih polifenola aronije (Jurendić i Ščetar, 2021). Antocijanini u aroniji su uglavnom cijanidin glikozidi i to galaktozid, glukozid, arabinozid i ksilozid (Zhang i sur., 2021) (**Slika 3**). Cijanidin-3-galaktozid je najdominantniji antocijanin u aroniji te čini 69 % ukupnih antocijanina dok cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-arabinozid i cijanidin-3-ksilozid čine 1,3 %, 27,5 % i 2,3 % ukupnih antocijanina (Oszmiański i Wojdylo, 2005). Cijanidin-3-galaktozid i cijanidin-3-arabinozid čine glavninu antocijanina u aroniji. Neki autori navode da je njihov udio čak preko 90 % (Klisurova et al., 2018). U tragovima se mogu pronaći još pelargonidin-3-galaktozid i pelargonidin-3-arabinozid (Oszmiański i Wojdylo, 2005).



Slika 3 Kemijska struktura antocijanina prisutnih u aroniji

2.3.2. Flavan-3-oli

Flavan-3-oli su podskupina flavonoida i jedni od najzastupljenijih polifenola u prirodi čiji su glavni predstavnici katehin, epikatehin, epigalokatehin i epigalokatehin-3-galat. Ovi spojevi se u velikim koncentracijama nalaze u zelenom čaju, jagodama i crnom grožđu. Mnoga znanstvena istraživanja potvrdila su pozitivan utjecaj katehina u prevenciji i liječenju, dijabetesa, različitih karcinoma te Alzheimerove i Parkinsonove bolesti (Suner i sur., 2021). U aroniji se u nešto nižim koncentracijama može pronaći (-)-epikatehin kao slobodna komponenta (**Slika 4**). Većina flavan-3-ola, a najviše (-)-epikatehin je zastupljen u obliku proantocijanidina koji se u aroniji nalaze u značajnim koncentracijama (Jurendić i Ščetar, 2021).

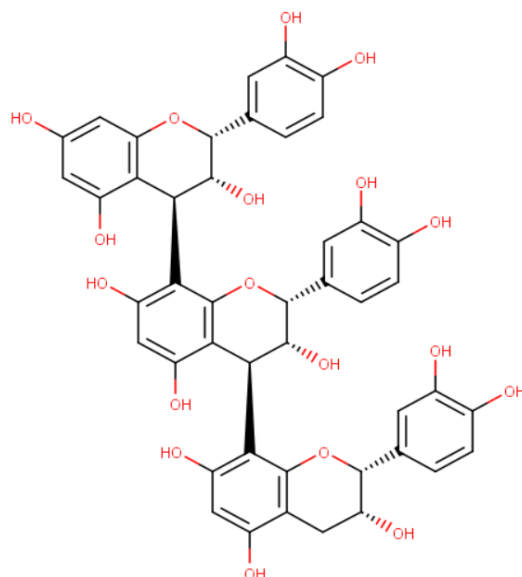


(-)-Epikatehin

Slika 4 Kemijska struktura (-)-epikatehina

2.3.3. Proantocijanidini

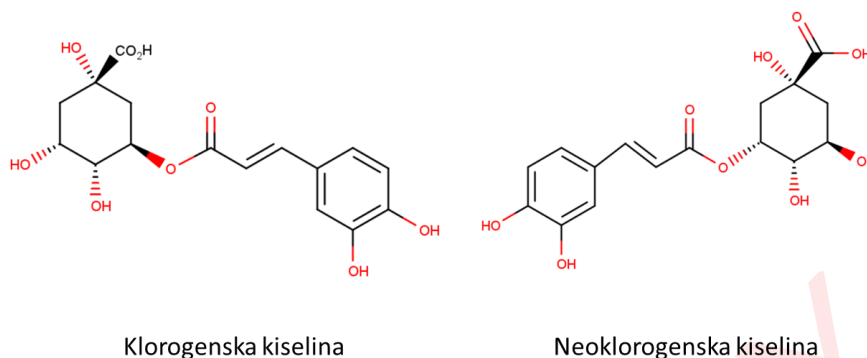
Proantocijanidini predstavljaju najznačajniju skupinu polifenola u aroniji i čine oko 66 % polifenola aronije (Jurendić i Ščetar, 2021). Oni su u najvećoj mjeri odgovorni za trpkost aronije. Prethodnim istraživanjem utvrđeno je kako oko 40 % antioksidacijske aktivnosti aronije pripisano djelovanju proantocijanidina (Denev i sur., 2019). Više koncentracije proantocijanidina su pronađene u komini aronije nego u soku i svježem voću (Jurendić i Ščetar, 2021). Na **Slici 5** prikazana je kemijska struktura proantocijanidina.



Slika 5 Kemijska struktura proantocijanidina

2.3.4. Fenolne kiseline

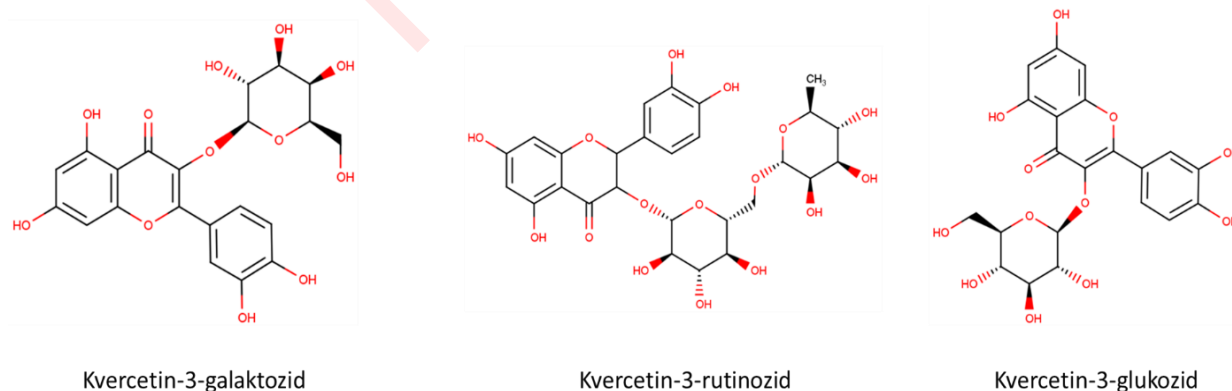
Fenolne kiseline se dijele u dvije skupine, a to su: derivati hidroksibenzojeve kiseline i derivati hidroksicimetne kiseline. Skupina derivata hidroksibenzojeve kiseline uključuje galnu kiselinu, elagičnu kiselinu, vanilinsku kiselinu, *p*-hidoksibenzojevu kiselinu, protokatehuinsku kiselinu, itd. U skupinu derivata hidroksicimetne kiseline pripadaju klorogenske kiseline, kafeinska kiselina, ferulična kiselina, itd. (Giovinazzo i sur., 2019). Derivati hidroksibenzojevih kiselina se u voću i povrću nalaze u dosta nižim koncentracijama nego derivati hidroksicimetnih kiselina te su češće prisutni u strukturi nekih kompleksnijih spojeva. Klorogenske kiseline nastaju esterifikacijom kina kiseline s nekom od hidroksicimetnih kiselina. U aroniji se u najvećim količinama nalaze klorogenska i neoklorogenska kiselina (Zielińska i sur., 2020) (**Slika 6**). Rezultati prethodnih istraživanja utvrdili su kako je koncentracija fenolnih kiselina viša u soku aronije nego u komini što upućuje na njihovu dobru topljivost u vodi (Oszmiański i Wojdyło, 2005).



Slika 6 Kemijska struktura fenolnih kiselina prisutnih u aroniji

2.3.5. Flavonoli

Flavonoli su u aroniji zastupljeni u niskim koncentracijama te čine oko 1,3 % ukupnih polifenola. Iako su njihove količine jako niske, često se istražuju zbog svojih bioloških aktivnosti. Većinom su zastupljeni u obliku glikozida kvercetina, a najdominantniji su kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-rutinozid i kvercetin-3-glukozid (**Slika 7**). U tragovima se mogu još pronaći kvercetin-3-vicianozid, kvercetin-3-robinobiozid, izoramnetin, kampferol (Oszmiański i Lachowicz, 2016; Slimestad i sur., 2005).



Slika 7 Kemijska struktura flavonola prisutnih u aroniji

U **Tablici 2** prikazane su koncentracije polifenola u plodu i soku aronije.

Tablica 2 Koncentracije polifenola u plodu i soku aronije

Polifenoli	Plod aronije		Sok aronije		
	mg/100 g s.t.*	mg/g**	mg/100 g s.t.*	g/L***	mg/L****
Cijanidin-3-galaktozid	1282,41		787,00	3,16	122,6
Cijanidin-3-glukozid	42,14	14,8	28,15	0,16	5,3
Cijanidin-3-arabinozid	581,50		324,37	1,44	44,5
Cijanidin-3-ksilozid	52,71		33,63	-	4,8
Klorogenska kiselina	301,85	8,3	415,86	0,97	14,5
Neoklorogenska kiselina	290,81	10,2	393,10	1,18	53,1
(-)-Epikatehin	15,04	2,3	12,71	-	-
Proantocijanidini	5181,60	-	1578,79	-	-
Kvercetin-3-rutinozid	15,10	7,8	27,53	-	5,9
Kvercetin-3-galaktozid	36,98	-	49,76	-	10,1
Kvercetin-3-glukozid	21,64	1,9	31,24	-	5,6
Kvercetin	-	2,1	-	-	-
Ukupni polifenoli	7849,21	53,5	3729,07	6,95	-

s.t. – suha tvar; ¹ – ukupni antocijanini; *Oszmiański i Wojdyło (2005); **Denev i sur. (2019); ***Wilkowska i sur. (2016b); ****Bursać Kovačević i sur. (2016).

2.4. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST

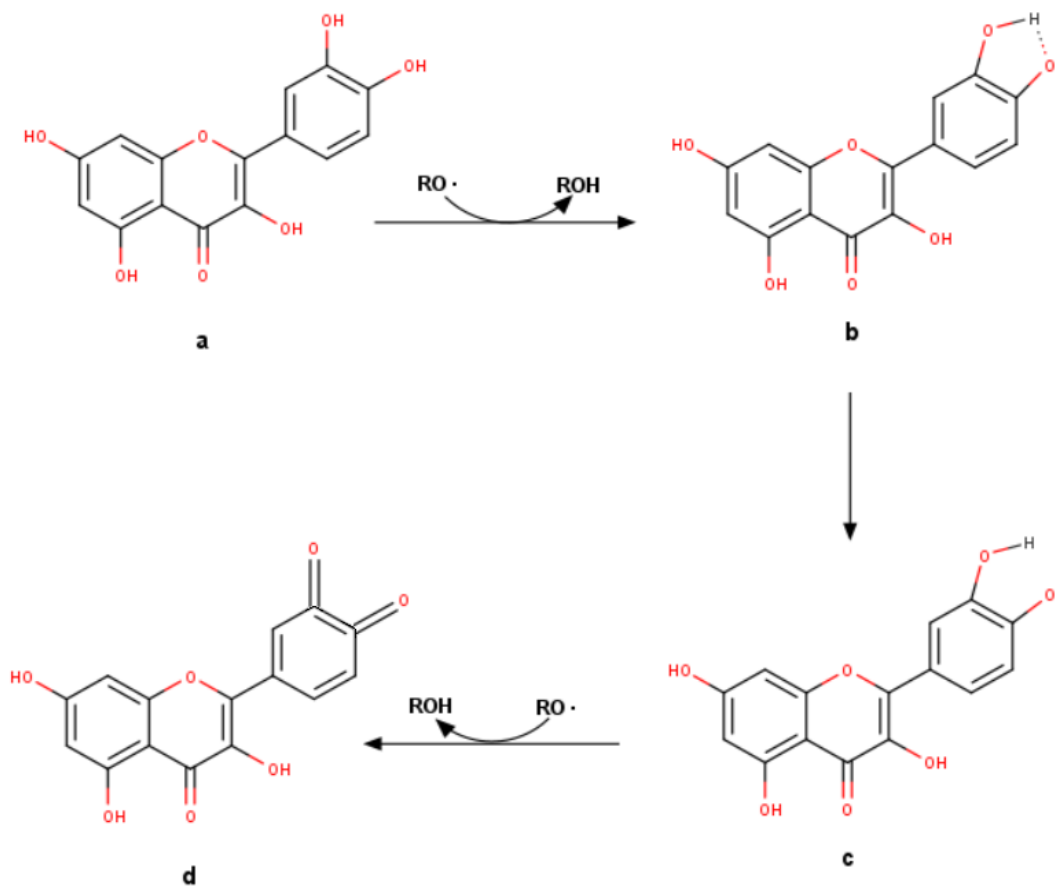
Antioksidacijska aktivnost povezana je s prisutnošću komponenti koje imaju sposobnost zaštititi biološki sustav od oksidacije i često se koristi za karakterizaciju spojeva koji mogu hvatati ili inhibirati slobodne radikale (Mahboub i Memmou, 2015). Antioksidansi su spojevi male molekulske mase koji su prirodnog ili sintetskog porijekla, a njihova uloga je prevencija ili inhibicija oštećenja stanica uzrokovanog oksidativnim stresom (Apak i sur., 2016). Rezultati dobiveni mjerenjem antioksidacijske aktivnosti ovise i o metodi koja se koristi za ispitivanje kao i o koncentraciji i fizikalno-kemijskim svojstvima ispitivanog antioksidansa. Iz ovih razloga, poželjno je koristiti više metoda za ispitivanje kako bi se dobio antioksidacijski profil ispitivane komponente ili cijelog materijala (Ghadermazi i sur., 2017). Prirodni i sigurni izvori biljnih antioksidanasa sve više privlače pozornost znanstvenika, potrošača i prehrambene industrije. Dodavanje antioksidanasa u prehrambene proizvode omogućuje produženje roka trajanja usporavanjem oksidacijskih procesa (Jirovetz i sur., 2006).

Slobodni radikali nastaju kao posljedica stvaranja adenozin trifosfata u mitohondrijima kada stanice koriste kisik za stvaranje energije. Takvi nusprodukti su većinom reaktivne vrste kisika (ROS) ili reaktivne vrste dušika (RNS) (Aara i sur., 2020). Stvaranje reaktivnih vrsta kisika tijekom metabolizma je uobičajen proces koji se nadoknađuje antioksidansima u organizmu (Bezerra i sur.,

2017). Stanične ozljede se pojavljuju zbog proizvodnje ROS-a koje oštećuju proteine, lipide, ugljikohidrate i nukleinske kiseline, a mogu uzrokovati i mutacije zbog oštećenja DNK. Ove nepoželjne molekule povezane su s procesom starenja i različitim bolesti kao što su karcinom prostate i debelog crijeva, hipertenzija, dijabetes, koronarne bolesti srca, ateroskleroza, Alzheimerova bolest, itd. (Gülçin i sur., 2012; Buljeta i sur., 2022a).

Polifenoli mogu djelovati kao antioksidansi preko nekoliko mogućih mehanizama. Najvažniji mehanizmi su hvatanje slobodnih radikala gdje polifenoli prekidaju reakciju lanca slobodnih radikala i sprječavanje stvaranja slobodnih radikala reguliranjem aktivnosti enzima ili keliranjem metalnih iona koji su uključeni u proizvodnju slobodnih radikala. Polifenoli imaju idealnu kemijsku strukturu za neutralizaciju slobodnih radikala zbog hidroksilnih skupina koje mogu donirati atom vodika ili elektron na slobodni radikal i konjugiranog aromatskog sustava za delokalizaciju nesparenog elektrona (Vladimir-Knežević i sur., 2012).

Biokemijsko djelovanje flavonoida očituje se kroz katalitičku inhibiciju enzima kao što su ksantin oksidaza, protein-kinaza, ciklooksigenaza, lipooksigenaza i NADPH oksidaza koji su uključeni u stvaranje ROS-a. Na **Slici 8** prikazano je kako molekula flavonoida (**a**) služi kao donor vodikovog atoma reaktivnom radikalu. Oznaka R^{\cdot} predstavlja reaktivne vrste kisika kao što su O_2^{\cdot} , $\cdot OH$, peroksilni ili alkoksilni radikal. Na strukturi (**b**) prikazano je kako je flavonoidni radikal stabiliziran vodikovom vezom. Formirani slobodni radikal flavonoida puno je stabilniji od ROS-a što donira elektron zbog delokalizacije elektrona u benzenskom prstenu. Daljnja oksidacija flavonoidnog radikala (**c**) može dovesti do stvaranja otro-kinona (**d**). Veća efikasnost hvatanja slobodnih radikala kod flavonoida je utvrđena s većim brojem hidroksilnih skupina u prstenu (Jacob i sur., 2012). Metilacija slobodnih hidroksilnih grupa može rezultirati smanjenjem antioksidacijske aktivnosti. Povećana antioksidacijska aktivnost uzrokovana strukturom polifenola odnosi se na prisutnost kateholne (dvije OH skupine) ili pirogalolne (tri OH skupine) skupine u prstenu B, kombinacije dvostruke veze na C2-C3 i OH skupine na C3, te oksonijevog iona (O^+) na prstenu C (Jacob i sur., 2012). Antocijanini imaju jaku antioksidacijsku aktivnost prema slobodnim radikalima te mogu biti u protoniranom, deprotoniranom, hidratiziranom i izomernom obliku. Konjugirani oblici antocijanina koji omogućuju delokalizaciju elektrona rezultiraju stabilnim radikalima koji mogu primiti dodatne elektrone, a i dalje zadržati stabilnost.



Slika 8 Mehanizam antioksidacijske aktivnosti polifenola (Jacob i sur., 2012)

Također, hidroksilacija i metoksilacija B prstena utječe na njihovu stabilnost i antioksidacijsku aktivnost (Dangles i sur., 2000; Jacob i sur., 2012). Primjer utjecaja kemijske strukture na antioksidacijsku aktivnost možemo vidjeti na katehinu i kvercetinu. Obje molekule imaju isti broj hidroksilnih skupina na istim pozicijama. Razlika je u tome što kvercetin ima 2,3-dvostruku vezu u prstenu C i 4-okso funkciju što mu omogućuje veću antioksidacijsku aktivnost od katehina sa zasićenim heterocikličkim prstenom (Cao i sur., 2021).

2.5. ZDRAVSTVENE POGODNOSTI ARONIJE

Utjecaj aronije i proizvoda od aronije na zdravlje predmet je brojnih istraživanja. Zbog visokog antioksidacijskog kapaciteta aronije za koji su zaslužne bioaktivne komponente, ova biljka privukla je interes mnogih istraživača. Rezultati dobiveni *in vitro* na stanicama i staničnim kulturama kao i

in vivo na ljudima i životinjama utvrdili su pozitivan utjecaj aronije na prevenciju i tretiranje različitih kroničnih bolesti (Jurikova i sur., 2017). Upalni procesi u organizmu predstavljaju odgovor imunološkog sustava na neke nepoželjne podražaje u tijelu. Učestalost upalnih procesa dovodi do kroničnog razvoja bolesti. Sok aronije imao je pozitivnu neuroprotektivnu funkciju na muške 5XFAD miševe modela Alzheimerove bolesti. Frakcija koja je sadržavala glikozide kvercetina smanjila je aktivnost gama-sekretaze u SH-SY5Y stanicama (Yamane i sur., 2023). U preglednom radu Sidor i sur. (2019) opisani su pozitivni učinci aronije i njenih proizvoda na zdravlje. Tretiranje štakora oboljelih od dijabetesa s ekstraktom aronije rezultiralo je smanjenjem razine monocita i granulocita, kao i povećanjem limfocita, koji inhibiraju nakupljanje aterosklerotskih plakova što upućuje na pozitivan utjecaj prevencije kardiovaskularnih bolesti. Utvrđeno je da je konzumacija aronije kod pretilih pacijenata poboljšala sastav lipida (Sidor i sur., 2019). Sok aronije je kod ispitivane skupine žena smanjio razinu triglicerola (Nowak i sur., 2016). Konzumacija soka od aronije obogaćenim s glukomananom je kod pretilih žena uzrokovala smanjenje razine lipoproteina visoke gustoće i sistoličkog krvnog tlaka (Kardum i sur., 2014). Pozitivni učinci aronije su dokazani na prevenciju leukemije, karcinoma debelog crijeva i dojke (Sidor i sur., 2019).

Dijabetes je brzo rastuća bolest koja zahvaća najveći dio svjetske populacije. Najčešći simptomi bolesti su povećana žeđ i glad te učestalo mokrenje. Zdravstvene komplikacije uzrokovane dijabetesom mogu biti sljepoća, bolest bubrega, koronarna bolest srca, amputacija udova, moždani udar te problemi tijekom trudnoće. Dijabetes (diabetes mellitus) se može podijeliti na dijabetes tipa 1, dijabetes tipa 2 i gestacijski dijabetes (trudnički dijabetes). Kod dijabetesa tipa 1 inzulin nije prisutan u krvi zbog nemogućnosti tijela da proizvede inzulin. Ta nemogućnost se događa zbog oštećenja Langerhansovih otočića u gušterači koji su odgovorni za proizvodnju inzulina. Poremećaj funkcije gušterače se javlja kao autoimuna reakcija gdje imunološki sustav ne prepoznaje tkivo gušterače i proizvodi specijalizirane imunoproteine koji uništavaju „strano“ tkivo. Dijabetes tipa 2 započinje pojavom inzulinske rezistencije, a čimbenici koji utječu na njegovu pojavu su pretilost, nedostatak tjelesne aktivnosti, sjedilački način života, neuravnotežena i prehrana bogata zasićenim mastima. Ovaj tip dijabetesa javlja se kod starijih osoba i čini oko 90 % ukupnih dijagnoza dijabetesa (Colberg i sur., 2016; Hraste i sur., 2020). Umjerena fizička aktivnost, kontrola tjelesne mase te zdrava i uravnotežena prehrana čimbenici su koji mogu spriječiti

nastanak dijabetesa tipa 2 (Hraste i sur., 2020). Epidemiološkim istraživanjima utvrđeno je kako polifenoli imaju zaštitni učinak na dijabetes tipa 2 tako što snižavaju glukozu u krvi i glikolizirani hemoglobin te sprječavaju inzulinsku rezistenciju (Belojević, 2023).

Regulacija razine glukoze u krvi može se postići inhibicijom enzima α -amilaze i α -glukozidaze. Ovi enzimi su ključni za probavu škroba (Sun i Miao, 2020). α -amilaza je enzim koji hidrolizira α -(1 \rightarrow 4) glikozidne veze kod škroba, amiloze, amilopektina, glikogena i drugih maltooligosaharida stvarajući produkte niske molekulske mase kao što su glukoza, maltoza i maltotrioza. α -glukozidaza katalizira hidrolizu nereducirajućih jedinica glukoze povezanih α -(1 \rightarrow 4) glikozidnim vezama kod disaharida ili oligosaharida. Dosadašnjim istraživanjima utvrđeno je kako polifenoli imaju potencijal inhibicije spomenutih enzima (Ćorković i sur., 2022). Inhibicijom tih enzima postiže se smanjenje energetske vrijednosti hrane zbog smanjenja njene dostupnosti i produženja procesa probave što posljedično dovodi do smanjenja tjelesne mase (Worsztynowicz i sur., 2014). Antocijanini iz aronije imaju pozitivan utjecaj na smanjenje razine glukoze u krvi zbog mogućnosti inhibicije enzima α -glukozidaze. Cijanidin-3-arabinozid ima veliku inhibicijsku aktivnost prema ovom enzimu te se smatra kako je zajedno s proantocijanidinima iz aronije odgovoran za prevenciju dijabetesa (Kaloudi i sur., 2022). Worsztynowicz i sur. (2014) istraživali su utjecaj ekstrakta aronije na aktivnost α -amilaze i lipaze. Rezultati su utvrdili da i antocijanini i ostali polifenoli inhibiraju reakcije koje su katalizirane α -amilazom i lipazom. Najefikasniji inhibitor α -amilaze bila je neoklorogenska kiselina s $IC_{50} = 0,57$ mg/mL. Iz grupe antocijanina, cijanidin-3-glukozid je bio najbolji inhibitor ispitivanog enzima s $IC_{50} = 1,74$ mg/mL. Haładyn i sur., (2021) ispitali su mogućnost inhibicije enzima α -amilaze i α -glukozidaze s liofiliziranim prahom aronije i koncentratom aronije. IC_{50} vrijednosti za inhibiciju α -amilaze bile su 0,94 mg/mL i 2,24 mg/mL za prah i za koncentrat aronije, dok su za α -glukozidazu bile 0,29 mg/mL i 1,24 mg/mL za prah i za koncentrat aronije.

Struktura inhibitora ima važnu ulogu u sposobnosti inhibicije α -amilaze (Lo Piparo i sur., 2008). Promjene u molekularnoj strukturi polifenola kao što su hidroksilacija, prisutnost nezasićenih veza, glikozilacija, metilacija, metoksilacija i galoilacija utječu također na inhibicijsku aktivnost. Hidroksilacija flavonoida, galoilacija katehina i prisutnost kafeoilne skupine poboljšava inhibicijsku aktivnost za α -amilazu i α -glukozidazu dok glikozilacija flavonoida uzrokuje smanjenje inhibicijske

aktivnosti za oba enzima. Polimerizacija proantocijanidina uzrokuje smanjenje inhibicijske aktivnosti za α -glukozidazu, ali poboljšava inhibicijsku aktivnost za α -amilazu (Ćorković i sur., 2022).

2.6. TVARI AROME

Kako bi prehrambeni proizvodi bili prihvaćeni od strane potrošača oni moraju osim osnovnih zahtjeva imati zadovoljavajuća organoleptička svojstva. Aromatski spojevi imaju važnu ulogu u senzorskim svojstvima proizvoda te utječu na kvalitetu konačnog proizvoda. Ti spojevi moraju difundirati iz proizvoda u plinovitu fazu i doći do mirisnog epitela kako bi se percipirali tijekom konzumacije proizvoda. Prisustvo drugih spojeva u matriksu hrane kao što su proteini, polisaharidi i masti, utječe na zadržavanje i percepciju arome (Tromelin i sur., 2010). Aromatski spojevi većinom su organski spojevi male molekulske mase (manje od 400 Da). Ti spojevi pripadaju skupinama kiselina, alkohola, aldehida, ketona, estera, dušikovih i sumpornih spojeva te ugljikovodika. Neke od njihovih glavnih karakteristika su osjetljivost na toplinu, svjetlost i kisik, visoka hlapljivost i niska točka vrenja (Zhang i sur., 2015).

Aroma je jedno od značajnijih karakteristika voća i predstavlja kombinaciju velikog broja spojeva različitih koncentracija i u različitim odnosima. S kemijske strane, aroma voća predstavlja rezultat prisutnosti hlapljivih komponenti, koje su odgovorne za miris, i nehlapljivih komponenti koje su odgovorne za okus. Biosinteza hlapljivih aromatskih spojeva je vrlo kompleksan proces koji se odvija preko nekoliko biokemijskih puteva kao što su razgradnja lipida, proteina i ugljikohidrata. Dalje te komponente podliježu reakcijama aciliranja, metiliranja, oksidacije/redukcije i ciklizacije (El Hadi i sur., 2013). Stvaranje aromatskih spojeva u voću započinje tijekom dozrijevanja, a karakteristična aroma se razvija na kraju zrenja. Mora se uzeti u obzir da se neki aromatski spojevi oslobađaju tek nakon razaranja stanične strukture tako da postoji razlika u analizi cjelovitog voćnog tkiva i onog koje je homogenizirano. Neki spojevi mogu biti vezani na šećere u obliku glikozida pa se osloboditi tijekom dozrijevanja, procesiranja, skladištenja ili pak pod utjecajem enzima, kiselina i topline (Sarry i Gunata, 2004; Reineccius, 2006). Kao i kod polifenola, tijekom proizvodnje, skladištenja, utjecaja materijala za pakiranje ili nekih drugih sastojaka u proizvodu može doći do gubitaka komponenti arome. Stabilnost komponenti arome varira prema različitim

funkcionalnim skupinama. Aldehidi su jedni od najreaktivnijih spojeva koji su posebno osjetljivi na oksidaciju u kiseline. Na stabilnost komponenti arome ovisi i sustav u kojem se nalaze. U tekućem sustavu, osim međusobno, komponente arome mogu reagirati i s otapalom. Problemi s nestabilnosti tih komponenti ogledaju se kroz moguće reakcije degradacije, oksidacije i preuređenja molekulske strukture. Čak i male promjene u količini i strukturi sastojaka arome mogu imati snažan učinak na kvalitetu proizvoda. Tijekom procesiranja hrane aromatske komponente mogu se izgubiti, ali može doći i do njihovog oslobađanja ili formiranja. Dva su glavna uzroka nestabilnosti komponenti arome tijekom obrade hrane. Prvi od njih je kemijska nestabilnost gdje se koncentracije komponenti arome smanjuju zbog degradacije u proizvodu ili reakcijama s komponentama hrane (proteinima, mastima i ugljikohidratima), a drugi je fizička nestabilnost, gdje komponente arome ostaju nepromijenjene, ali nestaju iz proizvoda djelovanjem isparavanja, migracije, apsorpcije i adsorpcije ili drugim fizičkim procesima. Tijekom procesiranja hrane važan utjecaj na stabilnost komponenti arome imaju temperatura i trajanje procesa, količina vlage u proizvodu te pH vrijednost proizvoda. Na trajnost proizvoda utječu unutarnji (aktivitet vode, pH vrijednost, struktura proizvoda) i vanjski čimbenici (uvjeti skladištenja kao što su temperatura, vrijeme, vlažnost, svjetlost, pakiranje) (Yang, 2012). Materijal za pakiranje može reagirati s komponentama arome i uzrokovati gubitak tipične arome proizvoda ili čak dovesti do stvaranja nepoželjne arome proizvoda (Sajilata et al., 2007; Yang, 2012). Kako bi se osigurala bolja stabilnost komponenti arome, često se primjenjuje njihova inkapsulacija (Astray i sur., 2010; Buljeta i sur., 2021a).

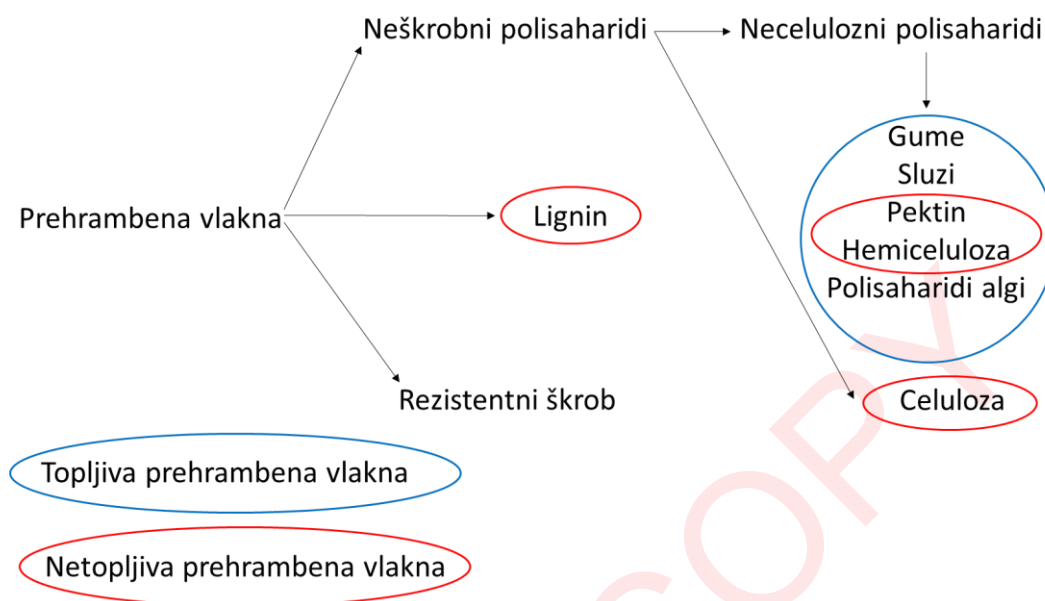
2.7. TVARI AROME U ARONIJI

Aronija kao i svako voće posjeduje karakterističnu aromu. Za gorko-bademast miris aronije odgovoran je amigdalinal. Taj spoj hidrolizom može osloboditi cijanovodik koji je vrlo otrovan, međutim količine amigdalinala u aroniji su vrlo male (20,1 mg/100 g), a u soku još niže (5,7 mg/100 g) (Lehmann, 1990). Istraživanja aromatskog profila odnosno hlapljivih spojeva aronije i njezinih proizvoda su vrlo oskudna. Prema istraživanju koje su proveli Romani i sur. (2016) u soku aronije pronađene su najveće količine 3-penten-2-ona (26,6 %), 1-heksanola (18,2 %) i 2-heksen-1-ola (11,1 %). Gledajući po kemijskim skupinama, u soku aronije bili su zastupljeni alkoholi (48,9 %), ketoni (30,3 %), kiseline (5,8 %), aldehidi (2,9 %), terpeni (0,6 %), hidrokarboni (0,2 %), esteri (0,3

%) i ostali (1,3 %) (Romani i sur., 2016). Nadalje, Hirvi i Honkanen (1985) identificirali su u soku aronije 48 spojeva među kojima su najznačajniji bili benzaldehid, cijanohidrin, cijanovodična kiselina, benzaldehid i serija derivata benzena (benzil alkohol, 2-feniletanol, metilbenzoat, fenilacetaldehid, salicilaldehid, itd.). Prema Dolezal i sur. (2003) najznačajniji spojevi u aroniji su benzaldehid, benzil alkohol i benzil esteri koji predstavljaju razgradne produkte aromatskih aminokiselina i cijanogenih prekursora (amigdalina). Također, izolirani spojevi u aroniji su produkti degradacije masnih kiselina (ravnolančani alkoholi, aldehidi, ketoni, esteri). Razlike u profilu hlapljivih komponenti u različitim istraživanjima mogu se pripisati razlikama u sortama aronije, klimatskim i geografskim razlikama, postupcima nakon berbe i tijekom skladištenja. U nekim istraživanjima viši udio alkohola može se pripisati početnoj fazi fermentacije u plodovima (Zhao, 2007).

2.8. PREHRAMBENA VLAKNA

Prema AACC-u definicija prehrambenih vlakana je: „Prehrambena vlakna su ostatci jestivih dijelova biljaka ili analozi ugljikohidrata koji su otporni na probavu i apsorpciju u tankom crijevu čovjeka, s potpunom ili djelomičnom fermentacijom u debelom crijevu“. Prehrambena vlakna dijele se na topljiva i netopljiva prehrambena vlakna (Maphosa i Jideani, 2015). Na **Slici 9** prikazana je podjela prehrambenih vlakana. Funkcija prehrambenih vlakana je osigurati čvrstoću strukture staničnih stijenki biljaka. U značajnim količinama, prehrambena vlakna nalaze se u žitaricama, voću i povrću kao i u njihovim ostacima. Izvor netopljivih prehrambenih vlakana su cjelovite žitarice, mekinje, orasi, sjemenke, kora voća, dok se u manjim količinama nalaze u voću, povrću i mahunarkama. Topljiva prehrambena vlakna u najvećim količinama se nalaze u voću (banana, bobičasto voće, jabuke, kruške), povrću (mrkva, brokula, luk), mahunarkama, zrnu riže, zobi i ječmu (Soliman, 2019). Prehrambena vlakna imaju pozitivan učinak na zdravlje ljudi te su zabilježeni njihovi mnogobrojni pozitivni učinci na smanjenu hipertenziju, hiperlipidemiju, pretilost, zatvor te dijabetes tipa 2 (Costa i sur., 2015). Netopljiva prehrambena vlakna posjeduju mogućnost vezanja velike količine vode te bubrenjem mogu povećati svoju masu do 15 puta. Zaslužna su za poticanje peristaltike crijeva i sprječavanje opstipacije. Topljiva prehrambena vlakna smanjuju postprandijalnu glikemiju i potrebu za inzulinom. Osim toga, smanjuju razinu ukupnog i LDL kolesterola u krvi i jetri (Mandić, 2014).



Slika 9 Podjela prehrambenih vlakana (Nosić, 2021)

Topljiva prehrambena vlakna lakše se fermentiraju crijevnim bakterijama od netopljivih i zbog toga imaju prebiotska svojstva te stvaraju kratkolančane masne kiseline. Te se kiseline u debelom crijevu lako apsorbiraju i dokazano je da one smanjuju sintezu kolesterola u jetri što uzrokuje smanjenje krvnog kolesterola i povećanje apsorpcije natrija i vode u stanice sluznice debelog crijeva. Kratkolančane masne kiseline povećavaju kiseli pH u okruženju u debelom crijevu što smanjuje topljivost slobodnih žučnih kiselina i povećava izlučivanje žuči te u isto vrijeme smanjuje pretvorbu slobodnih žučnih kiselina u sekundarne žučne kiseline koje su otrovnije (Soliman, 2019).

2.8.1. Citrus vlakna

Citrus vlakna su prirodna prehrambena vlakna koja se dobivaju ekstrakcijom iz kore citrusa (mandarine, naranče, limuna, limete) (Qi i sur., 2020). U usporedbi s vlaknima iz drugih izvora kao što su vlakna mrkve ili zobi, citrus vlakna imaju veći kapacitet zadržavanja vode, prividnu viskoznost i unutarnju površinu (Lundberg, 2005; Lundberg i sur., 2014). Osim toga, imaju neutralnu boju, okus i miris. Zbog takvih svojstava, imaju široku primjenu u prehrambenim proizvodima kao što su pekarski proizvodi, meso, mliječni proizvodi i umaci (Lundberg i sur., 2014).

Pektin čini najveći dio citrus vlakana, a prisutne su još celuloza i hemiceluloza. U istraživanju koje su proveli Lundberg i sur. (2014) citrus vlakna, dobivena iz pulpe naranče, sadržavala su oko 81 % ugljikohidrata od čega su pektin, celuloza i hemiceluloza činili 42 %, 16 % i 10 %. Pektin iz citrusa je visokoesterificiran, ali dozrijevanjem voća smanjuje se esterifikacija zbog enzimskih reakcija. Ista grupa autora je navela kako je pektin iz citrus vlakna imao oko 50 % galakturonske kiseline dok je drugi najzastupljeniji monosaharid bio arabinoza (Lundberg i sur., 2014).

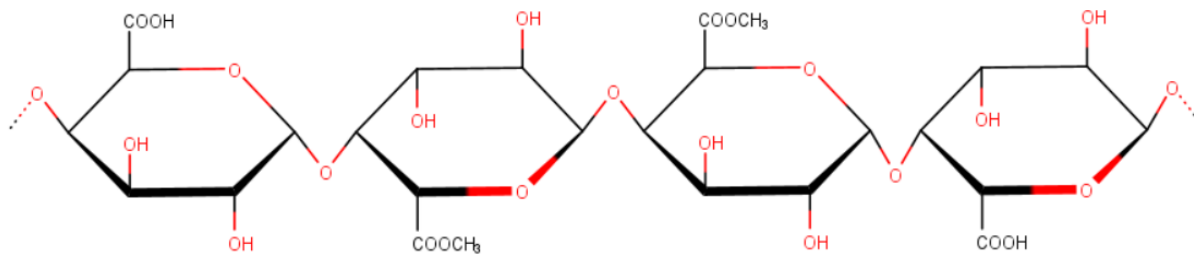
Otpad od citrusa najčešće se koristi za hranu za životinje ili se zbrinjava što predstavlja opterećenje za okoliš. Zbog visokovrijednih komponenti u kori, sjemenkama i komini citrusa, ovaj otpad smatra se potencijalnim materijalom za različite primjene u prehrambenoj i drugim industrijama. Spojevi koji se nalaze u otpadu citrusa mogu imati primjenu kao prehrambeni aditivi, prebiotici, izvori pektina, esencijalnih ulja, polifenola, karotenoida i prehrambenih vlakana. Također, može se koristiti kao prirodni sastojak za kozmetiku, lijekove, materijale za pakiranje i sintetička goriva (Suri i sur., 2022). Suri i sur. (2022) publicirali su opsežan pregledni rad na temu primjene otpada od citrusa. Kora citrusa je bogat izvor topljivih i netopljivih prehrambenih vlakana. Oko 85 % svjetske proizvodnje pektina je iz otpada kore citrusa. Svježa kora citrusa sadrži oko 1,5 % do 3 % pektina dok osušena kora sadrži 9 % do 18 % pektina (Suri i sur., 2022). Otpad naranče bogat prehrambenim vlaknima dodavan je u mafine kako bi se povećala količina prehrambenih vlakana, a smanjila količina masti. Utvrđen je i pad predviđenog glikemijskog indeksa u obogaćenom proizvodu (Romero-Lopez i sur., 2011). Pektin iz kore citrusa također se koristi kao emulgator, sredstvo za želiranje, stabilizator, zgušnjivač u džemovima i želeima. Kora citrusa se koristila za pripremi probiotičkih napitaka, sladoleda i drugih prehrambenih proizvoda (Suri i sur., 2022).

Pektin

Pektin se uglavnom sastoji od jedinica D-galakturonske kiseline povezanih α -1,4-glikozidnim vezama. Postoje tri osnovne strukture pektina: homogalakturonan, ramnogalakturonan I i supstituirani galakturonan, ksilogalakturonan i ramnogalakturonan II (Mohnen, 2008). Omjeri ovih polisaharida mogu varirati, ali je najveći udio homogalakturonana (oko 65 %), zatim ramnogalakturonana I (25-35 %) dok su ksilogalakturonan i ramnogalakturonan II najmanje zastupljeni (manje od 10 %) (Freitas i sur., 2020). Hidroksilne i karboksilne skupine pektina mogu

biti esterificirane (metil-esterificirane i/ili O-acetil-esterificirane). Prema postotku esterificiranih skupina određuje se stupanj esterifikacije. Stupanj esterifikacije određuje sposobnost želiranja pektina pa se tako razlikuju visokoesterificirani pektin (stupanj esterifikacije > 50 %) i nisko esterificirani pektin (stupanj esterifikacije < 50 %) (Robledo i sur., 2020). Osnovna struktura pektina prikazana je na **Slici 10**.

Pektin se nalazi u staničnim stijenjkama u središnjoj lameli te osigurava čvrstoću i otpornost biljnog tkiva (Robledo i sur., 2020). Što se tiče primjene pektina u prehrambenoj industriji, ona je jako široka. Visokoesterificirani pektin koristi se u industriji voća za pripremu želea i džemova (i drugih proizvoda) kao sredstvo za želiranje, zgušnjivač, stabilizator i emulgator. Nisko esterificirani pektin koristi se za sladolede, niskokalorične proizvode, zamjene za masti, itd. Pektin ima sposobnost modulacije crijevne mikrobiote i pozitivan utjecaj na distalni dio debelog crijeva te se stoga koristi kao prebiotik. Osim široke primjene u prehrambenoj industriji, pektin ima značajnu ulogu i u kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji (Marić i sur., 2018). Pektin ima primjenu kao materijal za pakiranje hrane. Utvrđeno je kako bioaktivni film pektina uzrokuje usporavanje oksidacije sojinog ulja tijekom skladištenja od mjesec dana (Rodsamran i sur., 2019).



Slika 10 Kemijska struktura pektina

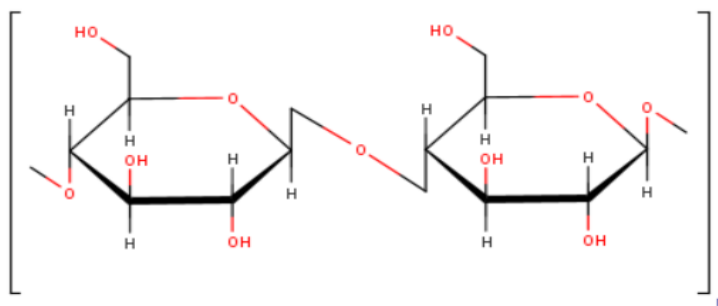
Celuloza

Celuloza (**Slika 11**) je nerazgranati prirodni polimer koji se sastoji od ponavljajućih dijelova D-anhidroglukopiranoze povezanih β -(1 \rightarrow 4) glikozidnim vezama. Ona je najzastupljeniji polisaharid u prirodi, a nalazi se u staničnim stijenjkama biljaka, drveću, algama, nekim vrstama bakterija, te kod plaštaša; jedinih životinja koje sadrže celulozu (Seddiqi i sur., 2021). Hidroksilne skupine prisutne u strukturi celuloze odgovorne su za snažne i složene intermolekularne vodikove veze.

Zbog prisutnosti mnogih OH skupina celuloza tvori intra- i intermolekularne vodikove veze. Intramolekularne vodikove veze odgovorne su za stabilizaciju glikozidnih veza dok su intermolekularne vodikove veze odgovorne za paralelno povezivanje celuloznih lanaca (Riseh i sur., 2024). Zbog tih molekularnih veza celuloza je netopljiva u većini otapala. Celuloza je uglavnom izgrađena od uređenih područja (kristalna struktura) koja su zaslužna za čvrstoću i neuređenih područja (amorfnu strukturu) koja su zaslužna za fleksibilnost (Zhang i sur., 2020).

Celuloza je sastavni dio staničnih stijenki i tkiva biljaka. Ona ima nekoliko važnih bioloških uloga u biljkama. Primarna uloga je mehanička odnosno daje čvrstoću staničnim stijenkama. Celuloza također ima ulogu i u rastu biljke, diferencijaciji stanica, međustaničnoj komunikaciji i kruženju vode. Primarna stanična stijenka je tanka, fleksibilna i visoko hidratizirana dok sekundarna stanična stijenka ima čvršću i jaču strukturu. Ove dvije stijenke su različite po svojoj funkciji te reološkim i mehaničkim svojstvima. Primarna stanična stijenka je izgrađena uglavnom od celuloze, pektina i ksiloglukana dok je sekundarna stijenka izgrađena od celuloze, lignina, ksilana i glukomanana (Riseh i sur., 2024).

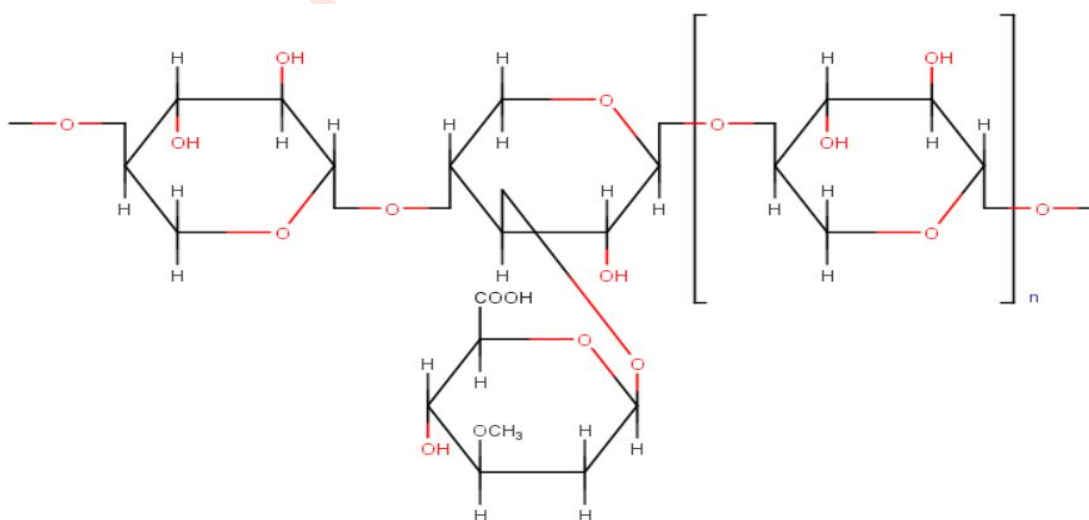
Karakteristike poput netoksičnosti, biorazgradivosti, biokompatibilnosti, niske cijene, visoke termičke stabilnosti, odličnih mehaničkih svojstava, čine ju visoko vrijednim materijalom za prehrambenu industriju (Zhang i sur., 2020). Zbog netopljivosti celuloze, u primjeni kao što je dostava lijekova češće se koriste derivati celuloze poput karboksimetil celuloze ili hidrokسيمetil celuloze. Osim za prehrambenu i farmaceutsku industriju, celuloza se koristi u kozmetičkoj industriji, industriji papira, odjeće, itd. (Riseh i sur., 2024).



Slika 11 Kemijska struktura celuloze

Hemiceluloza

Hemiceluloza (**Slika 12**) je drugi najzastupljeniji polisaharid u prirodi nakon celuloze. Manje je molekulske mase od celuloze te je razgranata. Glavna uloga hemiceluloze je jačanje staničnih stijenki biljaka kroz interakcije s celulozom (Scheller i Ulvskov, 2010). Hemiceluloza je vezana za celulozu vodikovim vezama i Van der Waals-ovim silama. Ona čini oko 20 % do 30 % ukupne mase jednogodišnjih i višegodišnjih biljaka. Hemiceluloza ima heterogeni sastav različitih jedinica šećera koji ovisi o vrsti biljke i procesu ekstrakcije (Spiridon i Popa, 2008). Njenu okosnicu čine molekule glukoze, manoze ili ksiloze međusobno povezane β -(1 \rightarrow 4) glikozidnim vezama. U njenu grupu mogu se ubrajati ksilan, ksiloglukan, manani i glukomanani (Scheller i Ulvskov, 2010). Od svih tipova hemiceluloze u biljnom svijetu najviše je zastupljen ksilan. On čini oko 25 % do 35 % suhe biomase drvenastog tkiva dvosupnica i lignificiranog tkiva jednosupnica, a u tkivu žitarica oko 50 %. Hemiceluloza se koristi za proizvodnju alkohola fermentacijom i sorbitola redukcijom koji imaju široku primjenu u različitim industrijama i proizvodima (prehrambena industrija, kozmetika, proizvodnja papira, paste za zube, proizvodnja eksploziva). Pentoze hemiceluloze koriste se za proizvodnju stočnog kvasca, furoične kiseline, ksiloze i ksilitola. Ksilo-oligosaharidi, produkti degradacije hemiceluloze, koriste se za pripremu funkcionalne hrane i u farmaciji (Huang i sur., 2021).



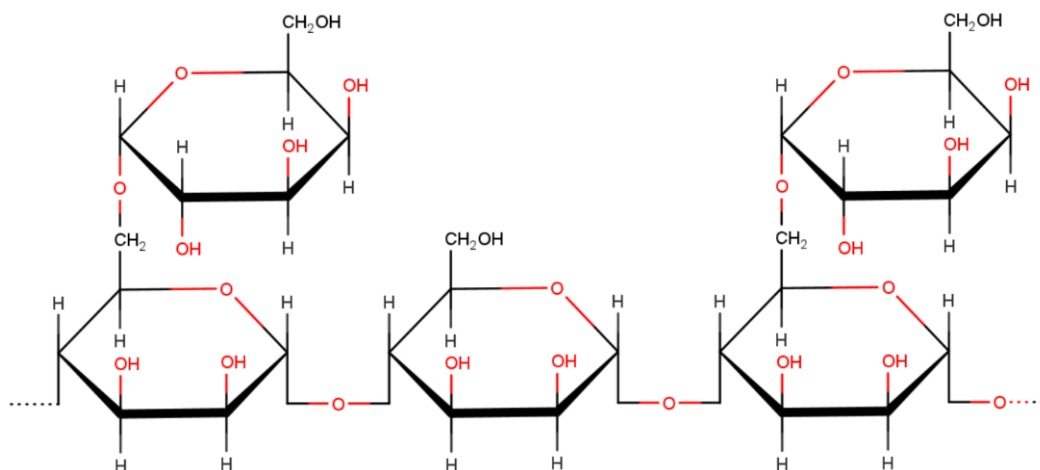
Slika 12 Kemijska struktura hemiceluloze

2.8.2. Gume

Na osnovu podrijetla, gume se mogu podijeliti na biljne, životinjske, iz gljiva i drugih mikrobnih izvora. Za primjenu se većinom koriste gume iz biljnih izvora. Gume i sluzi se formiraju u sekretornom dijelu biljnih stanica te nisu sastavni dio staničnih stijenki. Gume se izlučuju na mjestu ozljede biljke i izgrađene su od jedinica galaktoze povezane β -(1 \rightarrow 3) i β -(1 \rightarrow 6) vezama s bočnim lancima arabinoze, glukuronske kiseline, metil-glukuronske kiseline ili galaktoze. Gume se smatraju hidrofilnim organskim tvarima, ali se u glavnom ne otapaju u organskim otapalima. Obično su netoksične, te bez okusa i mirisa (Soliman, 2019; Elella i sur., 2020).

Guar guma

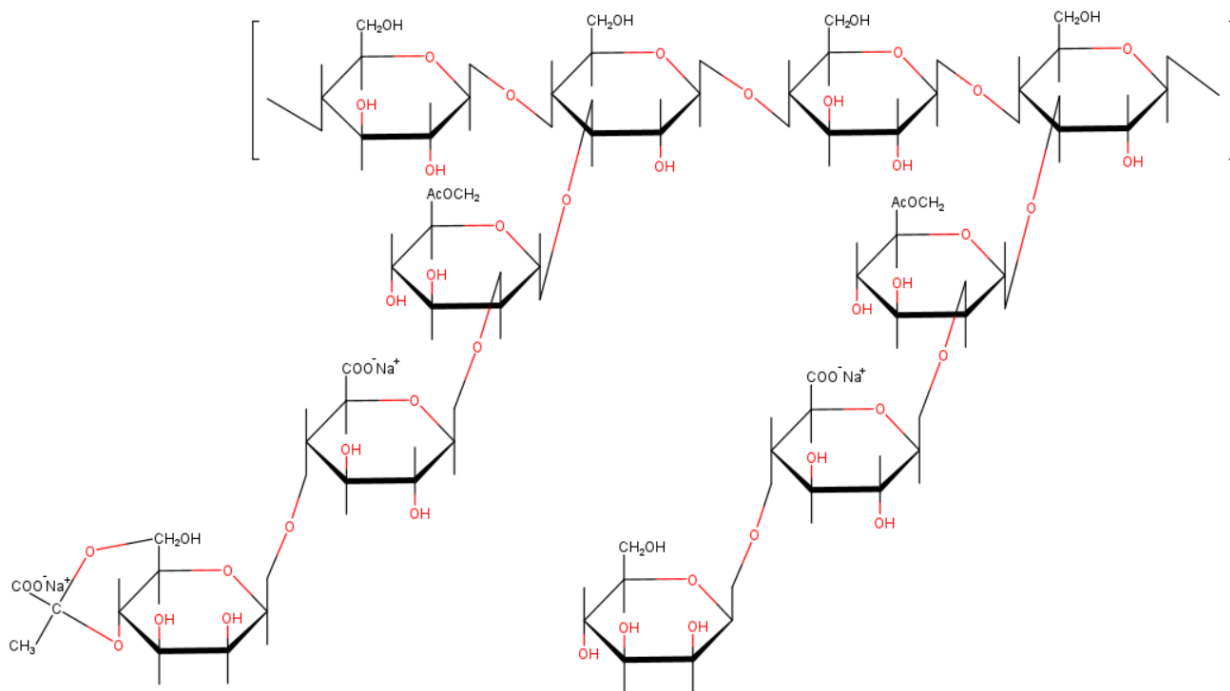
Guar guma (**Slika 13**) polimer je dobiven iz sjemenki mahunarke *Cyamopsis tetragonoloba*. Izgrađena je od polisaharida visoke molekulske mase (galaktomana) s linearnim lancima β -D-manopiranozilnih jedinica povezanih (1 \rightarrow 4) vezama i bočnim ograncima β -D-galaktopirozilnih ostataka povezanih (1 \rightarrow 6) vezama. Omjer D-manoze i D-galaktoze prema nekim istraživanjima je 2:1, dok je prema drugim istraživanjima u rasponu od 1,6:1 do 1,8:1 (Mudgil i sur., 2011). Guar guma otporna je na djelovanje probavnih enzima i probavu u gornjem dijelu probavnog sustava, što je čini pogodnim materijalom za inkapsulaciju (Haładyn i sur., 2021). Topljiva je u vodi, a u prehrambenim proizvodima koristi se kao stabilizator, zgušnjivač i emulgator. Osim toga, veže vodu i sprječava nastajanje kristala leda u smrznutom stanju proizvoda. Koristi se kao prehrambeni aditiv u sladoledima, umacima, smjesama za kolače, sirnim namazima, voćnim napitcima i preljevima u količini većinom manjoj od 1 %. Guar guma bubri i/ili se otapa u polarnim otapalima i stvara jake vodikove veze, dok u nepolarnim otapalima stvara slabe vodikove veze. Brzina otapanja i viskoznost guar gume povećava se sa smanjenjem veličine čestica, smanjenjem pH vrijednosti i povećanjem temperature. Prisutnost otopljenih soli i drugih tvari koje vežu vodu (npr. saharoza) smanjuje hidrataciju (Mudgil i sur., 2011).



Slika 13 Kemijska struktura guar gume

Ksantan guma

Ksantan guma (**Slika 14**) prirodna je guma dobivena pomoću Gram-negativne bakterije *Xanthomonas campestris* koja koristi kisik kao hranjivu tvar za rast i proizvodnju ksantan gume. Ima prirodnu anionsku strukturu sastavljenu od ponavljajuće jedinice iz pentasaharida koji ima D-glukoza, D-manozu i D-glukuronsku kiselinu u molarnom omjeru 2:2:1. Okosnicu uglavnom čini β -(1 \rightarrow 4)-D-glukoza koja nalikuje lancu celuloze dok su bočni lanci formirani od β -D-manoze s D-glukuronskom kiselinom preko β -(1 \rightarrow 4) povezanih s D-manozom preko α -(1 \rightarrow 2). Poslije dekstrana, to je drugi mikrobn polisaharid koji je široko prihvaćen za komercijalnu upotrebu. Ovaj materijal nije toksičan te ima sposobnost za rast stanica. Obično se u prehrambenim proizvodima koristi kao stabilizator, zgušnjivač i emulgator zbog svoje visoke viskoznosti čak i u niskim koncentracijama. Ima dobru stabilnost u visoko kiselom mediju i jako dobru topljivost u vrućoj i hladnoj vodi. Modifikacijom reaktivnih funkcionalnih hidroksilnih i karboksilnih skupina mogu se eliminirati neki nedostaci kao što su niska površinska napetost i loša toplinska stabilnost čime se povećava primjena ovog materijala. Osim u prehrambenoj industriji, koristi se u medicini, poljoprivredi, industriji ulja, tretiranju vode, biomedicinskom inženjerstvu (Eiella i sur., 2020).



Slika 14 Kemijska struktura ksantan gume

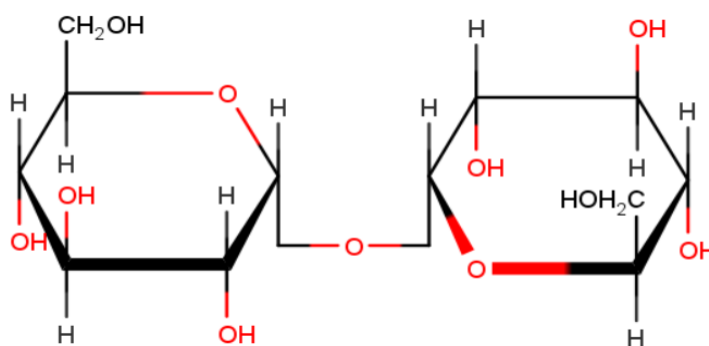
2.9. DISAHARIDI

Disaharidi su skupina ugljikohidrata koja je izgrađena od dvije molekule monosaharida međusobno povezanih α ili β glikozidnom vezom. Uobičajena glikozidna veza kojom se vežu monosaharidi je *O*-glikozidna veza u kojoj se kisik iz hidroksilne grupe veže za karbonilni ugljik. Najpoznatiji predstavnici disaharida su saharoza, laktoza i maltoza. Disaharidi mogu biti reducirajući (imaju slobodnu karbonilnu skupinu) ili nereducirajući. Kod nereducirajućih disaharida, monosaharidi su povezani preko odgovarajućih anomernih središta te karbonilne grupe nisu dostupne za reakciju (Stylianopoulos, 2013). Disaharidi osim što su prirodno prisutni u nekim prehrambenim proizvodima, dodaju se u prehrambene proizvode kao zaslađivači, konzervansi, ali i za stabilizaciju (Olsson i Swenson, 2020).

2.9.1. Trehaloza

Trehaloza (α -D-glukopiranozil α -D glukopiranozid) je disaharid koji se sastoji od dvije molekule D-glukoze koje su povezane α , α -1,1 glikozidnom vezom (**Slika 15**). Molekulska formula trehaloze je

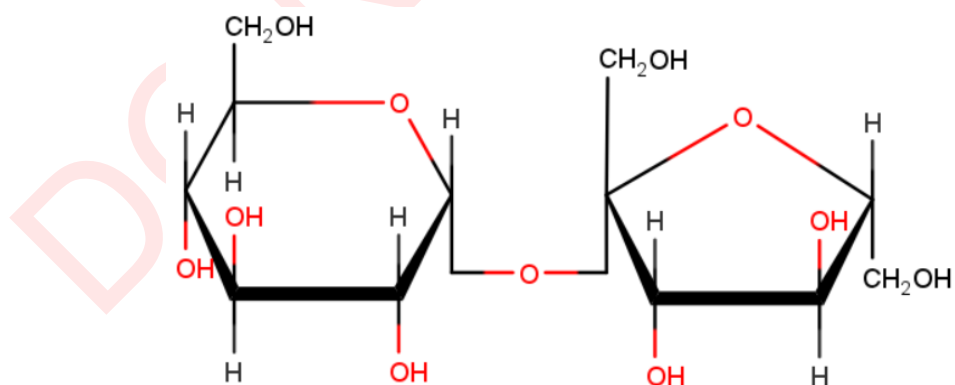
$C_{12}H_{22}O_{11}$, a molekulska masa 342,3 g/mol. Trehaloza je nereducirajući šećer široko rasprostranjen u prirodi. U većini živućih organizama predstavlja izvor energije, a može se naći u bakterijama, insektima, biljkama, gljivicama i beskičmenjacima. Njena zastupljenost u gljivama je od 10 % do 25 % na suhu tvar. U hemolimfima nekih kvasaca, trehaloza čini od 80 % do 90 % šećera. Relativna slatkoća trehaloze je 45 % slatkoće saharoze. Nadalje, trehaloza je jedan od najstabilnijih saharida te ima visoku termostabilnost i stabilnost u širokom pH rasponu. Zagrijavanje otopine trehaloze (4 %-tna) na 100 °C tijekom 24 sata u rasponu pH od 3,5 do 10 nije uzrokovalo njenu degradaciju. Talište trehaloze je na 97 °C, a topljivost joj je 68,9 g/100 g vode na 20 °C (Higashiyama, 2002). Trehaloza ima stabilizirajući učinak u živim organizmima tijekom zamrzavanja-odmrzavanja, zagrijavanja-hlađenja te dehidracije-rehidracije. U usporedbi s drugim oligosaharidima, trehaloza ima najveću mogućnost hidratacije. Tijekom sušenja, trehaloza štiti lipide i proteine membrana. Zbog svojih posebnih svojstava, trehaloza je pogodna za primjenu u industriji (prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj). S obzirom na to da je to nereducirajući šećer, ne podliježe Maillard-ovim reakcijama posmeđivanja. Koristi se kao dodatak za napitke, punila, slatkiše kaše, energetske pločice, itd. (Higashiyama, 2002; Kopjar i sur, 2008). Osim α , α izomera trehaloze koji potječe iz prirodnih izvora postoje i dva sintetska izomera trehaloze a to su neotrehaloza (α , β) i izotrehaloza (β , β). Trehalaza je enzim koji razgrađuje trehalozu. Iako u sisavcima trehaloza nije pronađena, enzim trehalaza je pronađen u tankom crijevu i drugim organima. Izvori trehaloze u prehrani su pivski i pekarski kvasac, med, komercionalno uzgajane gljive, suncokret, jastog itd. (Richards i sur., 2002).



Slika 15 Kemijska struktura trehaloze

2.9.2. Saharoza

Saharoza (β -D-fruktofuranozil- α -D-glukopiranozid) je disaharid molekulske formule $C_{12}H_{22}O_{11}$ i molekulske mase 342,3 g/mol. Izgrađena je od molekule glukoze i fruktoze čije su hidroksilne skupine povezane glikozidnom vezom u obliku etera što saharozu čini nereducirajućim šećerom (Slika 16). Ovaj šećer široko je rasprostranjen u biljnom svijetu, a nalazi se u staničnom soku različitih biljaka. U biljkama služi kao molekula za transport i skladištenje te se uglavnom sintetizira u listovima biljaka. U najvećim količinama se proizvodi iz šećerne repe i šećerne trske. Kristalna saharoza (konzumni šećer) glavno je sladilo u ljudskoj prehrani s visokom energetsom vrijednošću (1672 J/100 g). Konzumacija saharoze dovodi do brzog povećanja glukoze u krvi. Smatra se kako je povećana količina saharoze povezana sa zdravstvenim problemima kao što su karijes, pretilost, dijabetes tipa 2 i kardiovaskularne bolesti (Tian i sur., 2019). Saharoza kristalizira u monoklinskom sustavu i daje hemimorfne kristale. Kristal saharoze složene je strukture i sastoji se od šest kristalografskih oblika. Saharoza je dobro topljiva u vodi, a netopljiva u većini organskih otapala (Stick, 2001). U prehrambenim proizvodima, saharoza osim funkcije zaslađivača ima ulogu u formiranju teksture proizvoda. U pekarskoj industriji, saharoza doprinosi stvaranju boje proizvoda, zadržava vlagu, omogućuje dizanje tijesta, itd. (Clarke, 1995).



Slika 16 Kemijska struktura saharoze

2.10. INKAPSULACIJA

Inkorporacija bioaktivnih komponenti u nove proizvode ili u već postojeće proizvode često je otežana zbog njihove slabe topljivosti, mogućnosti degradacije, nepoželjnih aromatskih profila, niske biodostupnosti ili ograničene bioaktivnosti. Kako bi se spriječile te pojave, formiraju se tzv. *delivery systems* spojeva s aktivnim djelovanjem kao što su vitamini, lijekovi, nutrijenti, antioksidansi, boje, arome, itd. Prilikom formiranja takvih sustava potrebno je karakterizirati i analizirati komponente s aktivnim djelovanjem. Važni čimbenici u toj karakterizaciji su molekularne i fizikalno-kemijske karakteristike, karakteristike topljivosti i stabilnosti. Pod molekularne i fizikalno-kemijske karakteristike mogu se ubrajati kemijska struktura, molekulska masa, gustoća, topljivost, vrelište, talište, itd. Kada je riječ o karakteristikama topljivosti one se odnose na odabir najprikladnijeg otapala za pojedinu komponentu, maksimalnu količinu komponenti koje mogu biti inkorporirane u sustav te zadržavanje i preraspodjelu komponenti u sustavu. Topljivost komponente može se promijeniti u ovisnosti o promjenama u okolišnim uvjetima kao što je pH, temperatura te sastav sustava. Karakteristike stabilnosti uključuju glavne čimbenike koji mogu uzrokovati degradaciju komponenti te uvjete pri kojima su komponente stabilne. Čimbenici koji uzrokuju degradaciju komponenti ovise o kemijskim skupinama prisutnim u komponentama i formiranom sustavu, a neki od njih su pH, temperatura, koncentracije kisika, izloženost svjetlosti i prisutnost prooksidanasa. Degradacija mnogih komponenti ovisi o pH vrijednosti otapala, odnosno o koncentraciji H^+ i OH^- iona. Za komponente koje su osjetljive na promjene pH vrijednosti nije poželjno izlagati ih pH uvjetima koji potiču degradaciju. Stupanj degradacije se povećava s povećanjem temperature kod većine komponenti. Promjene u temperaturi mogu dovesti do fizikalnih promjena komponenti kao što su promjene u konformaciji i fazni prijelazi te je zbog toga potrebno ne izlagati komponente temperaturama koje uzrokuju degradaciju. Za komponente koje su osjetljive na oksidaciju, razina kisika često se smanjuje korištenjem vakuuma, dušika ili drugih kemijskih reagensa. Prisutnost prooksidanasa kao što su prijelazni metali, hidroperoksidi i enzimi čak i u niskim koncentracijama može dovesti do oksidacije. Neke komponente imaju funkcionalne skupine koje su sklone degradaciji uzrokovanoj pojedinim valnim duljinama UV-Vis svjetla. Takve komponente bi trebalo skladištiti bez izlaganja svjetlosti (McClements, 2017).

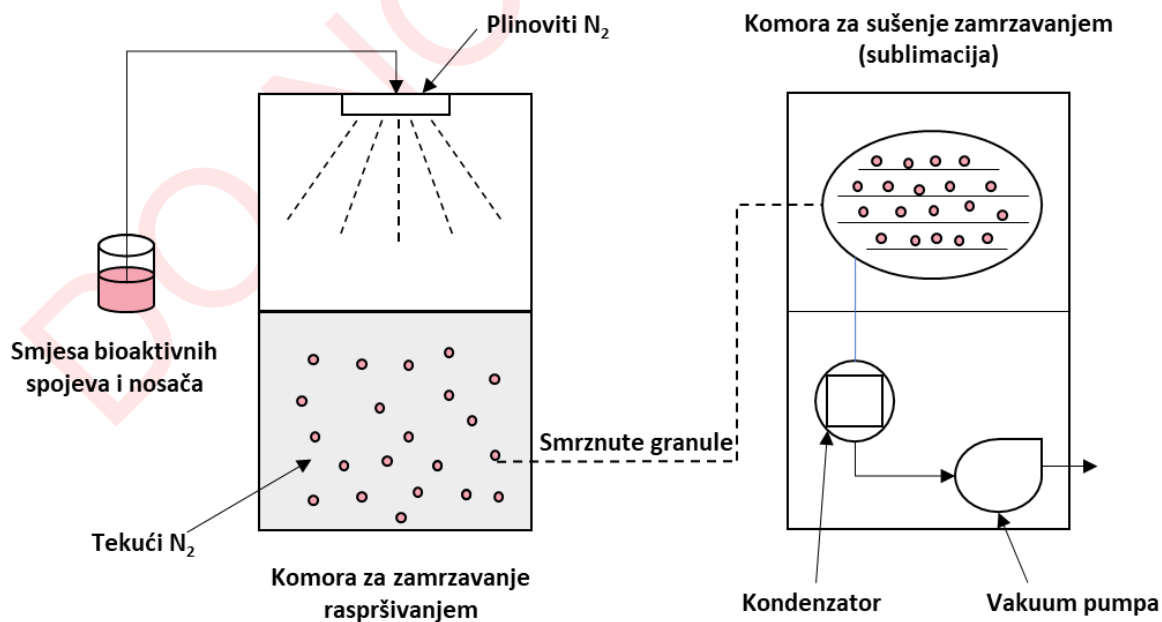
Prethodno spomenuti *delivery systems* formiraju se procesom inkapsulacije. Inkapsulacija je proces u kojem se neki aktivni spoj ili smjesa spojeva oblaže ili hvata u drugi materijal koji služi kao zaštitni zid ili omotač (Madene i sur., 2006). Time se omogućuje izolacija i kontrolirano otpuštanje tih spojeva. Kao nosači bioaktivnih spojeva većinom se koriste polisaharidi, proteini i lipidi ili njihove kombinacije (Ballesteros i sur., 2017). Odabir materijala nosača ovisi o njegovoj prirodi, primjeni konačnog proizvoda i odabiru metode inkapsulacije (Saifullah i sur., 2019). Materijali koji se koriste za inkapsulaciju moraju biti biorazgradivi i jestivi (eng. *food-grade*) (Ramírez i sur., 2015). Na taj način postiže se očuvanje svojstava bioaktivnih spojeva na duži period jer nosač predstavlja barijeru za kisik i vlagu (Ballesteros i sur., 2017). Inkapsulacijom polifenola se osim stabilnosti postiže i ublažavanje nepoželjnih mirisa i okusa, kontrolirano otpuštanje i poboljšana topljivost u vodi (Malapert i sur., 2019). Poznate su različite tehnike inkapsulacije te se primjenjuju ovisno o nosaču, željenoj veličini čestica, kemijskoj strukturi polifenola i osjetljivosti na visoke temperature (Wilkowska i sur., 2016a). Te tehnike su: sušenje smrzavanjem, sušenje raspršivanjem, ekstruzija, oblaganje u fluidiziranom sloju, hlađenje raspršivanjem, vakuumsko sušenje, kokristalizacija, nanoinkapsulacija, emulgiranje, molekulska inkluzija, itd. (Ramírez i sur., 2015).

2.10.1. Sušenje smrzavanjem (liofilizacija)

Sušenje utječe na izgled i kemijski sastav proizvoda. Također, ono utječe na produljenje roka trajanja nekog proizvoda te inhibira enzimsku razgradnju i rast mikroorganizama. Odgovarajućim odabirom metode sušenja kao i procesnih uvjeta, postižu se minimalne promjene u izgledu hrane i maksimalno zadržavanje bioaktivnih spojeva (Wojdyło i sur., 2019).

Sušenje smrzavanjem (liofilizacija) često se koristi za inkapsulaciju bioaktivnih spojeva. Ovaj proces temelji se na fenomenu sublimacije te je pogodan za spojeve koji su osjetljivi na toplinu i skloni oksidaciji. Glavni nedostaci ovog procesa su visoka cijena, dugo trajanje procesa i nemogućnost kontinuiranog rada (Papoutsis i sur., 2018). Unatoč tim nedostacima često se koristi za dobivanje visokovrijednih proizvoda, a u znanstvenim istraživanjima se smatra standardnom metodom inkapsulacije (Bhatta i sur., 2020). Sušenje smrzavanjem uključuje kompletno zamrzavanje uzorka, sublimaciju leda (primarno sušenje) i desorpciju preostale (vezane) vode (sekundarno sušenje). U prvom koraku brzina smrzavanja određuje formiranje i veličinu kristala leda. Veliki kristali leda

nastaju sporom brzinom smrzavanja. Oni će lakše sublimirati i povećati stupanj primarnog sušenja. Što je smrzavanje brže, kristali leda su manji, a njihova ukupna površina veća i lakša sublimacija. U primarnom sušenju, temperatura police će se povećati korištenjem vakuuma. Važno je da temperatura uzorka ili proizvoda bude 2-3 °C ispod kritične temperature kako se ne bi narušila struktura proizvoda. Završna točka primarnog sušenja ključni je parametar koji se treba odrediti jer povećana temperatura (u sekundarnom sušenju) prije sublimacije svih kristala leda može narušiti kvalitetu konačnog proizvoda (Bhatta i sur., 2020). Na **Slici 17** grafički je prikazan proces liofilizacije. Uzorci odnosno prahovi koji se dobivaju liofilizacijom imaju strukturu poput „ljuskica“ ili onu nalik na „razbijeno staklo“. Razlog takve strukture bi mogao biti u niskoj temperaturi tijekom procesa i nedostatku sile koja bi razbila smrznutu tekućinu u kapljice. Morfologija površine prahova dobivenih liofilizacijom ovisi i o korištenom omotaču. Prahovi dobiveni kombinacijom maltodekstrina i proteina soje imali su poroznu strukturu sferičnog oblika dok prahovi s maltodekstrinom nisu imali poroznu strukturu. U konačnici veličina čestica liofiliziranih prahova ovisi o procesu mljevenja, a ne o procesu sušenja (Papoutsis i sur., 2018).



Slika 17 Grafički prikaz procesa liofilizacije (Grgić i sur., 2020; Buljeta i sur., 2022b)

2.10.2. Inkapsulacija polifenola i hlapljivih komponenti

Neka istraživanja pokazuju kako liofilizacija hrane bogate polifenolima uzrokuje povećanje količine polifenola jer dolazi do njihovog otpuštanja iz matriksa dok suprotno tome može doći i do degradacije polifenola zbog povećane aktivacije enzima kao što je polifenol oksidaza i peroksidaza. Istraživanja od Wilkowska i sur. (2016a) i Ballesteros i sur. (2017) rezultirala su boljim učinkom liofilizacije na zadržavanje polifenola u uzorcima od sušenja raspršivanjem. Također inkapsulirani polifenoli crnog ribiza primjenom liofilizacije i sušenja raspršivanjem s proteinima sirutke kao nosačem korišteni su za obogaćivanje kolača. Kolači obogaćeni s liofiliziranim inkapsulatima imali su viši sadržaj polifenola od onih pripremljenih s inkapsulatima dobivenim sušenjem raspršivanjem (Wu i sur., 2021). Neka istraživanja rezultirala su boljim učinkom sušenja raspršivanjem na zadržavanje polifenola što bi značilo da odabir metode inkapsulacije ovisi o sastavu bioaktivnih spojeva i materijalu koji se inkapsulira. Saikia i sur. (2015) lošiju efikasnost sušenja raspršivanjem u odnosu na liofilizaciju objašnjavaju većom površinom raspršenih kapljica i mogućem utjecaju visoke temperature na degradaciju polifenola.

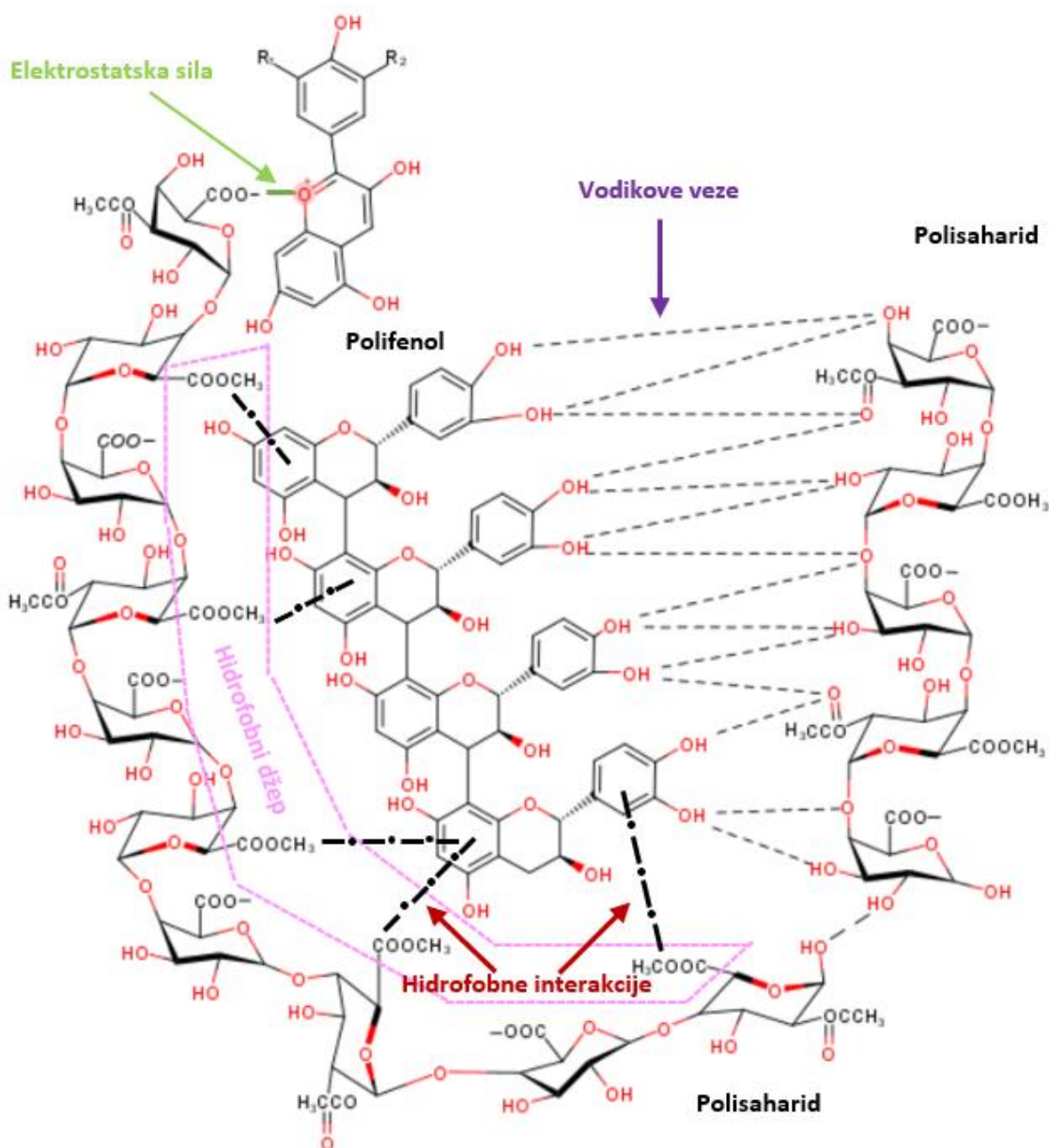
Kao što se inkapsuliraju polifenoli tako i hlapljive komponente mogu biti inkapsulirane kako bi se omogućilo njihovo zadržavanje i kontrolirano otpuštanje. Polisaharidi se često koriste kao nosači hlapljivih komponenti, a uočeno je povećano zadržavanje hlapljivih komponenti (iz iste skupine) s većom molekularnom masom dok se oni s višom hlapljivošću i polarnosti slabije zadržavaju. Prisustvo polisaharida u hrani utječe na ukupnu aromu proizvoda zbog vezanja hlapljivih komponenti i disbalansa u aromatskom profilu. Prilikom pripreme novih proizvoda bitno je poznavati interakcije koje se događaju između pojedinih komponenti hrane kao i mehanizme otpuštanja hlapljivih spojeva.

Inovacije u prehrambenoj industriji sve više su usmjerene na zamjenu sintetskih aditiva zbog njihovog nepoželjnog utjecaja na ljudsko zdravlje. Osviještenost ljudi o zdravlju i zdravoj prehrani, doprinijela je razvoju prirodnih funkcionalnih sastojaka i proizvoda. Inkapsulirani spojevi, kao što su polifenoli i hlapljive komponente, mogu se koristiti kao bioaktivni dodaci hrani. Ovisno o inkapsuliranim spojevima, novi dodaci inkorporirani u prehrambeni proizvod mogu imati ulogu

antioksidanasa, bojila, poboljšivača okusa, itd. (Mayer i sur., 2022). Širok je spektar primjene novih bioaktivnih dodataka hrani. U prehrambenoj industriji oni se mogu dodavati u tople napitke, bezalkoholna pića, jogurte, umake, žitarice za doručak, energetske pločice, kruh i drugo (McClements, 2017).

2.10.3. Interakcije polifenola i hlapljivih komponenti s prehrambenim vlaknima

Prehrambena vlakna i polifenoli su se uglavnom proučavali odvojeno, ali u novijim istraživanjima ističe se njihovo zajedničko djelovanje i pozitivan učinak na zdravlje ljudi. Bitna karakteristika prehrambenih vlakna je to da oni imaju sposobnost da vežu polifenole i „nose“ ih u niže dijelove probavnog sustava. Vezanje polifenola na/u prehrambena vlakna ovisi o različitim čimbenicima kao što su kemijska struktura, koncentracija polifenola i prehrambenih vlakana te okolišni uvjeti (pH, temperatura, prisutnost drugih komponenti) (Zhu, 2017). Prema podacima iz literature, polifenoli i prehrambena vlakna mogu stvarati međusobne interakcije. Te interakcije se većinom odvijaju preko nekovalentnih veza kao što su vodikove veze, hidrofobne interakcije i Van der Waals-ove sile (**Slika 18**) (Liu i sur., 2020). Proučavanjem interakcija između pektina i antocijanina (cijanidin-3-glukozid i delphinidin-3-glukozid) utvrđene su slabe interakcije koje se vjerojatno odvijaju preko vodikovih veza i hidrofobnih interakcija. Delphinidin-3-glukozid u svojoj strukturi ima pirogalolnu skupinu s tri hidroksilne skupine dok cijanidin-3-glukozid ima kateholnu skupinu s dvije hidroksilne skupine. Pretpostavlja se kako je broj hidroksilnih skupina odgovoran za bolje vezanje delphinidin-3-glukozida s pektinom (Fernandes i sur., 2014). Interakcije između pektina i fenolnih kiselina (galna, klorogenska, vanilinska i protokatehuinska kiselina) odvijaju se preko vodikovih veza, a hidroksilna skupina na poziciji pet kod galne kiseline pokazala se ključnom za interakcije s pektinom. Nedostatak hidroksilne skupine na toj poziciji kod protokatehuinske kiseline može biti razlog najmanjeg vezanja na pektin (Domínguez Avila et al., 2017). Phan i sur. (2015) istraživali su interakcije celuloze i odabranih polifenola (galna kiselina, klorogenska kiselina, ferulična kiselina, cijanidin-3-glukozid i (±)-katehin). Utvrđeno je kako se polifenoli s višom molekulskom masom više vežu na celulozu od onih s manjom molekulskom masom. Vodikove veze i hidrofobne interakcije ovise o broju aromatskih prstenova i hidroksilnih skupina u strukturi polifenola (Phan i sur., 2015).



Slika 18 Mogući mehanizmi interakcije polifenola i polisaharida (Liu i sur., 2020)

Braudo i sur. (2000) istraživali su interakcije hlapljivih komponenti hrane (2-acetil piridin, 2-acetil tiofen, 2,3-dietilpirazin i 2-oktanon) s pektinom i pretpostavili su kako se vezanje heterocikličkih aromatskih spojeva u kiselom mediju odvija preko vodikovih veza između aromatskog prstena hlapljivih komponenti i vodikovih atoma na karboksilnim skupinama pektina. U neutralnom mediju, vezanje 2-oktanona na pektin se odvija Van der Waalsovima silama. U jednom istraživanju

dodatak guar gume i karboksimetil celuloze smanjili su hlapljivost visoko-hlapljivih nepolarnih molekula (α -pinen, 1,8-cineol, etil-2-metilbutirat) dok na manje hlapljive komponente (2-metoksi-3-metilpirazin, vanilin, metil antranilat i maltol diol) nisu imali utjecaj (Preininger, 2005). U modelnoj otopini hlapljivih komponenti, dodatak guar gume i karboksimetil celuloze smanjio je otpuštanje limonena, heksanala, dimetil sulfida, etilbenzena, etilsulfida, heksanona i stirena (Jouquand i sur., 2008).

DO NOT COPY

DO NOT COPY

3. EKSPERIMENTALNI DIO

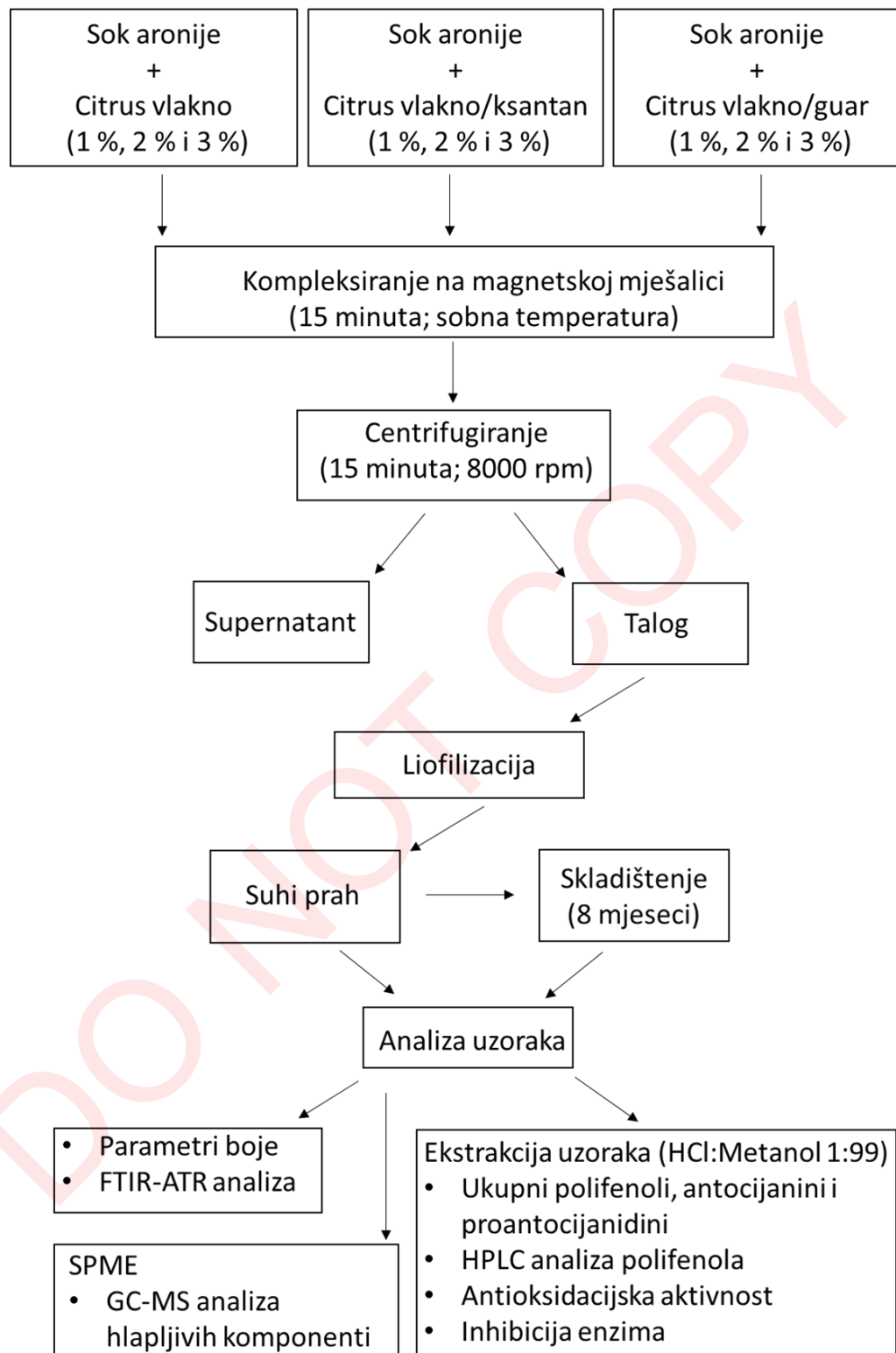
3.1. ZADATAK RADA

Zadatak ovog rada bio je podijeljen u dva dijela. Prvi dio obuhvaćao je pripremu bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana ili citrus vlakana/guara sa sokom aronije te njihovu karakterizaciju. Drugi dio rada obuhvaćao je pripremu bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije i disaharidima te njihovu karakterizaciju.

Zadatak rada prvog dijela istraživanja bio je:

- pripremiti bioaktivne dodatke hrani na bazi vlakana i soka aronije,
- ispitati mogućnost primjene citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara kao nosača polifenola i hlapljivih spojeva soka aronije,
- ispitati utjecaj količine vlakana na vezanje polifenola i hlapljivih spojeva soka aronije,
- ispitati antioksidacijsku aktivnost pripremljenih kompleksa i mogućnost inhibicije enzima (α -amilaze i α -glukozidaze),
- ispitati stabilnost bioaktivnih dodataka hrani nakon skladištenja na sobnoj temperaturi u trajanju od osam mjeseci,
- odrediti promjene IR spektra u kompleksima;
- odrediti parametre boje dobivenih kompleksa.

Na **Slici 19** grafički je prikazan tijek eksperimenta prvog dijela istraživanja.

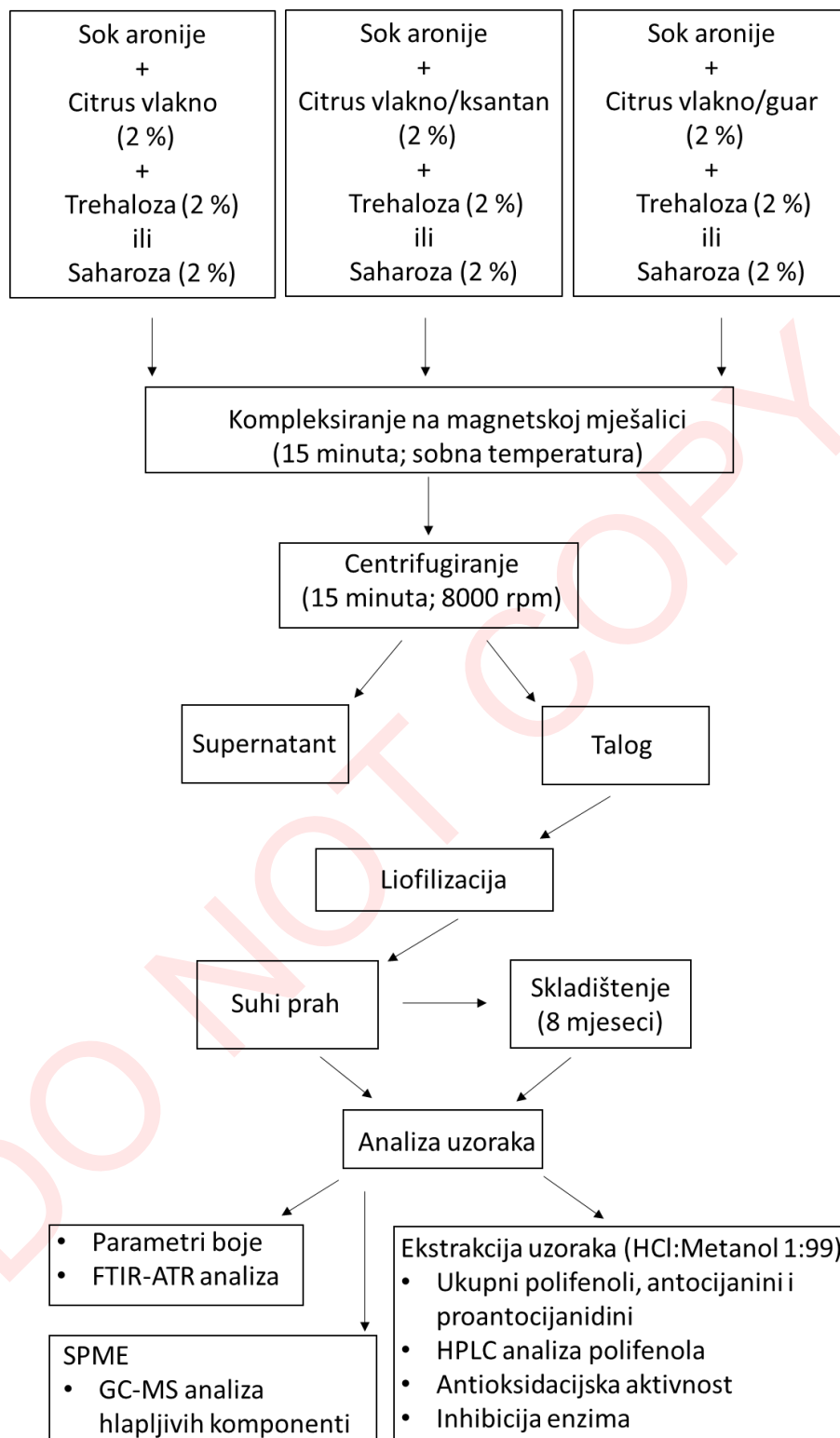


Slika 19 Grafički prikaz tijeka prvog dijela eksperimenta

Zadatak rada drugog dijela istraživanja bio je:

- pripremiti bioaktivne dodatke hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana ili citrus vlakana/guara sa sokom aronije i disaharidima,
- ispitati utjecaj dodatka disaharida (saharoza i trehaloza) prilikom pripreme kompleksa na vezanje polifenola i hlapljivih spojeva soka aronije na nosače,
- ispitati antioksidacijsku aktivnost pripremljenih kompleksa i mogućnost inhibicije enzima (α -amilaze i α -glukozidaze),
- ispitati stabilnost bioaktivnih dodataka hrani nakon skladištenja na sobnoj temperaturi u trajanju od osam mjeseci,
- odrediti promjene IR spektra u kompleksima;
- odrediti parametre boje dobivenih kompleksa.

Na **Slici 20** grafički je prikazan tijek eksperimenta drugog dijela istraživanja.



Slika 20 Grafički prikaz tijeka drugog dijela eksperimenta

Hipoteze istraživanja:

- prehrambena vlakna (citrus vlakna, citrus vlakna/guar guma i citrus vlakna/ksantan) imaju sposobnost vezanja polifenola i hlapljivih spojeva soka aronije,
- dodatak disaharida (saharoza i trehaloza) i različita količina nosača tijekom pripreme kompleksa imaju utjecaj na vezanje polifenola i hlapljivih spojeva soka aronije,
- dobiveni kompleksi imaju sposobnost inhibicije enzima α -amilaze i α -glukozidaze,
- dobiveni kompleksi posjeduju antioksidacijsku aktivnost,
- skladištenje na sobnoj temperaturi i izloženosti svjetlu uzrokovat će promjene liofiliziranih kompleksa.

Bioaktivni dodaci hrani analizirani u ovom istraživanju mogli bi se primijeniti u različitim granama prehrambene industrije kao što su mliječna industrija, pekarska industrija, industrija voća i povrća. Na **Slici 21** prikazane su moguće primjene novih bioaktivnih dodataka hrani u različite proizvode. Bioaktivni dodaci hrani na bazi citrus vlakana i bioaktivnih komponenti aronije mogli bi se koristiti za obogaćivanje kolača, keksa, slatkiša, smoothie-a, želea, itd. Novi proizvodi bili bi bogatiji prirodnim antioksidansima što bi potencijalno imalo pozitivno djelovanje na zdravlje ljudi. Privlačna crvena boja bioaktivnih dodataka utjecala bi i na boju konačnog proizvoda i njegovu prihvatljivost od strane potrošača. Hlapljivi spojevi aronije bi obogatili cjelokupnu aromu proizvoda, a prehrambena vlakna pozitivno bi djelovala na probavljivost proizvoda i na cjelokupno zdravlje potrošača. Obogaćivanje jogurta s inkapsuliranim polifenolima bilo je tema nekoliko prethodnih istraživanja. Robert i sur. (2010) su inkapsulirane polifenole nara s maltodekstrinom ili proteinima soje inkorporirali u jogurt. Inkapsulati s maltodekstrinom rezultirali su manjim stupnjem degradacije tijekom skladištenja od inkapsulata s proteinima soje. Polifenoli iz kore jabuke inkapsulirani s maltodekstrinom, proteinima sirutke i gumom arabikom također su se koristili za obogaćivanje jogurta. Rezultatima se utvrdilo kako dodani inkapsulirani polifenoli nisu utjecali na teksturu i fizikalno-kemijska svojstva jogurta što upućuje na mogućnost primjene takvih inkapsulata kao funkcionalnog sastojka u jogurtu (El-Messery i sur., 2019). Inkapsulirani polifenoli mogu biti dodani i u kruh. Utvrđeno je kako se volumen kruha i čvrstoća mrvica nisu promijenili u

usporedbi s kontrolnim uzorkom nakon dodatka inkapsuliranih polifenola zelenog čaja (Pasrija i sur., 2015). Krekeri obogaćeni s antocijaninima ljuske crvenog luka imali su višu antioksidacijsku aktivnost od kontrolnog uzorka što upućuje na moguću primjenu ovakvih aditiva u pekarske proizvode (Stoica i sur., 2022).



Slika 21 Moguća primjena novih bioaktivnih dodataka hrani

3.2. MATERIJALI

Materijali odnosno kemikalije korištene u ovom istraživanju prikazani su u **Tablici 3** i **4**.

Tablica 3 Popis korištenih materijala za pripremu uzoraka

Materijal	Proizvođač
Sok aronije	Lokalni proizvođač iz okolice Varaždina; Remetinec, 46°10'37.5"N 16°20'02.3"E
Citrus vlakno	Fiberstar, River Falls, WI, SAD
Citrus vlakno/ksantan	Fiberstar, River Falls, WI, SAD
Citrus vlakno/guar	Fiberstar, River Falls, WI, SAD
Trehaloza	Hayashibara Co., Ltd., Okayama Japan
Saharoza	Gram-mol, Zagreb, Hrvatska

Tablica 4 Popis korištenih kemikalija

Kemikalija	Čistoća	Proizvođač
Galna kiselina	97,5 – 102,5 %	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD
Procijanidin B2	≥ 90 %	Extrasynthese, Genay, Francuska
Cijanidin-3-O-galaktozid klorid	≥ 97 %	Extrasynthese, Genay, Francuska
Cijanidin-3-O-glukozid klorid	≥ 96 %	Extrasynthese, Genay, Francuska
Cijanidin-3-O-arabinozid klorid	≥ 95 %	Extrasynthese, Genay, Francuska
Neoklorogenska kiselina	≥ 99 %	Extrasynthese, Genay, Francuska
Klorogenska kiselina	98 %	Acros Organics, Geel, Belgija
Kvercetin-3-galaktozid	≥ 98 %	Extrasynthese, Genay, Francuska
Kvercetin-3-rutinozid (hidrat)	94 %	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD
Hesperidin	97 %	Acros Organics, Geel, Belgija
Trolox	97 %	Acros Organics, Geel, Belgija
2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) diamonijeva sol	HPLC, > 98 %	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil		Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD
4-(dimetilamino)-cinamaldehyd		Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD
Metanol	HPLC	J.T. Baker, Deventer, Nizozemska
Etanol	96 %	Gram-mol, Zagreb, Hrvatska
Klorovodična kiselina	37 %	Panreac, Barcelona, Španjolska
Orto-fosforna kiselina	HPLC, > 85 %	Fisher Scientific, Loughborough, UK
Octena kiselina	> 99,5 %	T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska
Folin-ciocalteuov reagens		Carlo Erba Reagents, Sabadell, Španjolska
α-amilaza iz svinjske gušterače		Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD
α-glukozidaza iz <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD
akarboza	95 %	Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Njemačka
4-nitrofenil α-D-glukopiranozid	> 98 %	Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Njemačka
Škrob, topljiv		Kemika, Zagreb, Hrvatska
Kalijev natrijev tartarat tetrahidrat		T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska
3-5-dintriosalicilna kiselina	> 97 %	Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Njemačka
Natrijev hidroksid		T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska
Natrijev acetat, bezvodni		Gram-mol, Zagreb, Hrvatska
Kalij-peroksodisulfat		Kemika, Zagreb, Hrvatska
Natrijev karbonat, bezvodni		T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska
Neokuproin hemihidrat	> 99 %	Acros Organics, Geel, Belgija
2,4,6-tris (2-piridil)-s-triazin	99 %	Acros Organics, Geel, Belgija
Kalij-dihidrogenfosfat		Kemika, Zagreb, Hrvatska
Kalijev klorid		Gram-mol, Zagreb, Hrvatska
Amonijev acetat		Gram-mol, Zagreb, Hrvatska
Željezov(III)klorid	97 %	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD
Bakrov(II) klorid dihidrat	99 %	Acros Organics, Geel, Belgija

3.3. METODE

3.3.1. Priprema bioaktivnih dodatka hrani (kompleksa)

Priprema uzoraka prvog dijela istraživanja:

Kompleksi prvog dijela istraživanja pripremljeni su od soka aronije s vlaknima (citrus vlakno, citrus vlakno/guar ili citrus vlakno/ksantan). Volumen soka za pripremu uzoraka bio je konstantan dok su se koristile različite količine vlakana (1 %, 2 % i 3 %). Omjeri dodanih komponenti prikazani su u **Tablici 5**. Kompleksiranje uzoraka provedeno je na magnetskoj miješalici (Stuart UC151) u trajanju od 15 min na sobnoj temperaturi. Nakon kompleksiranja, uzorci su centrifugirani u trajanju od 15 min pri 8000 rpm korištenjem centrifuge (Heraeus Megafuge 8, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA SAD). Postupkom centrifugiranja odvojen je tekući dio (supernatant) od krutog dijela (talog). Tekući dio je odbačen, a kruti dio je korišten za dobivanje suhog kompleksa soka aronije s vlaknima.

Tablica 5 Udio korištenih komponenti za pripremu uzoraka prvog dijela istraživanja

Uzorak	Sok aronije (mL)	Citrus vlakno (g)	Citrus vlakno/ksantan (g)	Citrus vlakno/guar (g)
CV 1	200	2	-	-
CV 2	200	4	-	-
CV 3	200	6	-	-
CV/X 1	200	-	2	-
CV/X 2	200	-	4	-
CV/X 3	200	-	6	-
CV/G 1	200	-	-	2
CV/G 2	200	-	-	4
CV/G 3	200	-	-	6

CV – citrus vlakno, X – ksantan, G – guar, 1, 2, 3 – postotak korištenog vlakna.

Priprema uzoraka drugog dijela istraživanja:

Kompleksi drugog dijela istraživanja pripremljeni su od soka aronije s vlaknima (citrus vlakno, citrus vlakno/guar ili citrus vlakno/ksantan) te dodatkom disaharida (saharoze ili trehaloze). Volumen soka za pripremu uzoraka bio je konstantan kao i količina vlakna i disaharida koja je iznosila 2 %. Kontrolni uzorci pripremljeni su bez dodatka disaharida; sa sokom aronije i vlaknima. Omjeri dodanih komponenti prikazani su u **Tablici 6**. Kompleksiranje uzoraka provedeno je na magnetskoj miješalici (Stuart UC151) u trajanju od 15 min na sobnoj temperaturi. Nakon

kompleksiranja, uzorci su centrifugirani u trajanju od 15 min pri 8000 rpm korištenjem centrifuge (Heraeus Megafuge 8, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA SAD). Postupkom centrifugiranja odvojen je tekući dio (supernatant) od krutog dijela (talog). Tekući dio je odbačen, a kruti dio je korišten za dobivanje suhog kompleksa soka aronije s vlaknima i šećerima.

Tablica 6 Udio korištenih komponenti za pripremu uzoraka

Uzorak	Sok aronije (mL)	Citrus vlakno (g)	Citrus vlakno/ksantan (g)	Citrus vlakno/guar (g)	Trehaloza (g)	Saharoza (g)
CV	200	4	-	-	-	-
CV T	200	4	-	-	4	-
CV S	200	4	-	-	-	4
CV/X	200	-	4	-	-	-
CV/X T	200	-	4	-	4	-
CV/X S	200	-	4	-	-	4
CV/G	200	-	-	4	-	-
CV/G T	200	-	-	4	4	-
CV/G S	200	-	-	4	-	4

CV – citrus vlakno, X – ksantan, G – guar, T – trehaloza, S – saharoza.

Za dobivanje suhih uzoraka primijenjeno je sušenje smrzavanjem (liofilizacija). Prije samog postupka, talog dobiven centrifugiranjem je zamrznut na $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ u trajanju od 24 sata. Liofilizacija je provedena na laboratorijskom liofilizatoru Alpha 1-4 (Martin Christ, Osterode am Harz, Njemačka) prikazanom na **Slici 22**. Uvjeti liofilizacije bili su sljedeći: temperatura smrzavanja bila je postavljena na $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$, temperatura sublimacije kretala se od $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ pod vakuumom od 0,220 mbar, temperatura izotermne desorpcije kretala se od $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ pod vakuumom od 0,060 mbar. Proces je trajao 12 sati.



Slika 22 Laboratorijski liofilizator

Dobiveni suhi uzorci podijeljeni su u dva dijela. Prvi dio uzoraka je analiziran odmah nakon pripreme. Drugi dio uzoraka skladišten je osam mjeseci na sobnoj temperaturi i izložen svjetlosti. Uzorci su čuvani u prozirnim staklenim posudama s metalnim poklopcima. Sve analize provedene su i na uzorcima nakon pripreme i nakon skladištenja.

3.3.2. Ekstrakcija uzoraka za spektrofotometrijske analize i analizu polifenola HPLC metodom

Kao otapalo za ekstrakciju polifenola korišten je zakiseljeni metanol; u omjeru metanol: HCl 99: 1 (v/v). Odvagano je oko 0,3 g uzorka i dodano 15 mL otapala za ekstrakciju. Uzorci su dobro promiješani i ostavljeni preko noći na sobnoj temperaturi nakon čega su filtrirani.

Spektrofotometrijska mjerenja provedena su na UV-Vis spektrofotometru (Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) (Slika 23).



Slika 23 UV-Vis spektrofotometar

3.3.3. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola

Sadržaj ukupnih polifenola određen je prema modificiranoj Folin-Ciocalteu metodi opisanoj kod Singleton i Rossi (1965). U staklenu epruvetu dodano je 0,1 mL uzorka, 0,9 mL vode, 5 mL Folin-Ciocalteu reagensa (3,3 %-tna otopina u vodi) i 4 mL Na_2CO_3 ($\gamma = 75 \text{ mg/mL}$). Nakon inkubacije u trajanju od 120 minuta u mraku na sobnoj temperaturi, očitana je apsorbancija na 765 nm. Kalibracijski pravac standarda galne kiseline napravljen je u rasponu od 200 mg/L do 1200 mg/L ($r^2 = 0,9919$). Sva mjerenja provedena su u tri paralele, a rezultati su izraženi u mg ekvivalenta galne kiseline po g uzorka (mg EGK/g).

3.3.4. Određivanje sadržaja monomernih antocijanina

Sadržaj monomernih antocijanina određen je pH diferencijalnom metodom (Giusti i Wrodsad, 2001). Za potrebe analize pripremljena su dva pufera: 0,025 M KCl (pH 1) i 0,4 M CH₃CO₂Na (pH 4,5). U staklenoj epruveti pomiješano je 0,2 mL uzorka s 2 mL pufera pH 1 ili pH 4,5. Pripremljene smjese su inkubirane 15 min u tamnom te je izmjerena apsorbancija na 515 nm i 700 nm. Apsorbancija uzorka je izračunata prema sljedećoj formuli (1):

$$A = (A_{515} - A_{700})_{pH\ 1} - (A_{515} - A_{700})_{pH\ 4,5} \quad (1)$$

Sadržaj monomernih antocijanina određen je prema sljedećoj formuli (2):

$$\gamma = (A \times M \times FR \times 1000) / \epsilon \times l \quad (2)$$

gdje je: γ – koncentracija antocijanina izražena kao ekvivalent cijanidin-3-glukozida,

M - molekulska masa cijanidin-3-glukozida (449,2 g/mol),

FR - faktor razrjeđenja,

ϵ - molarni koeficijent apsorpcije koji iznosi 26,900 L/mol cm,

l – duljina kivete, 1 cm.

Mjerenja su provedena u tri paralele, a rezultati izraženi u mg ekvivalenata cijanidin-3-glukozida po g uzorka (mg EC3G/g).

3.3.5. Određivanje sadržaja proantocijanidina

Sadržaj proantocijanidina u uzorcima određen je DMAC (4-(dimetilamino)-cinamaldehyd) metodom (Prior i sur., 2010). Za potrebe eksperimenta pripremljene su otopine zakiseljenog etanola (75 % etanol, 12,5 % voda i 12,5 % HCl (37 %-tna); v/v/v) i DMAC-a ($\gamma = 1$ mg/mL) u zakiseljenom etanolu. U staklenu epruvetu dodan je 0,5 mL uzorka i 1 mL DMAC reagensa. Epruvete su ostavljene u tamnom na sobnoj temperaturi u trajanju od 30 min te je izmjerena apsorbancija na 640 nm. Kalibracijski pravac standarda procijanidina B2 napravljen je u rasponu od 10 μ g/g do 80 μ g/g ($r^2 = 0,9971$). Rezultati su izraženi kao mg ekvivalenata procijanidina B2 po g uzorka (mg EPB2/g).

3.3.6. HPLC metoda za identifikaciju i kvantifikaciju pojedinačnih polifenola prisutnih u uzorcima

Pojedinačni polifenoli u uzorcima analizirani su tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC) koristeći sustav 1260 Infinity II (Agilent Technology, Santa Clara, CA, SAD) opremljen kvaternom pumpom, detektorom s nizom dioda (DAD) i kolonom za razdvajanje Poroshell 120 (EC C-18 column, 4.6 × 100 mm, 2.7 μm) (**Slika 24**). Korištena metoda prethodno je opisana kod Ivić i sur. (2021). Prije injektiranja u sustav, 1 mL uzorka filtriran je uporabom 0,45 μm PTFE filtera. Kao mobilne faze za ispiranje korištene su 0,1 % H₃PO₄ u vodi (A) i 100 %-tni metanol (B). Primijenjena je gradijentna elucija kako slijedi: 0 min 5 % B, 3 min 30 % B, 15 min 35 % B, 22 min 37 % B, 30 min 41 % B, 32 min 45 % B, 40 min 49 % B, 45 min 80 % B, 48 min 80 % B, 50 min 5 % B, 53 min 5 % B. Injektirani volumen iznosio je 5 μl, a protok je iznosio 1 mL/min. UV-Vis spektar je snimljen u rasponu od 190 nm do 600 nm. Antocijanini su praćeni na 520 nm, fenolne kiseline na 320 nm, flavonoli na 360 nm, a flavanoni na 280 nm. Koncentrirane otopine standarda antocijanina su pripremljene u zakiseljenom metanolu (metanol: HCl 99: 1; v/v), a ostalih polifenola u 100 %-tnom metanolu. Identifikacija polifenola provedena je usporedbom retencijskog vremena i UV-Vis spektra pikova u uzorcima sa standardima. Kako bi se potvrdila identifikacija, u uzorke je dodana poznata količina standarda. U **Tablici 7** prikazani su standardi polifenola korišteni u ovom istraživanju kao i raspon korištenih koncentracija za izradu kalibracijskog pravca i jednadžba kalibracijskog pravca. Također prikazana je i linearnost (r^2), granica detekcije (LOD) i granica kvantifikacije (LOQ) koje su izračunate pomoću kalibracijskih krivulja polifenolnih standarda. LOD predstavlja najnižu količinu analita koja se može detektirati u uzorku, a izračunata je prema sljedećoj formuli (**4**):

$$LOD = 3,3 \frac{SD}{S} \quad (4)$$

gdje je: SD – standardna devijacija odsječaka na y osi,

S – srednja vrijednost nagiba kalibracijskog pravca.

LOQ je najniža količina analita koja se može kvantitativno odrediti s prihvatljivom razinom

preciznosti, istinitosti i ponovljivosti, a izračunata je prema sljedećoj formuli (5):

$$LOQ = 10 \frac{SD}{S} \quad (5)$$

gdje je: SD – standardna devijacija odsječaka na y osi,

S – srednja vrijednost nagiba kalibracijskog pravca.



Slika 24 HPLC sustav

Tablica 7 Standardi polifenola korišteni za identifikaciju i kvantifikaciju s datim rasponom koncentracija, jednadžbom kalibracijskog pravca, linearnosti, granicom detekcije i granicom kvantifikacije

Polifenol	Raspon korištenih koncentracija (mg/L)	Jednadžba kalibracijskog pravca	Linearnost (r^2)	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
Cijanidin-3-galaktozid	4 - 512	$y = 43,767x - 126,21$	0,9998	0,0006	0,0019
Cijanidin-3-glukozid	7,5 - 481	$y = 41,619x - 0,8734$	0,9995	0,10	0,30
Cijanidin-3-arabinozid	3,3 - 415	$y = 40,683x - 23,04$	0,9996	0,29	0,89
Neoklorogenska kiselina	1 - 150	$y = 28,71x + 38,927$	0,9992	0,71	2,15
Klorogenska kiselina	5 - 250	$y = 40,17x - 139,5$	0,9997	0,0002	0,0006
Kvercetin-3-galaktozid	2,3 - 75	$y = 34,871x - 10,566$	1	0,18	0,55
Kvercetin-3-rutinozid	1 - 150	$y = 17,21x + 34,999$	0,998	2,12	6,44
Hesperidin	1 - 500	$y = 22,16x - 30,398$	0,9996	2,57	7,79

3.3.7. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Za određivanje antioksidacijske aktivnosti korištene su četiri metode: DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC.

Sva mjerenja su provedena u tri paralele, a rezultati su izraženi u mmol ekvivalenata Trolox-a po 100 g uzorka (mmol TE/100 g).

DPPH metoda

Određivanje antioksidacijske aktivnosti uzoraka pomoću 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) reagensa provedeno je prema metodi od Brand-Williams i sur. (1995) s malim izmjenama. Pripremljena je 0,5 mM otopina DPPH reagensa u etanolu (96 %). U staklenu epruvetu dodano je 0,2 mL uzorka i 3 mL DPPH otopine. Nakon miješanja, epruvete su ostavljene u tamnom na sobnoj temperaturi u trajanju od 15 min te je izmjerena apsorbancija na 517 nm. Kalibracijski pravac Trolox standarda napravljen je u rasponu od 6,25 $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$ do 50 $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$ ($r^2 = 0,9979$).

ABTS metoda

Antioksidacijska aktivnost uzoraka, određena pomoću ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) diamonijeva sol) reagensa, provedena je prema protokolu od Arnao i sur. (2001) s malim izmjenama. ABTS reagens je pripremljen miješanjem 10 mL otopine 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt ($\gamma = 4\text{ mg/mL}$) i 10 mL otopine $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ($\gamma = 7\text{ mg/mL}$). U staklenoj epruveti pomiješano je 0,2 mL uzorka i 3,2 mL ABTS reagensa. Nakon 95 min u mraku, na sobnoj temperaturi, uzorcima je izmjerena apsorbancija na 734 nm. Kalibracijski pravac Trolox standarda napravljen je u rasponu od 15 $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$ do 65 $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$ ($r^2 = 0,9997$).

FRAP metoda

Sposobnost redukcije željeza (eng. *ferric reducing ability*) uzorcima određena je prema metodi prethodno opisanoj kod Benzie i Strain (1996) s malim izmjenama. FRAP reagens pripremljen je miješajući 25 mL 300 mM acetatnog pufera (pH 3,6), 2,5 mL 10 mM TPTZ otopine (eng. 2,4,6-tripyridyl-s-triazine) i 2,5 mL 20 mM FeCl_3 . Prije same analize, pripremljeni reagens zagrijan je na 37 °C. U staklenoj epruveti pomiješano je 0,2 mL uzorka i 3 mL FRAP reagensa. Epruvete su ostavljene na sobnoj temperaturi u tamnom 30 min nakon čega je izmjerena apsorbancija na 593 nm. Kalibracijski pravac Trolox standarda napravljen je u rasponu od 10 $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$ do 70 $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$ ($r^2 = 0,9985$).

CUPRAC metoda

CUPRAC (eng. *cupric reducing antioxidant capacity*) metoda prethodno je opisana kod Apak i sur. (2004). U staklenu epruvetu dodan je 1 mL 10 mM otopine CuCl_2 , 1 mL 7,5 mM otopine neokuproina i 1 mL 1 M amonijevog acetatnog pufera (pH 7,0). Nakon toga, dodani su uzorak i voda u ukupnom volumenu od 1,1 mL. Apsorbancija je izmjerena na 450 nm, nakon 30 min u tamnom na sobnoj temperaturi. Kalibracijski pravac Trolox standarda napravljen je u rasponu od 6 $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$ do 70 $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$ ($r^2 = 0,9985$).

3.3.8. Inhibicija enzima α -amilaze

Inhibicija enzima α -amilaze provedena je prema protokolu opisanom kod Kellogg i sur. (2014) i Nyambe-Silavwe i sur. (2015), s malim izmjenama. Za potrebe analize pripremljene su otopine DNS reagensa, škroba i α -amilaze. Za pripremu DNS reagensa bile su potrebne otopine natrijevog hidroksida (2 M), 3,5-dinitrosalicilne kiseline ($c = 96\text{ mmol/L}$) u vodi i kalijevog natrijevog tartarata tetrahidrata ($c = 5,3\text{ mol/L}$) (KNT) u 2 M NaOH. Otopine KNT-a i 3,5-dinitrosalicilne kiseline miješane su i zagrijavane bez vrenja. DNS reagens je dobiven miješanjem vode, KNT-a i otopine 3,5-dinitrosalicilne kiseline u omjeru 3:2:5. Reagens je stabilan tri tjedna, čuvan na sobnoj temperaturi te zaštićen od svjetla. Fosfatni pufer koncentracije 0,02 mol/L pH 6,9 korišten je za pripremu otopine škroba koncentracije 2,5 mg/mL (zagrijavanjem na 90 °C 15 minuta) i otopine α -amilaze (3 U/mL).

Ekstrakti uzoraka (50 μL) pomiješani su sa škrobom (200 μL) i predinkubirani na 37 °C 10 minuta. Dodatkom α -amilaze (200 μL) u glavne probe započela je reakcija te je provedena na 37 °C 15 minuta. Reakcija je zaustavljena dodatkom DNS reagensa (1 mL) u sve epruvete te zagrijavanjem na 95 °C tijekom 15 minuta. Pokus je proveden koristeći Combitherm-2 CH 3-150 (BioSan, Riga, Latvija). Ukupan volumen od 1,5 mL nadoknađen je s fosfatnim puferom. U **Tablici 8** dodatno je objašnjen postupak pokusa, odnosno inhibirana i neinhibirana reakcija. Apsorbancija je izmjerena na 540 nm. Pri istim uvjetima pokusa određena je inhibicija enzima α -amilaze standardom akarbozom.

Tablica 8 Inhibicija enzima α -amilaze

		Uzorak	Škrob	α -amilaza	DNS reagens
Neinhibirana reakcija	Glavna proba	-	+	+	+
	Slijepa proba	-	+	-	+
Inhibirana reakcija	Glavna proba	+	+	+	+
	Slijepa proba	+	+	-	+

Inhibicija enzima izračunata je prema sljedećoj formuli **(3)**:

$$\% \text{ inhibicije} = \frac{(\Delta A_{\text{neinhibirana reakcija}} - \Delta A_{\text{inhibirana reakcija}})}{\Delta A_{\text{neinhibirana reakcija}}} \times 100 \quad (3)$$

gdje $\Delta A_{\text{neinhibirana reakcija}}$ predstavlja razliku apsorbancije neinhibirane reakcije i pripadajuće slijepa probe, a $\Delta A_{\text{inhibirana reakcija}}$ predstavlja razliku apsorbancije inhibirane reakcije i pripadajuće slijepa probe.

3.3.9. Inhibicija enzima α -glukozidaze

Inhibicija enzima α -glukozidaze provedena je prema metodi prethodno opisanoj kod Granados-Guzmán i sur. (2018) s malim izmjenama. Za potrebe analize pripravljene su otopine Na_2CO_3 (0,1 M), fosfatnog pufera ($c = 0,1 \text{ mol/L}$, pH 6,8), α -glukozidaze (0,55 U/mL) u fosfatnom puferu i pNPG-a ($\gamma = 0,40 \text{ mg/mL}$).

Za potrebe ove analize ekstrakti uzoraka su razrijeđeni te je faktor razrjeđenja iznosio 30. Tako dobiveni uzorci (165 μL) pomiješani su s pNPG-om (85 μL) i predinkubirani na 37 °C tijekom 10 minuta. Dodatkom α -glukozidaze (85 μL) u glavne probe započela je reakcija te je provođena na 37 °C u trajanju od 17,5 minuta. Reakcija je zaustavljena dodatkom natrijevog karbonata (665 μL) u sve epruvete. Pokus je proveden koristeći Combitherm-2 CH 3-150 (BioSan, Riga, Latvija). Ukupan volumen od 1 mL nadoknađen je s fosfatnim puferom. U **Tablici 9** dodatno je objašnjen postupak pokusa, odnosno inhibirana i neinhibirana reakcija. Apsorbancija je izmjerena na 405 nm. Pri istim uvjetima pokusa određena je inhibicija enzima α -glukozidaze standardom akarbozom.

Tablica 9 Inhibicija enzima α -glukozidaze

		Uzorak	pNPG	α -glukozidaza	Na ₂ CO ₃
Neinhibirana reakcija	Glavna proba	-	+	+	+
	Slijepa proba	-	+	-	+
Inhibirana reakcija	Glavna proba	+	+	+	+
	Slijepa proba	+	+	-	+

Inhibicija enzima izračunata je prema formuli (3).

3.3.10. Analiza hlapljivih komponenti u uzorcima primjenom GC-MS metode

Hlapljive komponente prisutne u uzorcima analizirane se plinskom kromatografijom s masenom spektrometrijom (GC-MS). Korišteni uređaj prikazan je na **Slici 25**. Kao tehnika ekstrakcije hlapljivih spojeva, koristila se tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). Ta tehnika je bazirana na primjeni igle s punilom od divinilbenzena-karboksena-polidimetilsiloksana (DVB/CAR/PDMS) debljine 80 μm (Supelco, Bellefonte, SAD) kao polimerne stacionarne faze. U staklenu vijalu dodano je 5 mL uzorka i 1 g NaCl-a kako bi se poboljšala ekstrakcija. Također, dodano je 10 μL internog standarda mirtenola ($\gamma = 0,5 \text{ g/L}$). Hermetički zatvorena vijala s teflonskim čepom postavljena je u vodenu kupelj gdje se uzorak zagrijavao i miješao na 40 °C u trajanju od 5 minuta. Tijekom ovog procesa, nadprostor se zasićivao hlapljivim spojevima nakon čega je u nadprostor stavljena SPME igla. Adsorpcija je trajala 45 min na temperaturi od 40 °C. Nakon toga, igla je prenesena u injektor plinskog kromatografa u kojem se odvijala desorpcija hlapljivih spojeva (na 250 °C u trajanju od 7 minuta) u kolonu uzrokovana toplinom. U koloni koja se postepeno zagrijava, hlapljivi spojevi razdvajali su se na osnovi hlapljivosti. U maseni detektor prvi su dospijevali spojevi koji su lakše hlapljivi. U GC pećnici nalazi se HP-5MS kolona (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Uvjeti korištene metode su sljedeći: početna temperatura od 40 °C u trajanju od 10 minuta, rast temperature do 120 °C (3 °C/min), rast temperature do 250 °C (10 °C/min), temperatura detektora – 250 °C, plin nosač – helij 5,0 (99,99 %). Energija ionizacije je 70 eV, a maseni interval (m/z) je od 40 do 400. Dobiveni pikovi i maseni spektri su uspoređeni s bazom spojeva *Nist08* (National Institute of Standards and Technology, USA) i *Wiley 9* (Wiley, SAD) te retencijskog indeksa. Za svaki spoj izračunat je linearni retencijski indeks koristeći standard koji sadrži smjesu alkana C7 – C30, analiziran pri istim GC-MS uvjetima. Retencijski indeks je izračunat

prema sljedećoj jednadžbi (6):

$$RI = 100 \times \left[(n + (N - n) \frac{\log t_x - \log t_n}{\log t_N - \log t_n}) \right] \quad (6)$$

gdje je: RI – retencijski indeks,

n – broj C atoma u alkanu koji izlazi prije nepoznatog spoja,

N – broj C atoma u alkanu koji izlazi nakon nepoznatog spoja,

x – nepoznati spoj,

t – retencijsko vrijeme (min).



Slika 25 Plinski kromatograf s masenim detektorom

U **Tablici 10** prikazana su fizikalno-kemijska svojstva i aromatske note hlapljivih komponenti identificiranih i kvantificiranih u ovom istraživanju.

Tablica 10 Fizikalno-kemijska svojstva i aromatske note hlapljivih komponenti identificiranih i kvantificiranih u ovom istraživanju

Spoj	RT (min)	RI	MW (g/mol)	log P (o/w)	VP (mmHg)	Aromatska nota
Heksanska kiselina	17,52	983	116,16	1,920	0,158	masna nota
Nonanska kiselina	33,20	1277	158,24	3,420	0,009	masna nota
Oktanska kiselina	29,16	1188	144,21	3,050	0,022	masna nota
Dekanska kiselina	37,48	1376	172,27	4,090	3,660 x 10 ⁻⁴	masna nota
Laurinska kiselina	41,75	1558	200,32	4,600	1,598 x 10 ⁻⁵	masna nota
Pentan-1-ol	4,08	757	88,15	1,348	1,500	voćna nota
3-heksen-1-ol	7,54	849	100,16	1,697	1,039	zelena nota
Heks-1-ol	8,38	868	102,18	2,030	0,947	zelena nota
Okten-3-ol	17,27	980	128,21	2,519	0,531	zemljana nota
2-etilheksan-1-ol	19,68	1030	130,23	2,820	0,207	citrusna nota
Oktan-1-ol	23,12	1072	130,23	3,000	0,079	zelena nota
Nonan-1-ol	28,45	1174	144,26	3,770	0,041	masna nota
Dekan-1-ol	33,36	1269	158,28	4,570	0,009	masna nota
Perilil alkohol	33,75	1286	152,24	2,100	0,006	zelena nota
Heksanal	4,98	800	100,16	1,780	10,888	zelena nota
2-heksenal	7,37	851	98,14	1,790	4,620	zelena nota
2-heptanon	9,85	885	114,19	1,980	4,732	masna nota
Heptanal	11,27	893	114,19	2,442	3,854	zelena nota
Benzaldehid	14,76	955	106,12	1,480	1,270	voćna nota
1-okten-3-on	16,30	979	126,20	2,114	9,826	voćna nota
6-metil-5-hepten-2-on	17,04	987	126,20	2,070	0,841	citrusna nota
2-oktenal	21,30	1054	126,20	2,322	9,976	masna nota
Nonanal	23,99	1095	142,24	3,461	0,532	citrusna nota
2-nonenal	27,64	1158	140,23	3,319	0,256	zelena nota
Dekanal	29,40	1200	156,27	3,970	0,207	cvjetna nota
2,4-nonadienal	30,33	1212	138,21	2,840	1,560	masna nota
2-dekenal	32,68	1256	154,25	3,828	0,067	masna nota
4-propilbenzaldehyd	33,15	1265	148,20	2,918	0,039	-
Geranil aceton	39,51	1448	194,32	3,834	0,016	cvjetna nota
D-limonen	19,19	1018	136,24	4,570	0,198	citrusna nota
Linalool	23,74	1096	154,25	2,970	0,016	citrusna nota
<i>trans</i> -p-2,8-mentadienol	24,68	1108	152,24	2,400	0,029	menta
<i>trans</i> -karveol	29,32	1213	152,23	3,120	0,012	začinska nota
Nerol	30,50	1218	154,25	3,470	0,013	citrusna nota
Geraniol	31,78	1247	154,25	3,560	0,021	cvjetna nota
Mentol	27,62	1167	156,27	3,216	0,032	menta
α-terpineol	29,21	1189	154,25	2,670	0,028	drvenasta nota
β-citronelol	31,39	1232	156,27	3,300	0,020	citrusna nota
Karvon	31,72	1238	150,22	3,070	0,160	menta
β-damascenon	37,60	1377	190,29	4,042	0,020	voćna nota
α-ionon	38,83	1417	192,30	3,995	0,014	voćna nota
β-ionon	40,23	1477	192,30	3,995	0,017	voćna nota
α-cedrol	42,34	1592	222,37	4,330	0,001	drvenasta nota
2-etilheksil acetat	26,63	1146	172,26	4,200	0,210	voćna nota
Etil-dekanoat	38,00	1391	200,32	4,861	0,034	voćna nota
Etil-miristat	44,85	1778	256,42	7,090	0,003	masna nota
Etil-palmitat	47,01	1978	284,48	6,760	7 x 10 ⁻⁵	masna nota

RT – retencijsko vrijeme; RI – retencijski indeks, MW – molekulska masa; log P – logaritam koeficijenta oktanol voda koji pokazuje relativnu hidrofobnost komponente; VP – tlak pare.

3.3.11. Parametri boje uzoraka

Kromametar A CR-400 (Konica Minolta, Inc., Osaka, Japan) je korišten za mjerenje parametara boje u uzorcima (**Slika 26**). Ovaj tip kromametara mjeri svjetlost pomoću silikonskih fotoćelija koja je reflektirana s površine predmeta. U radu je korišten Lab sustav koji daje rezultate približne onim od ljudskog oka. Mjereni su sljedeći parametri: L^* , a^* , b^* , C^* i $^{\circ}h$. L^* određuje svjetlinu; ako je $L^* = 0$ predmet je taman, a ako je $L^* = 100$ predmet je svijetao. a^* parametar pokazuje crvenu ili zelenu boju. Ako je a^* pozitivan predmet je crvene boje, a ako je negativan predmet je zelene boje. Parametar b^* u pozitivnoj vrijednosti predstavlja žutu boju, a u negativnoj vrijednosti plavu boju. Zasićenje boje opisano je parametrom C^* , a označava udio čiste boje u ukupnom vizualnom doživljaju boje. Parametar $^{\circ}h$ označava ton boje odnosno vizualni doživljaj na temelju kojeg definiramo određenu boju.



Slika 26 Kromametar A CR-400

Udaljenost između dvije točke u koordinatnom sustavu boje izražava se kao promjena boje (ΔE). Promjena boje izračunava se na temelju L^* , a^* i b^* parametara korištenjem sljedeće formule (**7**):

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0,5}$$

$$\Delta L^* = L_k^* - L_u^*$$

$$\Delta a^* = a_k^* - a_u^*$$

$$\Delta b^* = b_k^* - b_u^*$$
(7)

gdje je: k – kontrolni uzorak

u – uspoređivani uzorak

Veza između izračunate promjene boje (ΔE) i ljudske percepcije boje dana je u **Tablici 11**.

Tablica 11 Veza između izračunate promjene boje (ΔE) i ljudske percepcije boje

ΔE	Vidljivost razlike ljudskim okom
< 0,2	Razlika boja se ne vidi
0,2 - 1	Razlika boja se primjećuje
1 - 3	Razlika boja se vidi
3 - 6	Razlika boja se dobro vidi
> 6	Očigledna odstupanja boja

3.3.12. FTIR-ATR analiza

Infracrveni (IR) spektar uzoraka snimljen je primjenom infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom te tehnike prigušene totalne refleksije (FTIR-ATR) na spektrometru Cary 600 (Agilent Technologies) (**Slika 27**) opremljenim sa softverom MicroLab Expert (Agilent Technologies). Uzorci su snimljeni u području od 4000 cm^{-1} do 600 cm^{-1} .

**Slika 27** FTIR-ATR spektrometar

Iz dobivenih rezultata pomoću formula **(8)** **(9)** i **(10)** izračunati su sljedeći parametri kao omjer između intenziteta vrpce: indeks ukupnog kristaliteta (TCI), indeks bočnog poretka (LOI) i intenzitet vodikove veze (HBI).

$$TCI = \frac{A_{1370-1360}}{A_{2900-2890}} \quad (8)$$

gdje je $A_{1370-1360}$ intenzitet vrpce u području $1370-1360\text{ cm}^{-1}$, a $A_{2900-2890}$ intenzitet vrpce u području $2900-2890\text{ cm}^{-1}$.

$$LOI = \frac{A_{1430-1420}}{A_{897}} \quad (9)$$

gdje je $A_{1430-1420}$ intenzitet vrpce u području $1430-1420 \text{ cm}^{-1}$, a A_{897} intenzitet vrpce na 897 cm^{-1} .

$$HBI = \frac{A_{3340-3330}}{A_{1315}} \quad (9)$$

gdje je $A_{3340-3330}$ intenzitet vrpce u području $3340-3330 \text{ cm}^{-1}$, a A_{1315} intenzitet vrpce na 1315 cm^{-1} .

3.3.13. Statistička obrada podataka

Svi dobiveni rezultati izraženi su kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Rezultati su obrađeni korištenjem računalnog programa Statistica 13.1 (StatSoft Inc., Tulsa, SAD) pomoću metode analize varijanci (ANOVA) i Fisher-ovog LSD testa (test najmanje značajne razlike, $P < 0,05$). Dodatno, provedena je klaster analiza grupiranja uzoraka po sličnosti prema sadržaju polifenola te grupiranje uzoraka po sličnosti aromatskog profila.

DO NOT COPY

4. REZULTATI

4.1. SOK ARONIJE I VLAKNA

Tablica 12 Sadržaj polifenola, antioksidacijska aktivnost i sposobnost inhibicije enzima sokom aronije i akarbozom

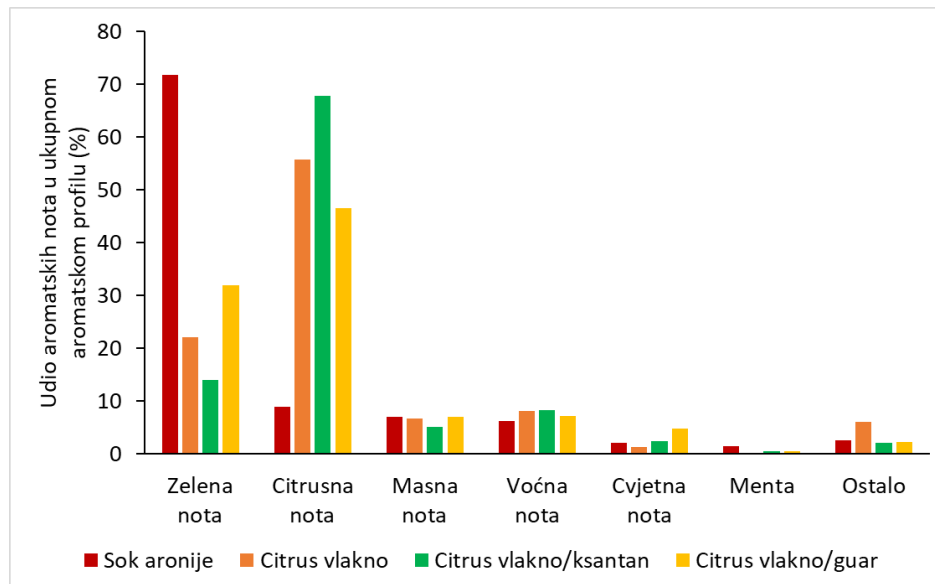
Sadržaj polifenola u soku aronije		
Ukupni polifenoli (g/L)	5,82 ± 0,02	
Proantocijanidini (mg/L)	643,98 ± 1,10	
Monomerni antocijanini (mg/L)	131,53 ± 0,96	
Sadržaj pojedinačnih polifenola u soku aronije određen HPLC analizom (mg/L)		
Cijanidin-3-galaktozid	8,06 ± 0,03	
Cijanidin-3-glukozid	0,22 ± 0,03	
Cijanidin-3-arabinozid	2,18 ± 0,01	
Neoklorogenska kiselina	302,89 ± 1,65	
Klorogenska kiselina	196,25 ± 0,89	
Kvercetin-3-galaktozid	3,61 ± 0,00	
Kvercetin-3-rutinozid	18,96 ± 0,05	
Antioksidacijska aktivnost soka aronije (mmol/100 mL)		
DPPH	2,91 ± 0,02	
ABTS	5,51 ± 0,04	
FRAP	3,91 ± 0,10	
CUPRAC	3,22 ± 0,04	
Inhibicija enzima sokom aronije		
	Ukupni polifenoli (mg/L)	% inhibicije
Inhibicija α-amilaze	6,26 ± 0,02	26,06 ± 0,37
Inhibicija α-glukozidaze	0,02 ± 0,00	85,94 ± 1,14
Inhibicija enzima akarbozom		
	Koncentracija akarboze (mg/L)	% inhibicije
Inhibicija α-amilaze	6,67	52,11
Inhibicija α-glukozidaze	33	66,04

Tablica 13 Sadržaj polifenola i antioksidacijska aktivnost citrus vlakna, citrus vlakna/guara i citrus vlakna/ksantana

Sadržaj polifenola	Citrus vlakno	Citrus vlakno/ksantan	Citrus vlakno/guar
Ukupni polifenoli (g/kg)	3,19 ± 0,11	6,81 ± 0,19	7,09 ± 0,01
Proantocijanidini (µg/g)	1,31 ± 0,18	197,42 ± 0,96	178,90 ± 1,20
Hesperidin (g/kg)	5,52 ± 0,04	12,52 ± 0,24	13,22 ± 0,12
Antioksidacijska aktivnost (mmol/100 g)			
DPPH	1,18 ± 0,06	1,22 ± 0,02	1,27 ± 0,00
ABTS	0,33 ± 0,01	0,56 ± 0,04	1,89 ± 0,13
FRAP	1,47 ± 0,14	2,93 ± 0,00	3,50 ± 0,16
CUPRAC	2,48 ± 0,06	3,43 ± 0,03	4,07 ± 0,02

Tablica 14 Sadržaj hlapljivih komponenti soka aronije, citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna guar (µg/kg)

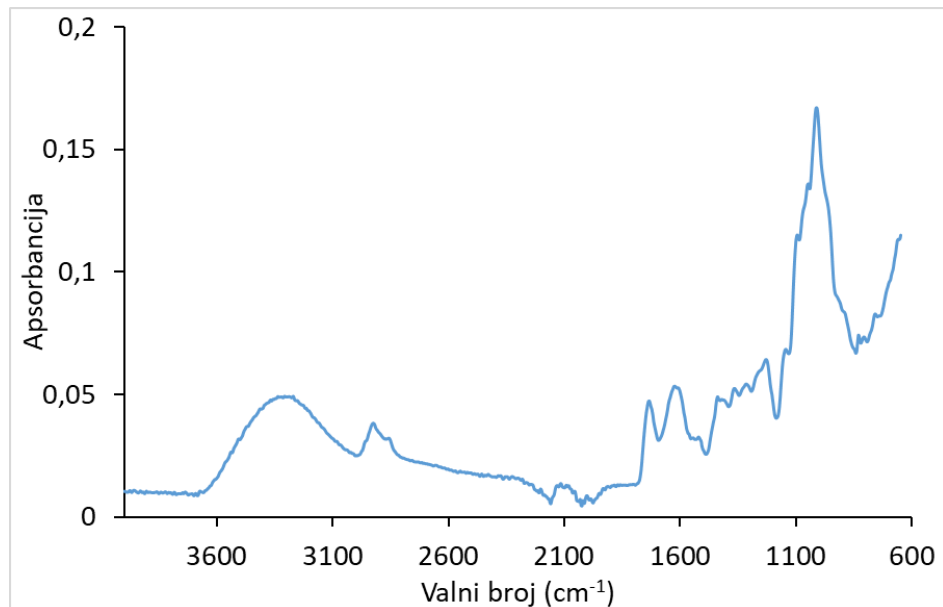
Spoj	Sok aronije	Citrus vlakno	Citrus vlakno/ksantan	Citrus vlakno/guar
Kiseline	7,85 ± 0,32	17,73 ± 0,03	9,36 ± 0,24	14,94 ± 0,11
Heksanska kiselina	2,29 ± 0,03	17,73 ± 0,03	4,94 ± 0,14	2,13 ± 0,10
Nonanska kiselina	2,33 ± 0,17	-	4,42 ± 0,10	12,80 ± 0,01
Oktanska kiselina	1,77 ± 0,12	-	-	-
Dekanska kiselina	0,98 ± 0,00	-	-	-
Laurinska kiselina	0,48 ± 0,01	-	-	-
Alkoholi	161,77 ± 2,45	115,76 ± 5,37	40,02 ± 0,67	124,29 ± 3,20
Pentan-1-ol	-	-	1,81 ± 0,00	3,35 ± 0,07
3-heksen-1-ol	34,38 ± 0,28	-	-	-
Heks-1-ol	118,20 ± 2,10	-	-	-
Okten-3-ol	-	59,75 ± 2,68	-	-
2-etilheksan-1-ol	6,66 ± 0,00	6,38 ± 0,70	8,45 ± 0,17	36,34 ± 0,76
Oktan-1-ol	-	23,75 ± 1,63	22,70 ± 0,44	67,76 ± 2,19
Nonan-1-ol	2,53 ± 0,07	-	-	-
Dekan-1-ol	-	20,03 ± 0,21	5,29 ± 0,02	9,62 ± 0,01
Perilil alkohol	-	5,86 ± 0,16	1,77 ± 0,02	7,22 ± 0,17
Karbonilni spojevi	30,58 ± 0,55	439,80 ± 8,76	264,65 ± 2,71	637,70 ± 15,82
Heksanal	-	162,07 ± 0,20	83,17 ± 1,43	294,20 ± 8,14
2-heksenal	-	-	0,73 ± 0,00	0,64 ± 0,01
2-heptanon	-	-	0,18 ± 0,01	7,42 ± 0,22
Heptanal	-	24,45 ± 0,47	16,80 ± 0,13	27,29 ± 0,29
Benzaldehid	9,80 ± 0,04	87,99 ± 1,57	61,40 ± 0,24	50,03 ± 0,57
1-okten-3-on	-	-	5,54 ± 0,01	30,65 ± 1,07
6-metil-5-hepten-2-on	-	51,73 ± 2,41	13,23 ± 0,06	21,60 ± 1,27
2-oktenal	0,81 ± 0,02	43,77 ± 1,76	27,00 ± 0,12	44,79 ± 0,20
Nonanal	8,63 ± 0,03	-	28,55 ± 0,21	87,82 ± 1,80
2-nonenal	-	54,04 ± 2,25	7,76 ± 0,18	12,45 ± 0,36
Dekanal	4,39 ± 0,05	14,35 ± 0,03	11,75 ± 0,09	36,87 ± 1,26
2-dekenal	3,07 ± 0,14	-	5,86 ± 0,10	11,40 ± 0,31
4-propilbenzaldehyd	3,71 ± 0,27	-	-	-
Geranil aceton	0,17 ± 0,00	1,41 ± 0,08	2,68 ± 0,14	12,52 ± 0,32
Terpeni	10,90 ± 0,24	646,49 ± 4,20	634,90 ± 3,74	504,99 ± 7,20
D-limonen	2,10 ± 0,02	609,97 ± 3,51	578,50 ± 0,84	375,27 ± 4,11
Linalool	0,81 ± 0,03	11,83 ± 0,21	12,79 ± 0,39	57,35 ± 1,40
<i>trans</i> -p-2,8-mentadienol	-	-	4,07 ± 0,07	5,37 ± 0,18
<i>trans</i> -karveol	-	13,64 ± 0,06	19,99 ± 2,20	28,53 ± 0,97
Nerol	-	-	2,72 ± 0,07	19,45 ± 0,12
Geraniol	-	-	8,22 ± 0,10	11,18 ± 0,06
Mentol	2,78 ± 0,03	-	-	-
α-terpineol	1,42 ± 0,07	-	-	-
β-citronelol	0,67 ± 0,02	-	-	-
Karvon	0,27 ± 0,01	-	-	-
β-damascenon	1,45 ± 0,04	-	-	-
α-ionon	0,69 ± 0,01	3,53 ± 0,15	7,24 ± 0,05	4,49 ± 0,33
β-ionon	0,35 ± 0,01	7,52 ± 0,27	1,36 ± 0,02	3,37 ± 0,03
α-cedrol	0,37 ± 0,01	-	-	-
Esteri	1,27 ± 0,04	-	1,38 ± 0,03	2,69 ± 0,03
2-etilheksil acetat	-	-	0,83 ± 0,01	0,47 ± 0,01
Etil-dekanoat	0,84 ± 0,02	-	-	-
Etil-miristat	0,25 ± 0,02	-	-	-
Etil-palmitat	0,19 ± 0,00	-	0,55 ± 0,01	2,23 ± 0,02



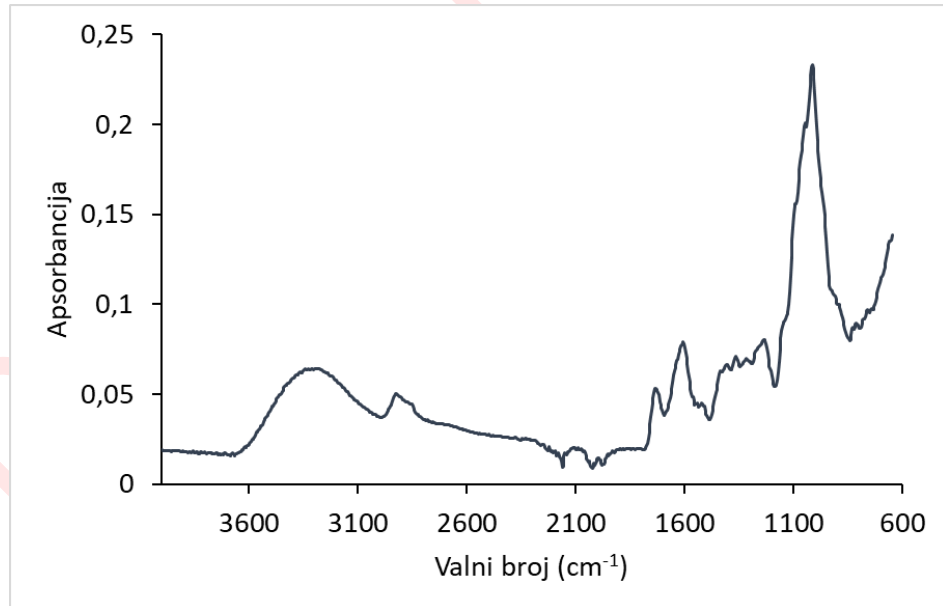
Slika 28 Aromatski profil soka aronije, citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara

Tablica 15 Parametri boje soka aronije, citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara

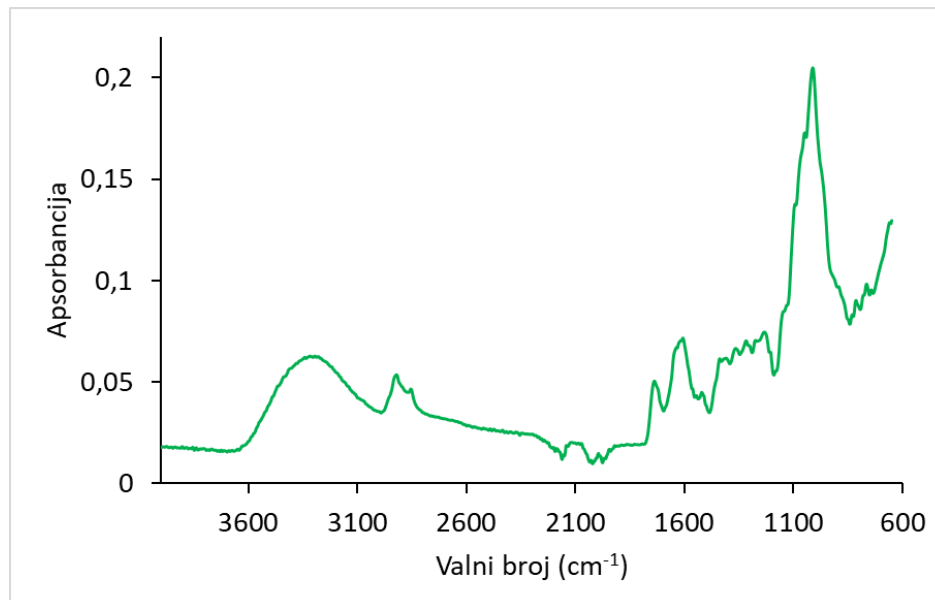
Uzorak	L*	a*	b*	°h	C*
Sok aronije	19,70 ± 0,05	0,85 ± 0,01	0,87 ± 0,02	45,68 ± 1,14	1,22 ± 0,01
Citrus vlakno	82,68 ± 0,15	1,20 ± 0,07	19,21 ± 0,03	86,42 ± 0,19	19,25 ± 0,03
Citrus vlakno/ksantan	87,04 ± 0,01	-0,06 ± 0,01	16,03 ± 0,02	90,22 ± 0,04	16,03 ± 0,02
Citrus vlakno/guar	81,83 ± 0,01	0,97 ± 0,01	18,14 ± 0,02	86,95 ± 0,04	18,17 ± 0,02



Slika 29 IR spektar citrus vlakna



Slika 30 IR spektar citrus vlakna/ksantana



Slika 31 IR spektar citrus vlakna/guara

4.2. BIOAKTIVNI DODACI HRANI NA BAZI CITRUS VLAKANA, CITRUS VLAKANA/KSANTANA I CITRUS VLAKANA/GUARA SA SOKOM ARONIJE

4.2.1. Sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u kompleksima

Tablica 16 Sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije (mg/g)

Uzorak	Ukupni polifenoli	Antocijanini	Proantocijanidini
CV 1	98,34 ± 0,18 ^b	2,43 ± 0,09 ^b	15,16 ± 0,46 ^b
CV 2	70,10 ± 1,41 ^d	1,83 ± 0,05 ^d	10,78 ± 0,11 ^d
CV 3	55,16 ± 1,16 ^f	1,59 ± 0,03 ^f	8,01 ± 0,20 ^f
CV/X 1	92,70 ± 1,60 ^c	2,25 ± 0,03 ^c	14,49 ± 0,12 ^c
CV/X 2	67,61 ± 1,59 ^e	1,72 ± 0,06 ^e	9,52 ± 0,29 ^e
CV/X 3	56,75 ± 0,97 ^f	1,52 ± 0,06 ^g	7,44 ± 0,10 ^g
CV/G 1	102,83 ± 1,65 ^a	2,58 ± 0,05 ^a	16,34 ± 0,07 ^a
CV/G 2	69,19 ± 1,64 ^{de}	1,73 ± 0,05 ^e	9,79 ± 0,24 ^e
CV/G 3	51,60 ± 0,44 ^g	1,51 ± 0,02 ^g	6,80 ± 0,24 ^h

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 17 Sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u skladištenim kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije (mg/g)

Uzorak	Ukupni polifenoli	Antocijanini	Proantocijanidini
CV 1	92,49 ± 1,54 ^b	2,24 ± 0,04 ^b	14,49 ± 0,45 ^b
CV 2	75,62 ± 1,84 ^c	1,93 ± 0,02 ^c	11,60 ± 0,50 ^d
CV 3	55,00 ± 1,44 ^f	1,50 ± 0,04 ^f	7,51 ± 0,25 ^f
CV/X 1	92,82 ± 1,10 ^b	2,19 ± 0,05 ^b	14,01 ± 0,12 ^c
CV/X 2	62,70 ± 1,49 ^e	1,71 ± 0,03 ^e	8,89 ± 0,07 ^e
CV/X 3	53,94 ± 1,64 ^f	1,40 ± 0,01 ^g	7,04 ± 0,10 ^g
CV/G 1	97,06 ± 1,58 ^a	2,47 ± 0,07 ^a	15,05 ± 0,31 ^a
CV/G 2	65,07 ± 0,70 ^d	1,81 ± 0,02 ^d	8,74 ± 0,12 ^e
CV/G 3	47,37 ± 0,68 ^g	1,34 ± 0,05 ^g	5,99 ± 0,08 ^h

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 18 Zadržavanje polifenola nakon skladištenja u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije

Uzorak	Antocijanini (%)	Proantocijanidini (%)
CV 1	92,24	95,58
CV 2	100,00	100,00
CV 3	94,44	93,78
CV/X 1	97,25	96,72
CV/X 2	99,45	93,39
CV/X 3	92,27	94,53
CV/G 1	95,56	92,06
CV/G 2	100,00	89,26
CV/G 3	89,18	88,07

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna. Izračunato iz rezultata dobivenih spektrofotometrijskim mjerenjem sadržaja ukupnih antocijanina i proantocijanidina.

4.2.2. Sadržaj individualnih polifenola u kompleksima određenih HPLC analizom

Tablica 19 Sadržaj pojedinačnih polifenola u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije određenih HPLC analizom (mg/100 g)

Spoj	CV 1	CV 2	CV 3	CV/X 1	CV/X 2	CV/X 3	CV/G 1	CV/G 2	CV/G 3
Antocijanini									
C-3-gal	31,14 ± 0,56 ^b	27,65 ± 0,29 ^d	25,13 ± 0,29 ^f	30,44 ± 0,31 ^c	26,93 ± 0,27 ^e	25,15 ± 0,21 ^f	31,80 ± 0,23 ^a	27,13 ± 0,40 ^e	24,41 ± 0,16 ^g
C-3-glu	16,04 ± 0,36 ^a	12,60 ± 0,07 ^c	8,97 ± 0,09 ^e	13,68 ± 0,20 ^b	10,73 ± 0,25 ^d	9,15 ± 0,50 ^e	13,99 ± 0,32 ^b	10,61 ± 0,22 ^d	8,18 ± 0,41 ^f
C-3-ara	11,24 ± 0,43 ^c	10,69 ± 0,31 ^c	9,61 ± 0,39 ^d	14,56 ± 0,38 ^a	9,30 ± 0,20 ^d	10,85 ± 0,62 ^c	12,36 ± 0,30 ^b	10,84 ± 0,22 ^c	9,11 ± 0,03 ^d
<i>Ukupno</i>	58,42 ± 1,35 ^a	50,94 ± 0,67 ^b	43,71 ± 0,77 ^{ef}	58,68 ± 0,90 ^a	46,95 ± 0,71 ^{cd}	45,15 ± 1,33 ^{de}	58,15 ± 0,85 ^a	48,58 ± 0,84 ^{bc}	41,70 ± 0,60 ^f
Fenolne kiseline									
NK	145,33 ± 3,68 ^a	107,58 ± 2,74 ^d	95,45 ± 1,66 ^f	134,11 ± 2,02 ^b	115,29 ± 2,51 ^c	102,92 ± 1,55 ^e	115,42 ± 0,57 ^c	101,57 ± 2,58 ^e	99,42 ± 3,93 ^{ef}
KK	149,09 ± 0,67 ^b	125,06 ± 1,70 ^g	122,36 ± 0,95 ^g	156,72 ± 1,77 ^a	143,21 ± 1,26 ^d	135,26 ± 2,47 ^e	145,88 ± 2,59 ^c	129,66 ± 1,04 ^f	129,18 ± 0,92 ^f
DKK	80,61 ± 1,65 ^d	71,24 ± 0,87 ^f	68,78 ± 2,70 ^f	92,91 ± 0,97 ^a	88,62 ± 2,03 ^b	85,97 ± 1,34 ^c	81,30 ± 0,89 ^d	79,16 ± 1,16 ^{de}	77,27 ± 0,62 ^e
<i>Ukupno</i>	375,03 ± 6,00 ^a	303,89 ± 5,32 ^d	286,59 ± 5,30 ^e	383,74 ± 4,75 ^a	347,12 ± 5,81 ^b	324,14 ± 5,36 ^c	342,60 ± 4,06 ^b	310,39 ± 4,78 ^{cd}	305,87 ± 5,47 ^d
Flavonoli									
K-3-gal	37,24 ± 0,51 ^b	31,31 ± 0,44 ^d	26,41 ± 0,22 ^f	37,14 ± 0,14 ^b	27,34 ± 0,49 ^{ef}	26,54 ± 0,11 ^f	44,08 ± 0,73 ^a	33,62 ± 0,76 ^c	28,18 ± 1,04 ^e
Flavanoni									
H	782,10 ± 7,50 ^g	987,25 ± 9,41 ^e	1018,98 ± 3,66 ^d	721,55 ± 2,39 ^h	897,48 ± 8,92 ^f	1001,23 ± 11,18 ^e	1345,09 ± 4,46 ^c	1434,36 ± 17,45 ^b	1453,06 ± 13,53 ^a

C-3-gal – cijanidin-3-galaktozid; C-3-glu – cijanidin-3-glukozid; C-3-ara – cijanidin-3-arabinozid; NK – neoklorogenska kiselina; KK – klorogenska kiselina; DKK – derivat klorogenske kiseline; K-3-gal – kvercetin-3-galaktozid; H – hesperidin; CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna. Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 20 Sadržaj pojedinačnih polifenola u skladištenim kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije određenih HPLC analizom (mg/100 g)

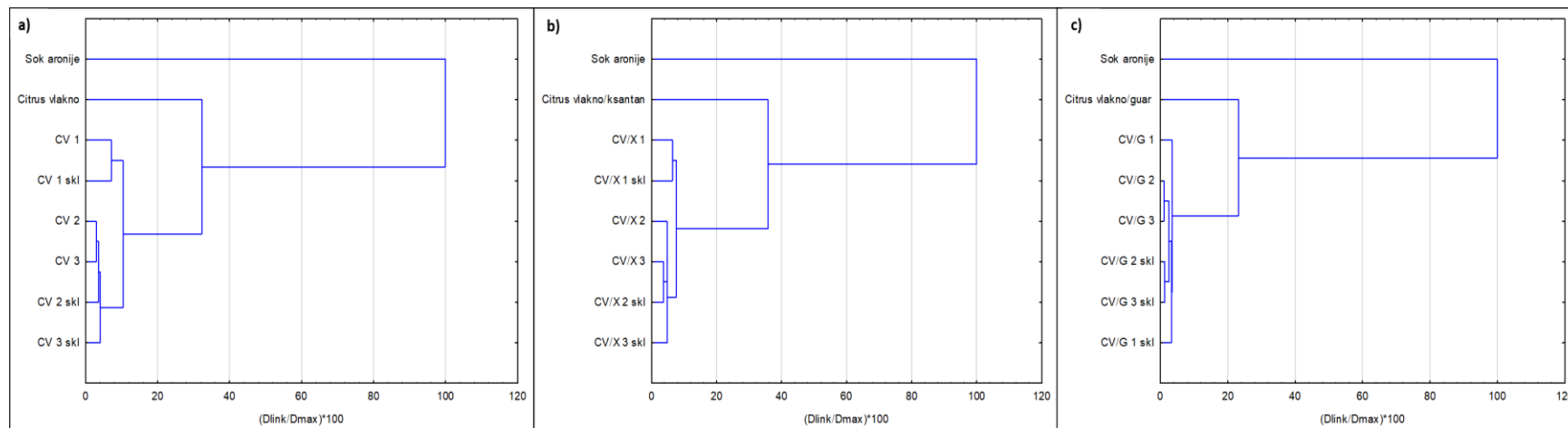
Spoj	CV 1	CV 2	CV 3	CV/X 1	CV/X 2	CV/X 3	CV/G 1	CV/G 2	CV/G 3
Antocijanini									
C-3-gal	28,54 ± 0,16 ^b	26,65 ± 0,20 ^c	23,84 ± 0,12 ^e	28,62 ± 0,41 ^b	25,77 ± 0,11 ^d	23,87 ± 0,06 ^e	29,88 ± 0,49 ^a	25,24 ± 0,05 ^d	23,10 ± 0,01 ^f
C-3-glu	16,89 ± 0,07 ^b	13,21 ± 0,14 ^d	7,08 ± 0,12 ^g	14,49 ± 0,16 ^c	10,13 ± 0,17 ^f	6,64 ± 0,11 ^h	20,23 ± 0,11 ^a	11,24 ± 0,34 ^e	4,76 ± 0,06 ^f
C-3-ara	10,14 ± 0,04 ^b	8,96 ± 0,08 ^c	6,93 ± 0,30 ^e	10,47 ± 0,02 ^b	7,16 ± 0,09 ^{de}	6,27 ± 0,25 ^f	11,33 ± 0,08 ^a	7,38 ± 0,29 ^d	6,39 ± 0,12 ^f
<i>Ukupno</i>	55,57 ± 0,27 ^b	48,83 ± 0,42 ^d	37,85 ± 0,55 ^f	53,58 ± 0,59 ^c	43,05 ± 0,38 ^e	36,78 ± 0,42 ^f	61,43 ± 0,68 ^a	43,86 ± 0,68 ^e	34,25 ± 0,18 ^g
Fenolne kiseline									
NK	65,51 ± 0,52 ^b	53,54 ± 1,50 ^{de}	45,83 ± 1,38 ^g	69,80 ± 1,44 ^a	61,13 ± 1,47 ^c	54,46 ± 1,04 ^d	51,41 ± 0,95 ^{ef}	50,05 ± 1,52 ^f	47,30 ± 2,09 ^g
KK	116,01 ± 1,31 ^{bc}	105,10 ± 1,52 ^e	95,21 ± 1,36 ^f	124,15 ± 1,09 ^a	117,44 ± 1,37 ^b	108,15 ± 2,81 ^d	114,01 ± 1,18 ^c	107,97 ± 0,51 ^d	104,55 ± 2,29 ^e
DKK	79,06 ± 1,37 ^b	71,51 ± 1,56 ^c	64,08 ± 1,17 ^e	82,58 ± 0,83 ^a	78,14 ± 1,68 ^b	72,24 ± 1,59 ^c	70,91 ± 1,35 ^c	70,21 ± 1,24 ^c	67,88 ± 1,77 ^d
<i>Ukupno</i>	260,58 ± 3,21 ^b	230,15 ± 4,58 ^{ce}	205,12 ± 3,91 ^f	276,53 ± 3,36 ^a	256,71 ± 4,53 ^b	234,84 ± 5,44 ^c	236,32 ± 3,48 ^c	228,22 ± 3,27 ^{cd}	219,73 ± 6,16 ^{de}
Flavonoli									
K-3-gal	38,38 ± 0,46 ^b	32,48 ± 0,22 ^e	27,16 ± 0,31 ^h	35,87 ± 0,44 ^c	28,44 ± 0,49 ^g	26,53 ± 1,08 ^h	44,91 ± 0,63 ^a	34,33 ± 0,83 ^d	30,19 ± 0,39 ^f
Flavanoni									
H	647,54 ± 8,46 ^f	849,14 ± 7,02 ^d	867,36 ± 1,37 ^c	624,10 ± 2,81 ^g	766,12 ± 3,01 ^e	863,99 ± 4,12 ^c	1103,09 ± 10,27 ^b	1163,29 ± 3,83 ^a	1152,17 ± 0,32 ^a

C-3-gal – cijanidin-3-galaktosid; C-3-glu – cijanidin-3-glukozid; C-3-ara – cijanidin-3-arabinozid; NK – neoklorogenska kiselina; KK – klorogenska kiselina; DKK – derivat klorogenske kiseline; K-3-gal – kvercetin-3-galaktosid; H – hesperidin; CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna. Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 21 Zadržavanje polifenola (%) nakon skladištenja u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije

Uzorak	Ukupni antocijanini	Neoklorogenska kiselina	Klorogenska kiselina	Derivat klorogenske kiseline	Ukupne fenolne kiseline	Kvercetin-3-galaktosid	Hesperidin	Ukupni polifenoli
CV 1	95,12	45,08	77,81	98,08	69,48	103,05	82,79	79,99
CV 2	95,86	49,77	84,04	100,38	75,73	103,72	86,01	84,51
CV 3	86,58	48,01	77,81	93,17	71,57	102,84	85,12	82,68
CV/X 1	91,30	52,05	79,22	88,89	72,06	96,58	86,49	82,43
CV/X 2	91,69	53,02	82,00	88,18	73,95	104,03	85,36	82,97
CV/X 3	81,46	52,91	79,96	84,03	72,45	99,98	86,29	83,19
CV/G 1	105,64	44,54	78,15	87,23	68,98	101,88	82,01	80,77
CV/G 2	90,30	49,27	83,27	88,70	73,53	102,11	81,10	80,45
CV/G 3	82,14	47,58	80,93	87,85	71,84	107,11	79,29	78,54

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna. Izračunato iz rezultata dobivenih HPLC analizom polifenola.



Slika 32 Grupiranje uzoraka po sličnosti sadržaja polifenola u kompleksima na bazi a) citrus vlakna b) citrus vlakna/ksantana i c) citrus vlakna/guara primjenom klaster analize (CV – citrus vlakno; X – ksantan, G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna; skl – skladišteno)

4.2.3. Antioksidacijska aktivnost kompleksa

Tablica 22 Antioksidacijska aktivnost kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije (mmol/100 g)

Uzorak	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
CV 1	36,09 ± 0,77 ^a	65,49 ± 0,20 ^b	64,37 ± 0,99 ^b	105,73 ± 1,61 ^b
CV 2	24,88 ± 0,56 ^f	47,87 ± 0,75 ^d	46,12 ± 0,54 ^d	75,91 ± 0,73 ^d
CV 3	21,80 ± 0,97 ^{gh}	37,14 ± 0,75 ^h	35,26 ± 0,33 ^g	60,04 ± 1,27 ^f
CV/X 1	32,62 ± 0,54 ^c	61,72 ± 0,89 ^c	62,99 ± 0,22 ^c	103,36 ± 2,09 ^c
CV/X 2	28,06 ± 0,84 ^d	45,71 ± 0,45 ^f	42,06 ± 0,73 ^f	69,82 ± 3,12 ^e
CV/X 3	22,15 ± 0,40 ^g	39,48 ± 0,75 ^g	35,95 ± 0,56 ^g	59,25 ± 1,69 ^f
CV/G 1	34,47 ± 0,41 ^b	67,46 ± 0,33 ^a	68,01 ± 0,57 ^a	108,51 ± 0,69 ^a
CV/G 2	25,96 ± 0,45 ^e	46,94 ± 0,63 ^e	43,46 ± 0,67 ^c	71,83 ± 1,66 ^e
CV/G 3	21,02 ± 0,48 ^h	35,26 ± 0,68 ⁱ	33,41 ± 0,27 ^h	53,66 ± 0,01 ^g

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 23 Antioksidacijska aktivnost skladištenih kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije (mmol/100 g)

Uzorak	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
CV 1	30,89 ± 0,73 ^c	58,47 ± 1,07 ^b	61,93 ± 0,86 ^c	96,25 ± 1,52 ^b
CV 2	26,28 ± 0,38 ^d	47,06 ± 1,43 ^c	46,74 ± 0,47 ^d	77,47 ± 2,10 ^c
CV 3	21,37 ± 0,84 ^f	31,55 ± 1,72 ^f	34,08 ± 0,51 ^g	56,86 ± 1,27 ^e
CV/X 1	32,35 ± 0,71 ^b	58,11 ± 0,56 ^b	63,05 ± 0,59 ^b	100,67 ± 0,85 ^a
CV/X 2	25,08 ± 0,59 ^e	42,01 ± 1,09 ^d	42,40 ± 0,47 ^e	68,65 ± 1,16 ^d
CV/X 3	22,03 ± 0,30 ^f	36,57 ± 0,86 ^e	35,73 ± 0,48 ^f	58,35 ± 0,99 ^e
CV/G 1	33,77 ± 0,81 ^a	64,12 ± 0,61 ^a	66,60 ± 1,35 ^a	101,93 ± 2,07 ^a
CV/G 2	25,18 ± 0,21 ^e	43,10 ± 0,54 ^d	42,44 ± 0,67 ^e	67,77 ± 1,04 ^d
CV/G 3	20,04 ± 0,71 ^g	32,23 ± 0,99 ^f	31,86 ± 0,46 ^h	52,46 ± 0,73 ^f

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

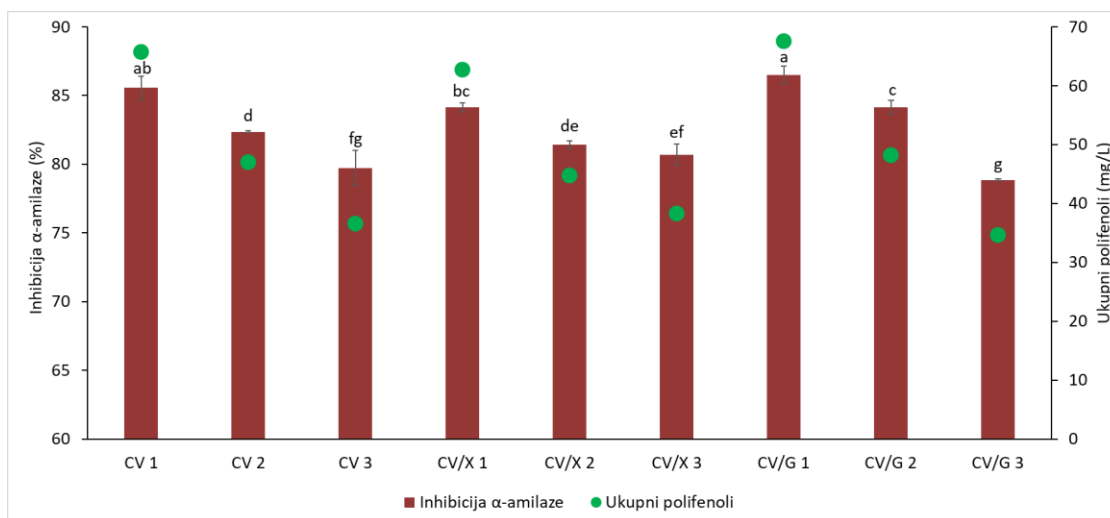
4.2.4. Koeficijenti korelacije utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost kompleksa

Tablica 24 Koeficijenti korelacije (r^2) utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije

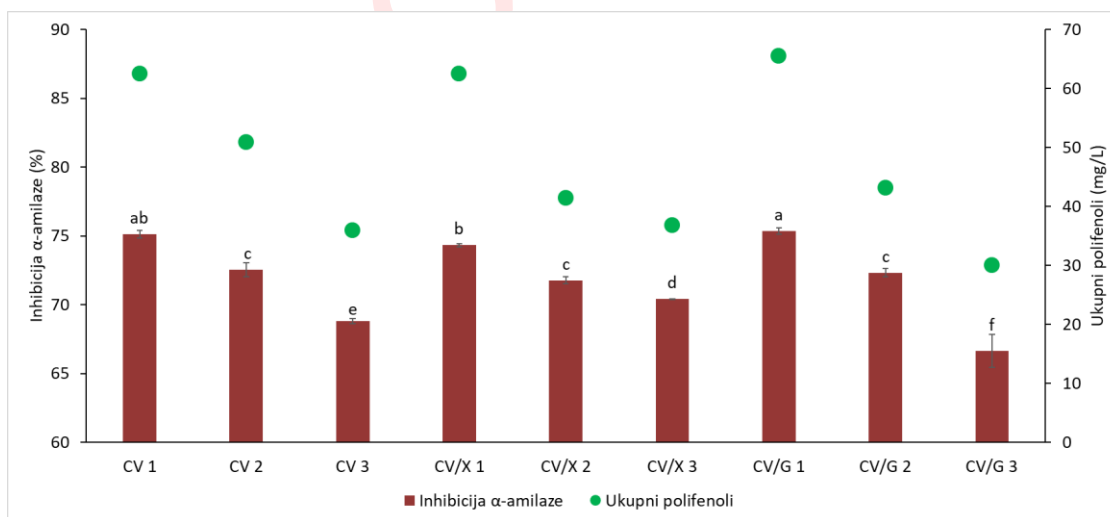
	Spektrofotometrijske analize			HPLC analiza			
	Proantocijanidini	Antocijanini	Ukupni polifenoli	Fenolne kiseline	Ukupni antocijanini	Flavanoni	Flavonoli
DPPH	0,9591	0,9552	0,9757	0,8471	0,9419	-0,3665	0,8532
ABTS	0,9935	0,9854	0,9993	0,7825	0,9835	-0,3039	0,9258
FRAP	0,9966	0,9904	0,9967	0,7743	0,9852	-0,3024	0,9335
CUPRAC	0,9962	0,9861	0,9956	0,7819	0,9896	-0,3425	0,9181

Tablica 25 Koeficijenti korelacije (r^2) utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost skladištenih kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije

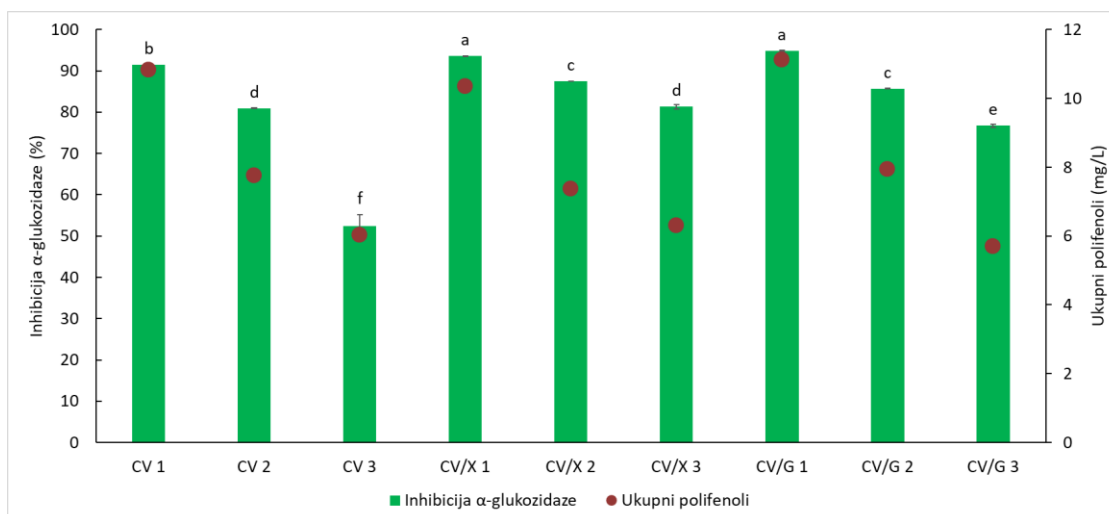
	Spektrofotometrijske analize			HPLC analiza			
	Proantocijanidini	Antocijanini	Ukupni polifenoli	Fenolne kiseline	Ukupni antocijanini	Flavanoni	Flavonoli
DPPH	0,9763	0,9819	0,9878	0,6831	0,9796	-0,3309	0,8798
ABTS	0,9770	0,9809	0,9852	0,6703	0,9834	-0,2935	0,9027
FRAP	0,9843	0,9777	0,9924	0,6835	0,9777	-0,3541	0,8853
CUPRAC	0,9889	0,9747	0,9953	0,6980	0,9742	-0,3940	0,8613

4.2.5. Inhibicija enzima α -amilaze kompleksima

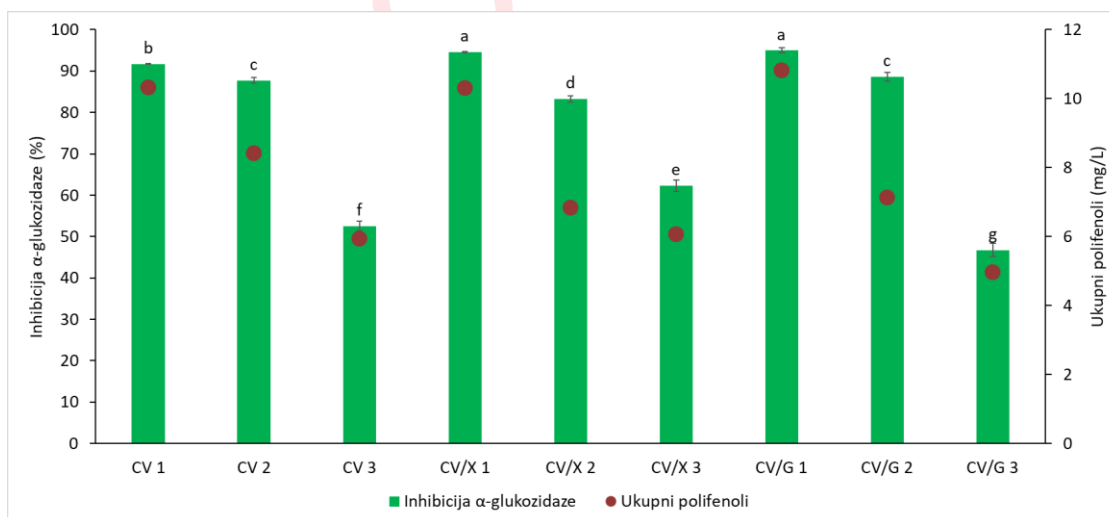
Slika 33 Sposobnost inhibicije enzima α -amilaze kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije (CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna; srednje vrijednosti iznad kojih slijede različita slova su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test))



Slika 34 Sposobnost inhibicije enzima α -amilaze skladištenim kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije (CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna; srednje vrijednosti iznad kojih slijede različita slova su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test))

4.2.6. Inhibicija enzima α -glukozidaze kompleksima

Slika 35 Sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije (CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna.; srednje vrijednosti iznad kojih slijede različita slova su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test))



Slika 36 Sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze skladištenim kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije (CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna; srednje vrijednosti iznad kojih slijede različita slova su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test))

4.2.7. Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima određenih GC-MS analizom

Tablica 26 Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije određenih GC-MS analizom ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

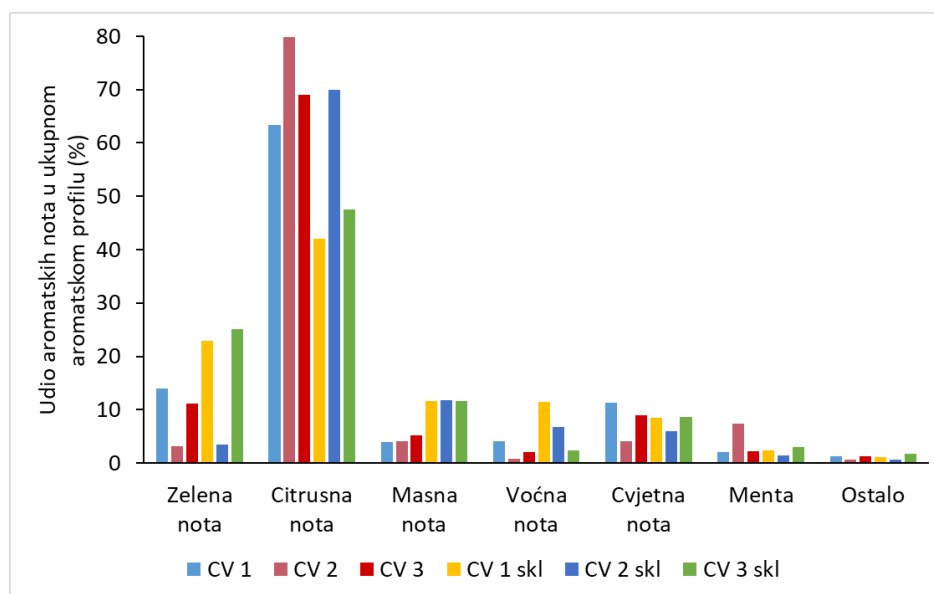
Spoj	CV 1	CV 2	CV 3	CV/X 1	CV/X 2	CV/X 3	CV/G 1	CV/G 2	CV/G 3
Alkoholi	$41,02 \pm 0,20^c$	$20,16 \pm 0,24^e$	$27,65 \pm 0,24^d$	$31,85 \pm 0,61^c$	$48,56 \pm 0,57^b$	$28,75 \pm 0,43^d$	$29,03 \pm 0,41^d$	$32,97 \pm 0,29^c$	$102,23 \pm 2,33^a$
3-heksen-1-ol	$0,67 \pm 0,01^c$	$0,77 \pm 0,02^c$	-	$0,13 \pm 0,01^e$	$1,05 \pm 0,05^b$	$0,33 \pm 0,01^d$	-	$1,50 \pm 0,00^a$	$0,67 \pm 0,02^c$
Heks-1-ol	$2,55 \pm 0,02^d$	$4,27 \pm 0,13^a$	$2,06 \pm 0,04^d$	$1,42 \pm 0,03^f$	$3,28 \pm 0,03^c$	$1,82 \pm 0,05^e$	$0,15 \pm 0,00^h$	$3,64 \pm 0,06^b$	$0,92 \pm 0,01^g$
2-etilheksan-1-ol	$4,52 \pm 0,08^{de}$	$15,12 \pm 0,09^b$	$3,19 \pm 0,10^{ef}$	$2,87 \pm 0,05^f$	$10,30 \pm 0,01^c$	$2,60 \pm 0,05^f$	$4,99 \pm 0,06^d$	$9,19 \pm 0,02^c$	$68,69 \pm 1,52^a$
Oktan-1-ol	$31,53 \pm 0,08^a$	-	$22,40 \pm 0,10^c$	$26,88 \pm 0,53^b$	$32,64 \pm 0,45^a$	$23,50 \pm 0,31^c$	$22,91 \pm 0,33^c$	$15,16 \pm 0,09^d$	$25,88 \pm 0,53^b$
Nonan-1-ol	$1,75 \pm 0,01^c$	-	-	$0,56 \pm 0,00^e$	$1,30 \pm 0,04^d$	$0,49 \pm 0,01^e$	$0,98 \pm 0,02^d$	$3,48 \pm 0,11^b$	$6,08 \pm 0,25^a$
Karbonilni spojevi	$62,24 \pm 1,32^d$	$57,36 \pm 1,57^d$	$57,29 \pm 0,82^d$	$36,81 \pm 1,22^f$	$39,05 \pm 1,30^{ef}$	$43,49 \pm 1,14^e$	$67,24 \pm 1,35^c$	$102,38 \pm 1,29^a$	$85,96 \pm 3,00^b$
Heksanal	-	$1,82 \pm 0,02^c$	$0,12 \pm 0,01^d$	-	-	-	-	$8,06 \pm 0,15^a$	$4,00 \pm 0,11^b$
Benzaldehid	$6,62 \pm 0,05^b$	$2,21 \pm 0,06^e$	$1,27 \pm 0,01^f$	$7,73 \pm 0,09^a$	$5,46 \pm 0,19^c$	$2,91 \pm 0,01^d$	$0,37 \pm 0,01^g$	$2,19 \pm 0,06^e$	$0,23 \pm 0,00^g$
2-oktenal	$4,29 \pm 0,08^d$	$11,97 \pm 0,34^a$	$7,05 \pm 0,26^b$	$2,13 \pm 0,03^e$	$7,61 \pm 0,17^b$	$4,58 \pm 0,23^d$	$2,92 \pm 0,15^e$	$12,32 \pm 0,07^a$	$5,37 \pm 0,37^c$
Nonanal	$14,05 \pm 0,21^{ef}$	$17,71 \pm 0,38^d$	$15,56 \pm 0,24^e$	$7,56 \pm 0,20^g$	$8,60 \pm 0,39^g$	$12,72 \pm 0,30^f$	$21,97 \pm 0,45^c$	$34,29 \pm 0,55^a$	$28,63 \pm 1,12^b$
2-nonenal	$2,56 \pm 0,15^{df}$	$4,72 \pm 0,30^b$	$4,02 \pm 0,06^c$	$1,68 \pm 0,01^e$	$2,44 \pm 0,12^{df}$	$2,64 \pm 0,00^d$	$2,12 \pm 0,03^{fe}$	$7,34 \pm 0,14^a$	$4,59 \pm 0,24^b$
Dekanal	$13,46 \pm 0,07^c$	$10,05 \pm 0,21^e$	$11,74 \pm 0,11^d$	$7,69 \pm 0,45^g$	$5,17 \pm 0,24^h$	$8,98 \pm 0,23^f$	$16,75 \pm 0,29^{ab}$	$15,88 \pm 0,00^b$	$16,96 \pm 0,53^a$
2,4-nonadienal	$1,44 \pm 0,05^e$	$1,25 \pm 0,02^e$	$3,00 \pm 0,06^d$	$0,90 \pm 0,05^f$	$1,47 \pm 0,07^e$	$1,23 \pm 0,01^e$	$4,01 \pm 0,03^c$	$4,47 \pm 0,13^b$	$4,85 \pm 0,19^a$
2-dekkenal	$3,22 \pm 0,05$	$2,40 \pm 0,06^g$	$3,36 \pm 0,03^f$	$2,60 \pm 0,21^g$	$4,82 \pm 0,05^d$	$4,29 \pm 0,19^e$	$9,13 \pm 0,15^c$	$13,94 \pm 0,18^a$	$13,13 \pm 0,29^b$
4-propilbenzaldehyd	-	-	-	$1,42 \pm 0,03^a$	$0,36 \pm 0,01^e$	$0,33 \pm 0,00^c$	$1,06 \pm 0,01^b$	-	-
Geranil aceton	$16,58 \pm 0,65^a$	$5,23 \pm 0,18^d$	$11,17 \pm 0,05^b$	$5,10 \pm 0,16^d$	$3,12 \pm 0,06^e$	$5,81 \pm 0,16^d$	$8,91 \pm 0,23^c$	$3,89 \pm 0,01^e$	$8,19 \pm 0,16^c$
Terpeni	$163,58 \pm 3,39^b$	$297,86 \pm 0,82^a$	$169,93 \pm 2,77^b$	$130,02 \pm 6,25^d$	$142,29 \pm 2,93^c$	$172,89 \pm 7,06^b$	$49,63 \pm 1,13^f$	$111,82 \pm 1,45^e$	$43,76 \pm 1,33^f$
D-limonen	$144,25 \pm 2,72^c$	$262,30 \pm 0,27^a$	$155,12 \pm 2,24^b$	$120,72 \pm 5,99^d$	$105,08 \pm 1,95^e$	$162,67 \pm 6,79^b$	$30,39 \pm 0,57^g$	$57,12 \pm 0,67^f$	$9,95 \pm 0,16^h$
Linalool	$6,13 \pm 0,22^b$	$4,82 \pm 0,08^{cd}$	$1,84 \pm 0,10^f$	$1,40 \pm 0,07^f$	$3,39 \pm 0,02^e$	$1,83 \pm 0,01^f$	$4,30 \pm 0,03^d$	$5,56 \pm 0,45^{bc}$	$9,73 \pm 0,60^a$
Mentol	$2,52 \pm 0,06^d$	$16,87 \pm 0,15^c$	$1,49 \pm 0,06^e$	$2,42 \pm 0,06^d$	$23,99 \pm 0,43^b$	$1,01 \pm 0,02^e$	$2,77 \pm 0,20^d$	$28,39 \pm 0,22^a$	$2,20 \pm 0,09^d$
α -terpineol	$3,58 \pm 0,23^d$	$2,39 \pm 0,26^e$	$3,36 \pm 0,10^d$	$1,27 \pm 0,07^g$	$1,76 \pm 0,13^g$	$2,15 \pm 0,04^{ef}$	$4,19 \pm 0,20^c$	$6,66 \pm 0,06^b$	$8,87 \pm 0,26^a$
Karvon	$2,95 \pm 0,08^{fg}$	$10,61 \pm 0,06^b$	$4,22 \pm 0,09^e$	$2,50 \pm 0,01^g$	$7,33 \pm 0,36^c$	$3,37 \pm 0,14^f$	$5,07 \pm 0,01^d$	$13,23 \pm 0,03^a$	$10,25 \pm 0,17^b$
α -ionon	$1,41 \pm 0,01^b$	-	$0,85 \pm 0,02^c$	$0,53 \pm 0,01^e$	$0,22 \pm 0,00^f$	$0,70 \pm 0,02^d$	$1,41 \pm 0,04^b$	$0,72 \pm 0,01^d$	$1,65 \pm 0,01^a$
β -ionon	$2,75 \pm 0,08^b$	$0,87 \pm 0,02^e$	$3,05 \pm 0,17^a$	$1,18 \pm 0,05^d$	$0,51 \pm 0,04^f$	$1,17 \pm 0,04^d$	$1,50 \pm 0,09^c$	$0,15 \pm 0,02^g$	$1,12 \pm 0,05^d$

CV – citrus vlakno, X – ksantan, G – guar, 1,2,3 – postotak korištenog vlakna. Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

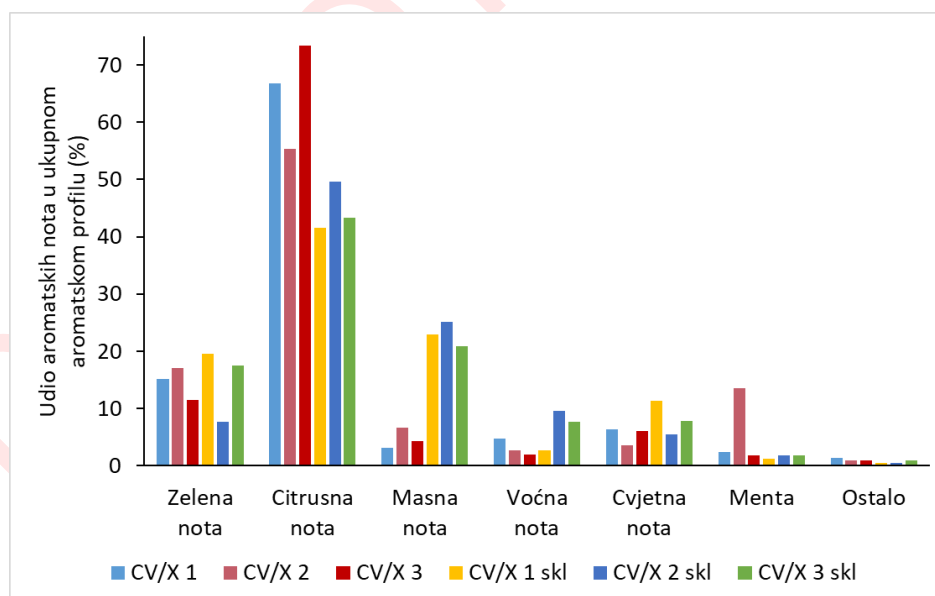
Tablica 27 Sadržaj hlapljivih komponenti u skladištenim kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije određenih GC-MS analizom ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Spoj	CV 1	CV 2	CV 3	CV/X 1	CV/X 2	CV/X 3	CV/G 1	CV/G 2	CV/G 3
Alkoholi	$23,90 \pm 0,73^{de}$	$5,09 \pm 0,45^g$	$28,37 \pm 0,77^c$	$25,39 \pm 0,07^d$	$14,11 \pm 0,74^f$	$34,80 \pm 0,73^a$	$22,11 \pm 0,11^e$	$31,39 \pm 0,27^b$	$28,25 \pm 1,89^c$
3-heksen-1-ol	-	$0,28 \pm 0,00^b$	-	-	$0,27 \pm 0,01^b$	-	-	$0,60 \pm 0,00^a$	-
Heks-1-ol	-	$0,26 \pm 0,00^c$	$0,13 \pm 0,00^c$	$0,15 \pm 0,00^c$	$0,42 \pm 0,01^b$	$0,53 \pm 0,01^b$	-	$9,07 \pm 0,11^a$	$0,17 \pm 0,00^c$
2-etilheksan-1-ol	$3,45 \pm 0,17^b$	$4,54 \pm 0,44^a$	$2,40 \pm 0,12^c$	$2,25 \pm 0,06^c$	$3,35 \pm 0,22^b$	$2,23 \pm 0,02^c$	$1,13 \pm 0,04^d$	$4,30 \pm 0,07^a$	$1,50 \pm 0,08^d$
Oktan-1-ol	$20,45 \pm 0,56^d$	-	$25,83 \pm 0,65^b$	$22,99 \pm 0,01^c$	$7,54 \pm 0,28^f$	$31,05 \pm 0,65^a$	$20,98 \pm 0,07^{cd}$	$13,66 \pm 0,03^e$	$23,84 \pm 1,74^{bc}$
Nonan-1-ol	-	-	-	-	$2,54 \pm 0,23^b$	$0,99 \pm 0,04^c$	-	$3,76 \pm 0,05^a$	$2,74 \pm 0,07^b$
Karbonilni spojevi	$35,71 \pm 1,11^f$	$65,54 \pm 0,57^d$	$37,44 \pm 1,20^f$	$60,78 \pm 2,16^d$	$81,08 \pm 1,67^c$	$92,35 \pm 2,55^b$	$51,78 \pm 1,49^e$	$110,65 \pm 1,20^a$	$94,38 \pm 5,15^b$
Heksanal	-	$0,98 \pm 0,05^c$	-	-	-	-	-	$6,41 \pm 0,05^a$	$2,11 \pm 0,09^b$
Benzaldehid	$8,26 \pm 0,34^d$	$10,58 \pm 0,19^c$	$0,98 \pm 0,04^g$	$1,59 \pm 0,02^f$	$15,01 \pm 0,19^a$	$13,52 \pm 0,28^b$	$1,65 \pm 0,03^f$	$10,47 \pm 0,19^c$	$2,96 \pm 0,05^e$
2-oktenal	$6,60 \pm 0,19^e$	$16,76 \pm 0,10^b$	$7,53 \pm 0,17^g$	$9,60 \pm 0,24^f$	$21,38 \pm 0,02^a$	$14,48 \pm 0,63^c$	$3,71 \pm 0,17^h$	$12,69 \pm 0,23^d$	$6,94 \pm 0,34^{ge}$
Nonanal	$6,51 \pm 0,11^g$	$14,90 \pm 0,12^c$	$9,35 \pm 0,39^f$	$11,01 \pm 0,20^e$	$13,24 \pm 0,57^d$	$14,63 \pm 0,23^c$	$14,70 \pm 0,41^c$	$26,90 \pm 0,09^a$	$23,18 \pm 0,64^b$
2-nonenal	$1,56 \pm 0,05^f$	$5,09 \pm 0,00^c$	$3,40 \pm 0,17^d$	$2,82 \pm 0,12^e$	$4,56 \pm 0,04^c$	$4,97 \pm 0,01^c$	$3,93 \pm 0,26^d$	$9,18 \pm 0,07^a$	$7,82 \pm 0,37^b$
Dekanal	$4,62 \pm 0,04^f$	$7,59 \pm 0,07^d$	$6,19 \pm 0,18^e$	$8,47 \pm 0,52^c$	$6,55 \pm 0,10^e$	$9,29 \pm 0,09^b$	$8,49 \pm 0,01^c$	$10,09 \pm 0,29^a$	$9,63 \pm 0,26^{ab}$
2,4-nonadienal	$0,95 \pm 0,09^d$	$0,70 \pm 0,01^d$	$1,55 \pm 0,01^c$	$1,73 \pm 0,09^{bc}$	$1,71 \pm 0,03^b$	$1,99 \pm 0,10^b$	$1,58 \pm 0,01^c$	$3,34 \pm 0,01^a$	$3,58 \pm 0,22^a$
2-dekenal	$3,60 \pm 0,19^e$	$5,13 \pm 0,03^e$	$4,52 \pm 0,06^e$	$18,98 \pm 0,68^c$	$16,06 \pm 0,68^{cd}$	$26,37 \pm 1,02^b$	$14,39 \pm 0,39^d$	$27,91 \pm 0,20^b$	$32,69 \pm 2,83^a$
Geranil aceton	$3,62 \pm 0,10^c$	$3,82 \pm 0,01^c$	$3,92 \pm 0,18^c$	$6,58 \pm 0,29^a$	$2,57 \pm 0,05^d$	$7,11 \pm 0,20^a$	$3,34 \pm 0,21^c$	$3,65 \pm 0,07^c$	$5,47 \pm 0,35^b$
Terpeni	$36,66 \pm 0,60^g$	$121,02 \pm 0,12^a$	$50,92 \pm 0,89^d$	$46,15 \pm 1,48^e$	$70,24 \pm 0,58^c$	$82,09 \pm 1,96^b$	$21,21 \pm 0,40^h$	$51,84 \pm 0,96^d$	$42,08 \pm 0,64^f$
D-limonen	$30,54 \pm 0,40^f$	$113,51 \pm 0,02^a$	$43,69 \pm 0,67^d$	$41,76 \pm 1,36^d$	$64,33 \pm 0,49^c$	$72,77 \pm 1,59^b$	$13,14 \pm 0,14^h$	$37,17 \pm 0,71^e$	$22,64 \pm 0,02^g$
Linalool	-	$1,19 \pm 0,02^c$	-	-	$1,15 \pm 0,00^c$	$1,13 \pm 0,05^c$	$1,19 \pm 0,03^c$	$4,73 \pm 0,01^a$	$4,26 \pm 0,14^b$
Mentol	$1,56 \pm 0,04^b$	$1,24 \pm 0,03^c$	$1,54 \pm 0,01^b$	$0,91 \pm 0,01^d$	$1,28 \pm 0,02^c$	$0,88 \pm 0,07^d$	$1,28 \pm 0,07^c$	$1,82 \pm 0,02^a$	$1,57 \pm 0,10^b$
α -terpineol	$1,01 \pm 0,04^e$	$1,39 \pm 0,01^d$	$1,99 \pm 0,10^c$	$0,66 \pm 0,01^f$	$0,92 \pm 0,02^e$	$1,89 \pm 0,03^c$	$1,59 \pm 0,03^d$	$3,53 \pm 0,06^b$	$5,16 \pm 0,15^a$
Karvon	$0,76 \pm 0,03^f$	$1,44 \pm 0,02^e$	$1,97 \pm 0,01^d$	$0,77 \pm 0,03^f$	$1,71 \pm 0,03^d$	$2,87 \pm 0,15^c$	$1,39 \pm 0,10^e$	$3,23 \pm 0,14^b$	$4,99 \pm 0,10^a$
α -ionon	$0,80 \pm 0,02^d$	$0,49 \pm 0,01^f$	$0,42 \pm 0,00^g$	$0,61 \pm 0,04^e$	$0,32 \pm 0,00^h$	$0,90 \pm 0,03^c$	$1,22 \pm 0,01^b$	$0,77 \pm 0,01^d$	$1,86 \pm 0,02^a$
β -ionon	$1,98 \pm 0,08^a$	$1,76 \pm 0,01^b$	$1,32 \pm 0,09^d$	$1,44 \pm 0,02^{cd}$	$0,52 \pm 0,01^e$	$1,65 \pm 0,03^b$	$1,40 \pm 0,03^{cd}$	$0,59 \pm 0,01^e$	$1,59 \pm 0,11^b^c$

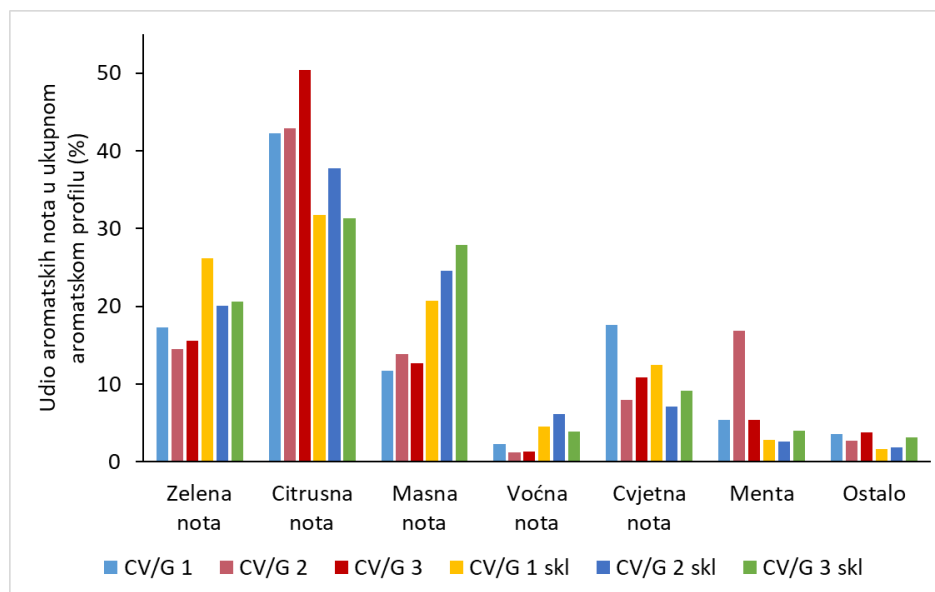
CV – citrus vlakno, X – ksantan, G - -guar, 1,2,3 – postotak korištenog vlakna. Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).



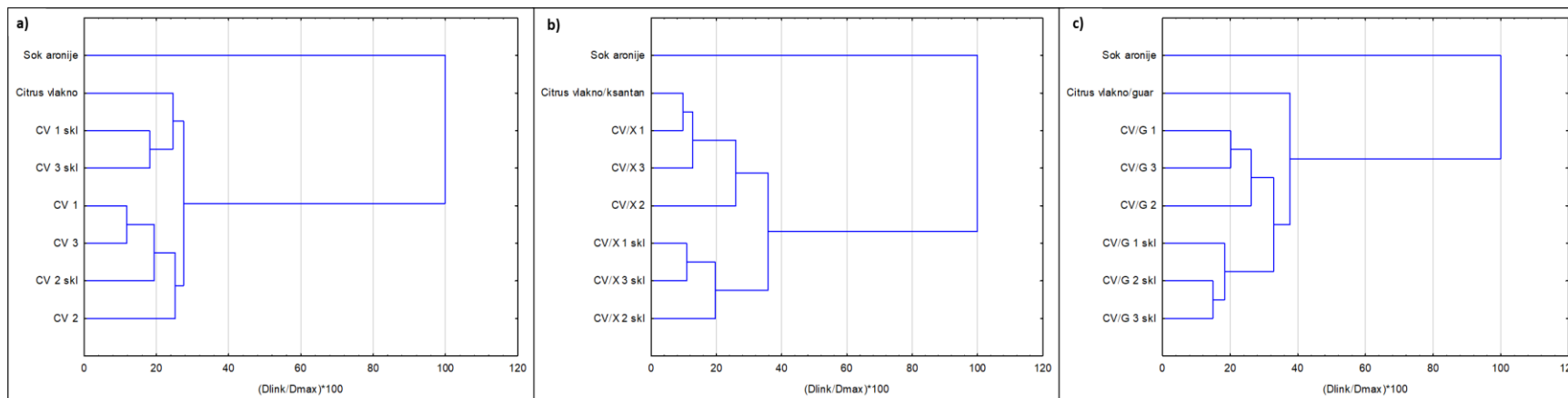
Slika 37 Aromatski profil kompleksa na bazi citrus vlakna sa sokom aronije nakon pripreme i nakon skladištenja (CV – citrus vlakno; skl – skladišteno; 1,2,3 - postotak korištenog vlakna)



Slika 38 Aromatski profil kompleksa na bazi citrus vlakna/ksantana sa sokom aronije nakon pripreme i nakon skladištenja (CV – citrus vlakno; X – ksantan; skl – skladišteno; 1,2,3 - postotak korištenog vlakna)



Slika 39 Aromatski profil kompleksa na bazi citrus vlakna/guara sa sokom aronije nakon pripreme i nakon skladištenja (CV – citrus vlakno; G – guar; skl – skladišteno; 1,2,3 - postotak korištenog vlakna)



Slika 40 Grupiranje uzoraka po sličnosti aromatskog profila u kompleksima na bazi a) citrus vlakna b) citrus vlakna/ksantana i c) citrus vlakna/guara primjenom klaster analize (CV – citrus vlakno; X – ksantan, G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna; skl – skladišteno)

4.2.8. Parametri boje kompleksa

Tablica 28 Parametri boje kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije

Uzorak	L*	a*	b*	ΔE	ΔE^1	$^{\circ}h$	C*
CV 1	38,29 ± 0,17 ^h	14,69 ± 0,21 ^g	4,06 ± 0,07 ^f	23,39	48,81	15,44 ± 0,14 ^f	15,24 ± 0,22 ^g
CV 2	43,02 ± 0,14 ^e	17,21 ± 0,05 ^e	4,96 ± 0,06 ^d	28,79	45,08	16,06 ± 0,15 ^{bc}	17,91 ± 0,06 ^e
CV 3	44,74 ± 0,06 ^b	17,79 ± 0,10 ^d	5,08 ± 0,03 ^c	30,53	43,76	15,93 ± 0,07 ^{cd}	18,50 ± 0,11 ^d
CV/X 1	39,73 ± 0,05 ^g	15,73 ± 0,05 ^f	4,55 ± 0,02 ^e	25,23	51,18	16,14 ± 0,06 ^{ab}	16,37 ± 0,05 ^f
CV/X 2	43,44 ± 0,14 ^d	18,55 ± 0,11 ^b	5,25 ± 0,03 ^b	29,93	48,62	15,80 ± 0,09 ^{de}	19,28 ± 0,11 ^b
CV/X 3	46,02 ± 0,07 ^a	18,99 ± 0,07 ^a	5,35 ± 0,05 ^a	32,28	46,47	15,75 ± 0,10 ^e	19,73 ± 0,08 ^a
CV/G 1	39,82 ± 0,08 ^g	15,56 ± 0,12 ^f	4,49 ± 0,07 ^e	25,19	46,52	16,10 ± 0,12 ^b	16,20 ± 0,13 ^f
CV/G 2	42,34 ± 0,03 ^f	17,74 ± 0,03 ^d	5,19 ± 0,02 ^b	28,58	44,82	16,30 ± 0,03 ^a	18,49 ± 0,03 ^d
CV/G 3	44,11 ± 0,14 ^c	18,03 ± 0,09 ^c	5,18 ± 0,04 ^b	30,16	43,38	16,04 ± 0,08 ^{bc}	18,75 ± 0,09 ^c

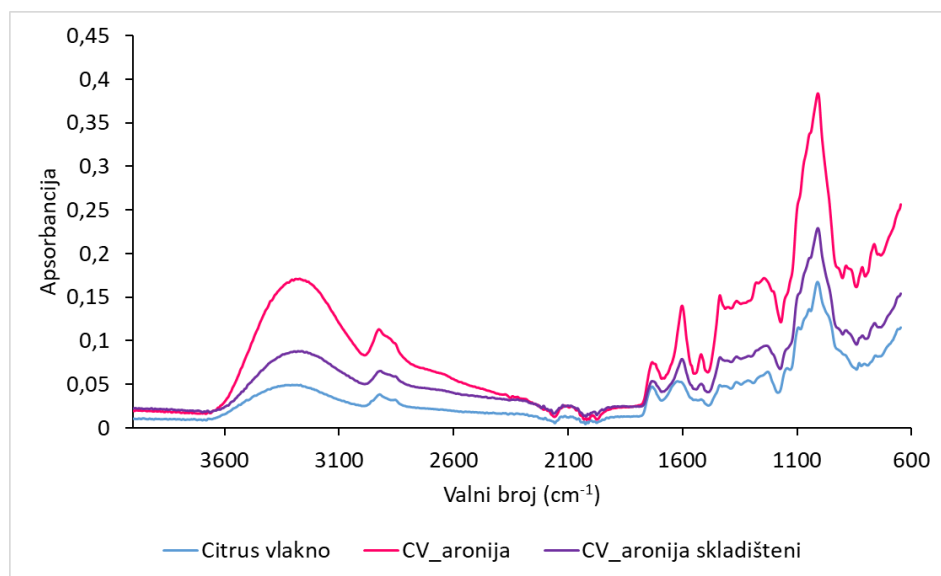
CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna; ΔE – razlika boje između soka aronije i uzoraka; ΔE^1 – razlika boje između nosača i uzoraka. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 29 Parametri boje skladištenih kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije

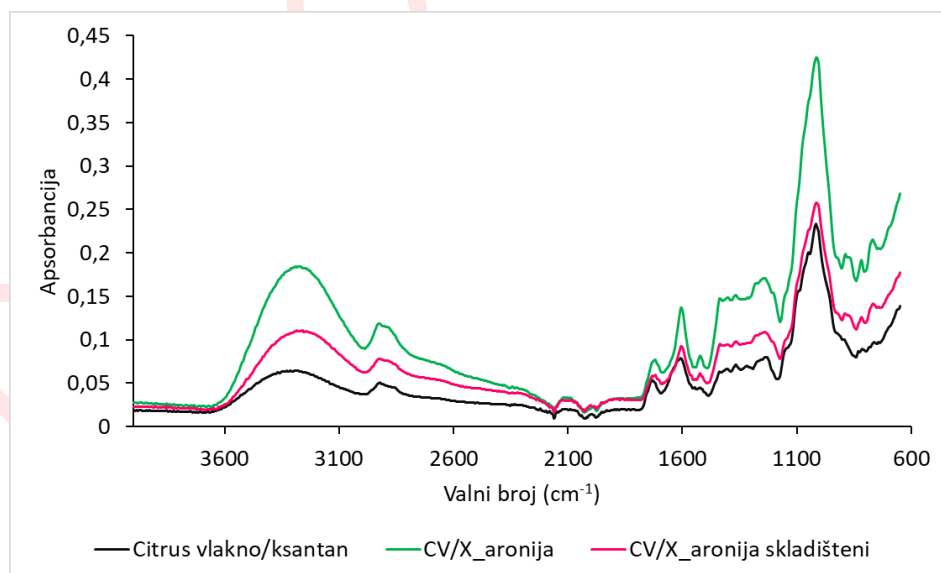
Uzorak	L*	a*	b*	ΔE	$^{\circ}h$	C*
CV 1	38,46 ± 0,15 ^f	15,18 ± 0,13 ⁱ	4,98 ± 0,03 ^g	1,06	18,18 ± 0,11 ^{bc}	15,97 ± 0,13 ⁱ
CV 2	42,94 ± 0,19 ^c	17,39 ± 0,06 ^f	5,73 ± 0,05 ^d	0,80	18,25 ± 0,11 ^b	18,31 ± 0,06 ^f
CV 3	45,32 ± 0,17 ^a	18,09 ± 0,12 ^d	5,83 ± 0,04 ^c	1,00	17,87 ± 0,03 ^d	19,00 ± 0,12 ^d
CV/X 1	39,70 ± 0,16 ^e	16,79 ± 0,01 ^g	5,45 ± 0,10 ^e	1,39	17,97 ± 0,31 ^{cd}	17,66 ± 0,04 ^g
CV/X 2	42,60 ± 0,16 ^d	18,70 ± 0,06 ^b	5,81 ± 0,04 ^{cd}	1,02	17,26 ± 0,06 ^e	19,58 ± 0,07 ^b
CV/X 3	45,21 ± 0,10 ^a	19,14 ± 0,06 ^a	5,84 ± 0,01 ^{bc}	0,96	16,98 ± 0,06 ^f	20,01 ± 0,06 ^a
CV/G 1	39,87 ± 0,10 ^e	15,83 ± 0,11 ^h	5,24 ± 0,05 ^f	0,80	18,32 ± 0,18 ^b	16,68 ± 0,11 ^h
CV/G 2	42,59 ± 0,18 ^d	17,79 ± 0,04 ^e	6,01 ± 0,02 ^a	0,86	18,67 ± 0,05 ^a	18,78 ± 0,04 ^e
CV/G 3	44,73 ± 0,09 ^b	18,27 ± 0,03 ^c	5,91 ± 0,03 ^b	0,99	17,93 ± 0,06 ^d	19,20 ± 0,03 ^c

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna; ΔE – razlika boje između uzoraka nakon pripreme i skladištenih uzoraka. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

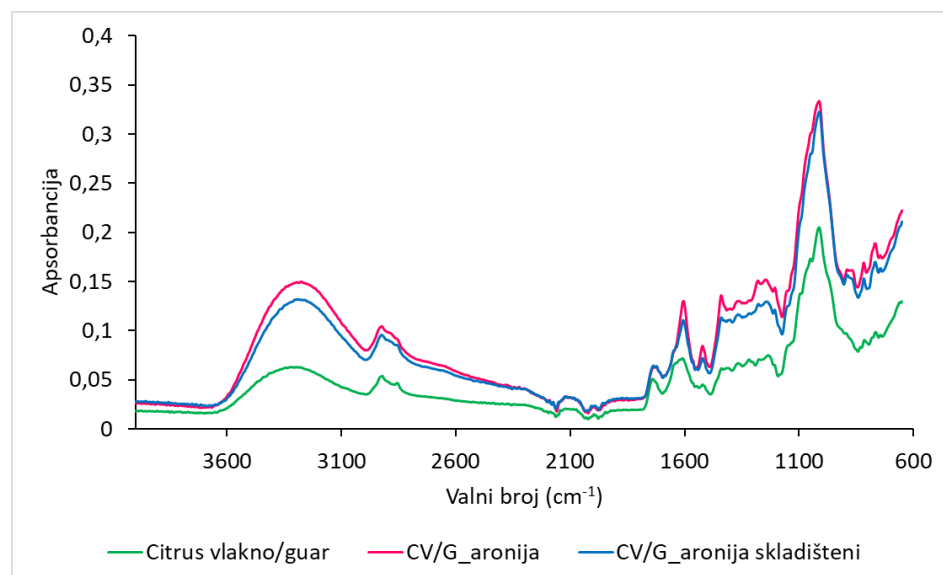
4.2.9. IR spektri kompleksa



Slika 41 IR spektri citrus vlakna i kompleksa na bazi citrus vlakna (CV) sa sokom aronije



Slika 42 IR spektri citrus vlakna/ksantana i kompleksa na bazi citrus vlakna/ksantana (CV/X) sa sokom aronije



Slika 43 IR spektri citrus vlakna/guara i kompleksa na bazi citrus vlakna/guara (CV/G) sa sokom aronije

Tablica 30 Indeks ukupnog kristaliteta (TCI), indeks bočnog poretka (LOI) i intenzitet vodikove veze (HBI) za vlakna i komplekse na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije

Uzorak	TCI	LOI	HBI
Prije skladištenja			
Citrus vlakno	1,64	0,56	0,91
CV 1	1,40	0,88	1,14
CV 2	1,43	0,83	1,06
CV 3	1,47	0,79	1,06
Citrus vlakno/ksantan	1,51	0,63	0,91
CV/X 1	1,29	0,83	1,20
CV/X 2	1,32	0,76	1,11
CV/X 3	1,34	0,76	1,15
Citrus vlakno/guar	1,39	0,63	0,90
CV/G 1	1,34	0,90	1,11
CV/G 2	1,33	0,82	1,11
CV/G 3	1,31	0,77	1,08
Nakon skladištenja			
CV 1	1,31	0,87	1,09
CV 2	1,30	0,85	1,11
CV 3	1,34	0,75	1,03
CV/X 1	1,29	0,82	1,12
CV/X 2	1,29	0,77	1,10
CV/X 3	1,30	0,74	1,11
CV/G 1	1,30	0,91	1,15
CV/G 2	1,32	0,84	1,17
CV/G 3	1,29	0,77	1,09

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; 1,2,3 – postotak korištenog vlakna.

4.3. BIOAKTIVNI DODACI HRANI NA BAZI VLAKANA I DISAHARIDA SA SOKOM ARONIJE

4.3.1. Sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u kompleksima

Tablica 31 Sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima (mg/g)

Uzorak	Ukupni polifenoli	Antocijanini	Proantocijanidini
CV	67,15 ± 0,75 ^a	1,93 ± 0,02 ^a	10,64 ± 0,23 ^a
CV T	64,56 ± 1,87 ^b	1,74 ± 0,05 ^{cd}	10,07 ± 0,10 ^c
CV S	67,56 ± 1,73 ^a	1,83 ± 0,08 ^b	10,33 ± 0,04 ^b
CV/X	64,37 ± 0,80 ^b	1,72 ± 0,06 ^{cde}	9,55 ± 0,09 ^d
CV/X T	60,71 ± 1,42 ^c	1,61 ± 0,01 ^f	8,89 ± 0,22 ^e
CV/X S	56,72 ± 0,64 ^d	1,66 ± 0,04 ^{df}	7,24 ± 0,09 ^e
CV/G	66,60 ± 1,53 ^a	1,66 ± 0,03 ^{ef}	9,53 ± 0,07 ^d
CV/G T	62,48 ± 0,74 ^c	1,76 ± 0,05 ^c	9,41 ± 0,07 ^d
CV/G S	61,42 ± 1,15 ^c	1,78 ± 0,06 ^{bc}	8,29 ± 0,04 ^f

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 32 Sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u skladištenim kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima (mg/g)

Uzorak	Ukupni polifenoli	Antocijanini	Proantocijanidini
CV	71,39 ± 1,85 ^a	1,88 ± 0,07 ^a	10,95 ± 0,37 ^a
CV T	62,13 ± 1,40 ^c	1,67 ± 0,04 ^{cd}	9,68 ± 0,25 ^b
CV S	63,65 ± 0,93 ^{bc}	1,77 ± 0,01 ^b	9,20 ± 0,30 ^c
CV/X	61,65 ± 0,93 ^c	1,65 ± 0,02 ^{cd}	8,54 ± 0,06 ^e
CV/X T	58,73 ± 1,90 ^d	1,54 ± 0,07 ^e	8,36 ± 0,14 ^e
CV/X S	57,79 ± 1,38 ^d	1,62 ± 0,02 ^d	7,60 ± 0,22 ^f
CV/G	64,74 ± 1,08 ^b	1,66 ± 0,03 ^{cd}	8,88 ± 0,32 ^d
CV/G T	62,81 ± 1,20 ^{bc}	1,71 ± 0,05 ^{bc}	8,96 ± 0,16 ^{cd}
CV/G S	56,91 ± 1,08 ^d	1,55 ± 0,07 ^e	7,66 ± 0,21 ^f

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 33 Zadržavanje polifenola nakon skladištenja u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima

Uzorak	Antocijanini (%)	Proantocijanidini (%)
CV	97,48	100,00
CV T	96,08	96,08
CV S	96,45	89,05
CV/X	95,85	89,44
CV/X T	95,21	93,96
CV/X S	97,49	100,00
CV/G	100,00	93,22
CV/G T	97,35	95,22
CV/G S	87,28	92,41

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza. Izračunato iz rezultata dobivenih spektrofotometrijskim mjerenjem sadržaja ukupnih antocijanina i proantocijanidina.

4.3.2. Sadržaj individualnih polifenola u kompleksima određenih HPLC analizom

Tablica 34 Sadržaj pojedinačnih polifenola u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima određenih HPLC analizom (mg/100 g)

Spoj	CV	CV T	CV S	CV/X	CV/X T	CV/X S	CV/G	CV/G T	CV/G S
Antocijanini									
C-3-gal	27,99 ± 0,20 ^a	27,35 ± 0,17 ^b	27,47 ± 0,52 ^b	27,04 ± 0,14 ^b	25,78 ± 0,09 ^{cd}	25,74 ± 0,35 ^d	27,22 ± 0,07 ^b	27,18 ± 0,38 ^b	26,20 ± 0,43 ^c
C-3-glu	13,79 ± 0,13 ^b	13,48 ± 0,14 ^b	13,84 ± 0,10 ^b	12,17 ± 0,17 ^c	11,38 ± 0,49 ^d	8,22 ± 0,20 ^f	14,37 ± 0,02 ^a	14,72 ± 0,26 ^a	10,85 ± 0,22 ^e
C-3-ara	10,40 ± 0,38 ^a	10,33 ± 0,30 ^a	10,54 ± 0,43 ^a	10,43 ± 0,17 ^a	9,57 ± 0,44 ^b	9,41 ± 0,06 ^b	10,57 ± 0,24 ^a	10,70 ± 0,16 ^a	9,19 ± 0,39 ^b
<i>Ukupno</i>	52,18 ± 0,71 ^a	51,16 ± 0,61 ^{ab}	51,85 ± 1,05 ^{ab}	49,63 ± 0,48 ^b	46,72 ± 1,02 ^c	43,37 ± 0,61 ^d	52,17 ± 0,33 ^a	52,60 ± 0,80 ^a	46,24 ± 1,04 ^c
Fenolne kiseline									
NK	83,34 ± 1,46 ^b	74,33 ± 1,23 ^d	70,69 ± 0,91 ^e	89,04 ± 0,60 ^a	78,46 ± 0,43 ^c	77,24 ± 3,26 ^c	74,16 ± 0,69 ^d	63,99 ± 0,57 ^f	60,80 ± 1,02 ^g
KK	115,14 ± 0,38 ^e	111,11 ± 0,89 ^f	110,98 ± 1,17 ^f	132,34 ± 0,68 ^a	119,69 ± 1,98 ^d	121,96 ± 0,80 ^c	125,17 ± 1,55 ^b	114,49 ± 0,06 ^e	111,67 ± 1,00 ^f
DKK	73,13 ± 1,02 ^{de}	71,73 ± 0,97 ^e	72,25 ± 0,67 ^{de}	87,95 ± 1,07 ^a	81,72 ± 1,44 ^b	82,69 ± 2,18 ^b	81,50 ± 1,05 ^b	76,48 ± 0,53 ^c	73,85 ± 1,69 ^d
<i>Ukupno</i>	271,61 ± 2,86 ^b	257,18 ± 3,10 ^c	253,91 ± 2,75 ^c	309,33 ± 2,35 ^a	279,88 ± 3,85 ^b	281,90 ± 6,24 ^b	280,83 ± 3,29 ^b	254,96 ± 1,16 ^c	246,32 ± 3,70 ^c
Flavonoli									
K-3-gal	27,56 ± 0,20 ^c	25,81 ± 0,11 ^d	26,16 ± 0,66 ^d	28,19 ± 0,70 ^b	24,22 ± 0,17 ^e	24,08 ± 0,42 ^e	29,88 ± 0,52 ^a	28,26 ± 0,15 ^b	27,78 ± 0,18 ^{bc}
Flavanoni									
H	907,22 ± 5,32 ^d	846,70 ± 0,67 ^f	862,85 ± 8,52 ^e	842,27 ± 3,00 ^f	763,54 ± 2,15 ^g	721,83 ± 2,87 ^h	1276,19 ± 2,55 ^b	1297,25 ± 10,77 ^a	1185,86 ± 12,17 ^c

C-3-gal – cijanidin-3-galaktozid; C-3-glu – cijanidin-3-glukozid; C-3-ara – cijanidin-3-arabinozid; NK – neoklorogenska kiselina; KK – klorogenska kiselina; DKK – derivat klorogenske kiseline; K-3-gal – kvercetin-3-galaktozid; H – hesperidin; CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza, S – saharoza. Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 35 Sadržaj pojedinačnih polifenola u skladištenim kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima određenih HPLC analizom (mg/100 g)

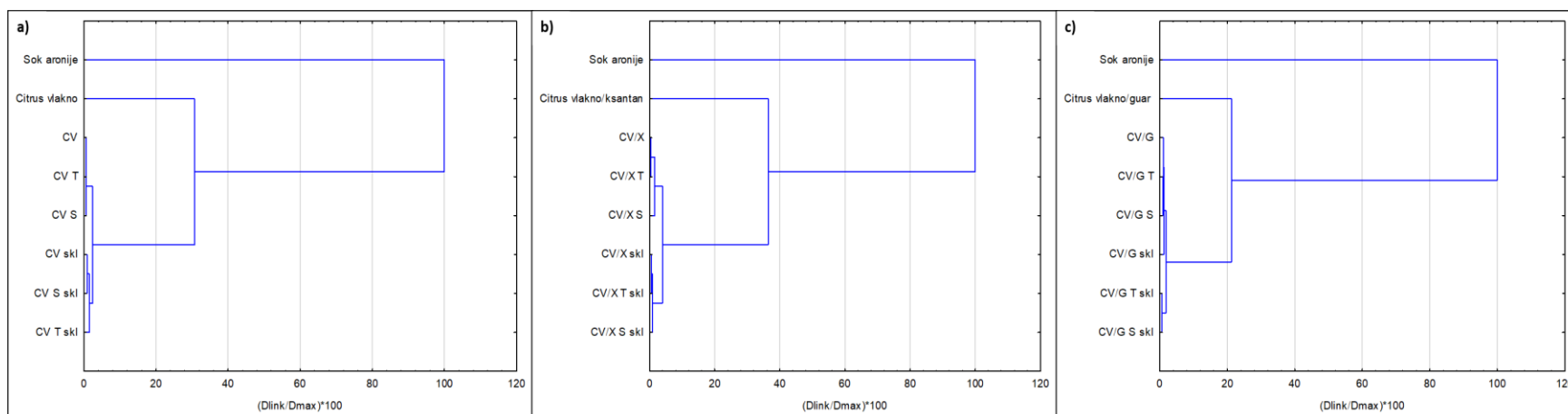
Spoj	CV	CV T	CV S	CV/X	CV/X T	CV/X S	CV/G	CV/G T	CV/G S
Antocijanini									
C-3-gal	28,26 ± 0,13 ^a	26,54 ± 0,37 ^b	25,86 ± 0,23 ^c	25,17 ± 0,29 ^d	24,84 ± 0,04 ^d	24,72 ± 0,42 ^d	26,08 ± 0,34 ^{bc}	23,64 ± 0,45 ^e	22,31 ± 0,21 ^f
C-3-glu	11,77 ± 0,59 ^b	13,13 ± 0,15 ^a	8,41 ± 0,09 ^c	6,12 ± 0,16 ^e	5,73 ± 0,03 ^e	0,75 ± 0,04 ^s	6,69 ± 0,16 ^d	8,51 ± 0,33 ^c	1,43 ± 0,08 ^f
C-3-ara	9,26 ± 0,17 ^a	7,95 ± 0,16 ^b	6,93 ± 0,06 ^c	6,21 ± 0,09 ^e	6,13 ± 0,05 ^e	5,05 ± 0,23 ^f	6,60 ± 0,23 ^d	6,78 ± 0,11 ^{cd}	5,18 ± 0,13 ^f
<i>Ukupno</i>	49,29 ± 0,89 ^a	47,63 ± 0,68 ^a	41,21 ± 0,37 ^b	37,50 ± 0,54 ^{cd}	36,71 ± 0,11 ^d	30,52 ± 0,69 ^e	39,37 ± 0,73 ^{bc}	38,93 ± 0,89 ^c	28,91 ± 0,41 ^e
Fenolne kiseline									
NK	42,22 ± 1,06 ^c	37,04 ± 1,06 ^d	36,98 ± 0,78 ^d	51,35 ± 1,53 ^a	45,34 ± 0,86 ^b	43,66 ± 0,24 ^{bc}	45,08 ± 1,97 ^b	37,71 ± 0,60 ^d	31,96 ± 0,63 ^e
KK	95,77 ± 0,12 ^e	92,41 ± 1,04 ^f	59,42 ± 0,28 ^h	109,42 ± 0,90 ^a	101,98 ± 1,38 ^c	102,64 ± 1,16 ^c	106,05 ± 0,88 ^b	99,94 ± 0,48 ^d	89,51 ± 0,75 ^g
DKK	63,61 ± 0,87 ^c	59,24 ± 0,96 ^d	59,42 ± 0,28 ^d	71,73 ± 1,30 ^a	67,54 ± 1,14 ^b	66,99 ± 0,95 ^b	66,48 ± 2,22 ^b	60,90 ± 0,76 ^d	54,38 ± 0,20 ^e
<i>Ukupno</i>	201,60 ± 2,05 ^c	188,68 ± 3,56 ^d	188,29 ± 1,51 ^d	232,50 ± 3,73 ^a	214,88 ± 3,37 ^b	213,28 ± 2,35 ^b	217,61 ± 5,06 ^b	198,55 ± 1,84 ^c	175,85 ± 1,58 ^e
Flavonoli									
K-3-gal	29,60 ± 0,38 ^b	27,35 ± 0,22 ^d	27,10 ± 0,71 ^d	27,79 ± 0,87 ^{bcd}	29,62 ± 0,30 ^b	24,73 ± 0,81 ^e	32,51 ± 0,83 ^a	29,33 ± 1,24 ^{bc}	27,79 ± 2,04 ^{cd}
Flavanoni									
H	809,23 ± 4,94 ^d	696,37 ± 2,23 ^f	722,96 ± 2,24 ^e	736,89 ± 9,41 ^e	687,35 ± 0,96 ^f	660,85 ± 7,50 ^g	1120,54 ± 11,21 ^b	1141,96 ± 6,53 ^a	1004,27 ± 10,85 ^c

C-3-gal – cijanidin-3-galaktozid; C-3-glu – cijanidin-3-glukozid; C-3-ara – cijanidin-3-arabinozid; NK – neoklorogenska kiselina; KK – klorogenska kiselina; DKK – derivat klorogenske kiseline; K-3-gal – kvercetin-3-galaktozid; H – hesperidin; CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza, S – saharoza. Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 36 Zadržavanje polifenola (%) nakon skladištenja u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima

Uzorak	Ukupni antocijanini	Neoklorogenska kiselina	Klorogenska kiselina	Derivat klorogenske kiseline	Ukupne fenolne kiseline	Kvercetin-3-galaktozid	Hesperidin	Ukupni polifenoli
CV	94,46	50,66	83,18	86,98	74,22	107,41	89,20	86,58
CV T	93,09	49,82	83,17	82,58	73,37	105,94	82,24	81,30
CV S	79,47	52,31	82,81	82,24	74,16	103,58	83,79	81,99
CV/X	75,55	57,67	82,68	81,56	75,16	98,58	87,49	84,16
CV/X T	78,57	57,78	85,20	82,68	76,78	122,30	90,02	86,92
CV/X S	70,37	56,52	84,15	81,01	75,66	102,68	91,55	86,76
CV/G	75,47	60,79	84,72	81,57	77,49	108,81	87,80	86,03
CV/G T	74,01	58,92	87,30	79,63	77,88	103,79	88,03	86,27
CV/G S	62,52	52,56	80,16	73,63	71,39	100,03	84,69	82,11

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza. Izračunato iz rezultata dobivenih HPLC analizom polifenola.



Slika 44 Grupiranje uzoraka po sličnosti sadržaja polifenola u kompleksima na bazi a) citrus vlakna b) citrus vlakna/ksantana i c) citrus vlakna/guara primjenom klaster analize (CV – citrus vlakno; X – ksantan, G – guar; T – trehaloza; S - saharoza; skl – skladišteno)

4.3.3. Antioksidacijska aktivnost kompleksa

Tablica 37 Antioksidacijska aktivnost kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima (mmol/100 g)

Uzorak	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
CV	26,85 ± 0,49 ^{bc}	43,38 ± 0,63 ^a	44,11 ± 1,09 ^{ab}	69,98 ± 0,92 ^{ab}
CV T	25,64 ± 0,31 ^d	40,32 ± 0,86 ^b	41,76 ± 0,55 ^d	66,42 ± 1,87 ^{de}
CV S	27,50 ± 0,91 ^{ab}	43,53 ± 0,55 ^a	44,80 ± 0,57 ^a	70,76 ± 0,21 ^a
CV/X	27,11 ± 0,90 ^{bc}	41,05 ± 0,52 ^b	42,58 ± 0,61 ^{cd}	68,69 ± 0,70 ^{bc}
CV/X T	24,41 ± 0,58 ^e	37,45 ± 0,54 ^c	40,26 ± 0,60 ^e	61,92 ± 0,67 ^f
CV/X S	24,38 ± 0,62 ^e	35,82 ± 1,80 ^d	38,39 ± 1,71 ^f	59,56 ± 1,03 ^g
CV/G	28,20 ± 0,86 ^a	44,43 ± 0,66 ^a	43,10 ± 0,49 ^{bc}	67,52 ± 0,40 ^{cd}
CV/G T	27,34 ± 0,22 ^{ac}	40,74 ± 0,04 ^b	42,49 ± 0,55 ^{cd}	66,08 ± 0,80 ^e
CV/G S	25,33 ± 0,25 ^d	40,43 ± 0,86 ^b	39,79 ± 0,95 ^e	63,10 ± 0,86 ^f

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 38 Antioksidacijska aktivnost skladištenih kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima (mmol/100 g)

Uzorak	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
CV	26,29 ± 0,27 ^a	46,23 ± 0,74 ^a	44,54 ± 0,53 ^a	73,59 ± 2,06 ^a
CV T	23,85 ± 0,93 ^{ef}	42,36 ± 0,26 ^{bc}	40,86 ± 0,58 ^{ce}	68,94 ± 1,61 ^b
CV S	25,07 ± 0,50 ^{bc}	43,31 ± 0,64 ^b	42,17 ± 0,35 ^b	65,45 ± 1,79 ^c
CV/X	24,91 ± 0,14 ^{bcd}	41,87 ± 0,81 ^c	41,49 ± 0,66 ^{bcd}	65,37 ± 1,17 ^c
CV/X T	24,16 ± 0,30 ^{def}	39,73 ± 0,84 ^d	38,72 ± 0,19 ^f	60,49 ± 0,78 ^d
CV/X S	24,38 ± 0,57 ^{cef}	38,23 ± 0,58 ^e	38,66 ± 0,65 ^f	61,30 ± 0,91 ^d
CV/G	25,57 ± 0,67 ^{ab}	40,30 ± 0,89 ^d	41,71 ± 1,19 ^{bc}	65,66 ± 0,57 ^c
CV/G T	25,09 ± 0,60 ^{bc}	39,92 ± 0,94 ^d	40,65 ± 1,17 ^{de}	65,91 ± 1,79 ^c
CV/G S	24,09 ± 0,96 ^f	36,34 ± 0,38 ^f	38,51 ± 0,85 ^f	59,47 ± 2,41 ^d

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

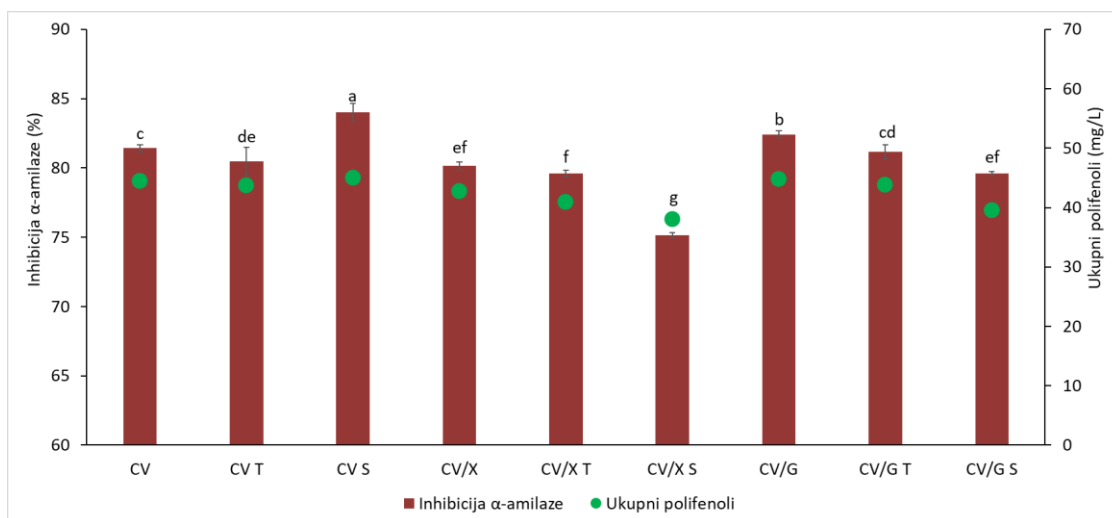
4.3.4. Koeficijenti korelacije utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost kompleksa

Tablica 39 Koeficijenti korelacije (r^2) utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnosti kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima

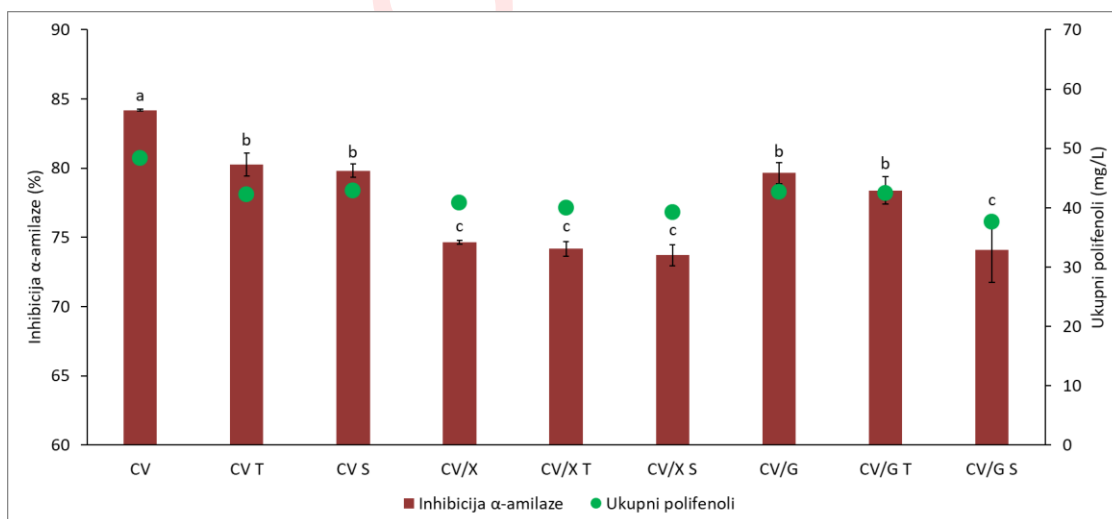
	Spektrofotometrijske analize			HPLC analiza			
	Proantocijanidini	Antocijanini	Ukupni polifenoli	Fenolne kiseline	Antocijanini ukupno	Flavanoni	Flavonoli
DPPH	0,6651	0,3711	0,8062	0,0380	0,8535	0,5567	0,8202
ABTS	0,7841	0,5536	0,9425	-0,1503	0,8421	0,4984	0,7705
FRAP	0,9217	0,5997	0,9469	-0,0567	0,9106	0,2140	0,5258
CUPRAC	0,9157	0,6484	0,9533	-0,0045	0,8702	0,1704	0,5633

Tablica 40 Koeficijenti korelacije (r^2) utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnosti skladištenih kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima

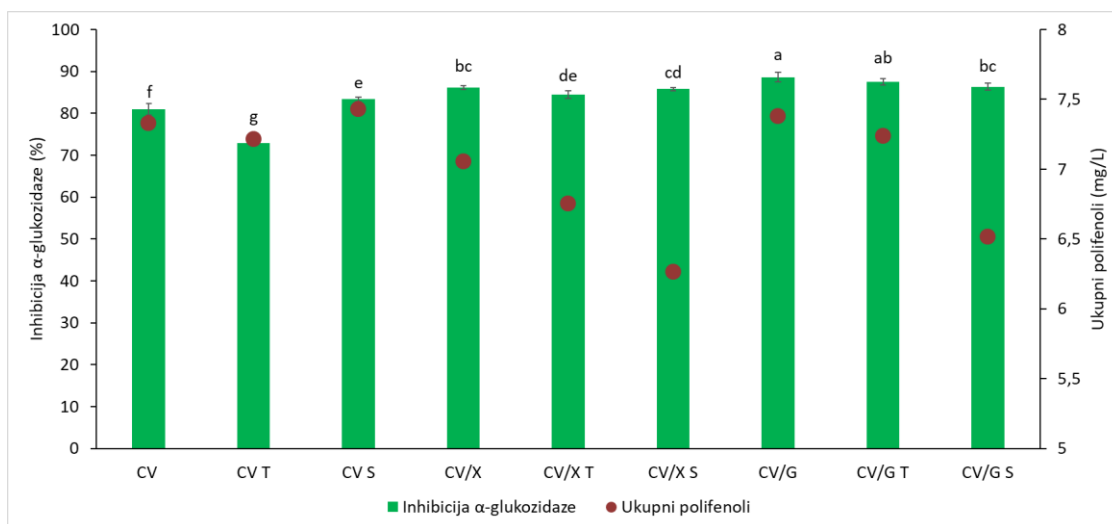
	Spektrofotometrijske analize			HPLC analiza			
	Proantocijanidini	Antocijanini	Ukupni polifenoli	Fenolne kiseline	Antocijanini ukupno	Flavanoni	Flavonoli
DPPH	0,6336	0,7935	0,8772	0,2509	0,4676	0,3350	0,5109
ABTS	0,9231	0,8652	0,8753	0,1005	0,9020	-0,2877	0,1787
FRAP	0,8920	0,9178	0,9554	0,0835	0,8147	0,1833	0,3652
CUPRAC	0,9572	0,8843	0,9256	-0,0013	0,9245	-0,0029	0,2656

4.3.5. Inhibicija enzima α -amilaze kompleksima

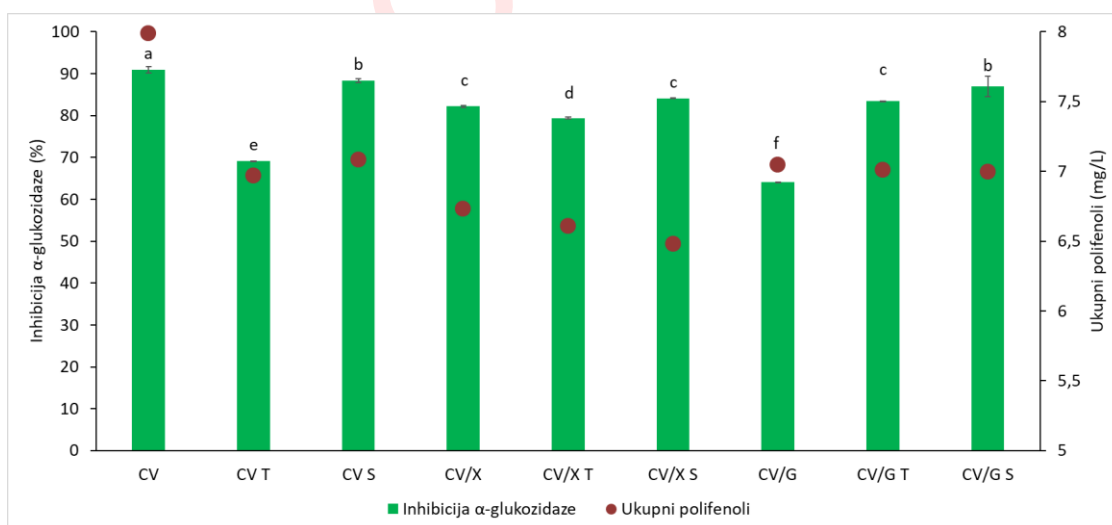
Slika 45 Sposobnost inhibicije enzima α -amilaze kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima (CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza; srednje vrijednosti iznad kojih slijede različita slova su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test))



Slika 46 Sposobnost inhibicije enzima α -amilaze skladištenim kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima (CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza; srednje vrijednosti iznad kojih slijede različita slova su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test))

4.3.6. Inhibicija enzima α -glukozidaze kompleksima

Slika 47 Sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima (CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza; srednje vrijednosti iznad kojih slijede različita slova su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test))



Slika 48 Sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze skladištenim kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima (CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza; srednje vrijednosti iznad kojih slijede različita slova su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test))

4.3.7. Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima određenih GC-MS analizom

Tablica 41 Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima određenih GC-MS analizom ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

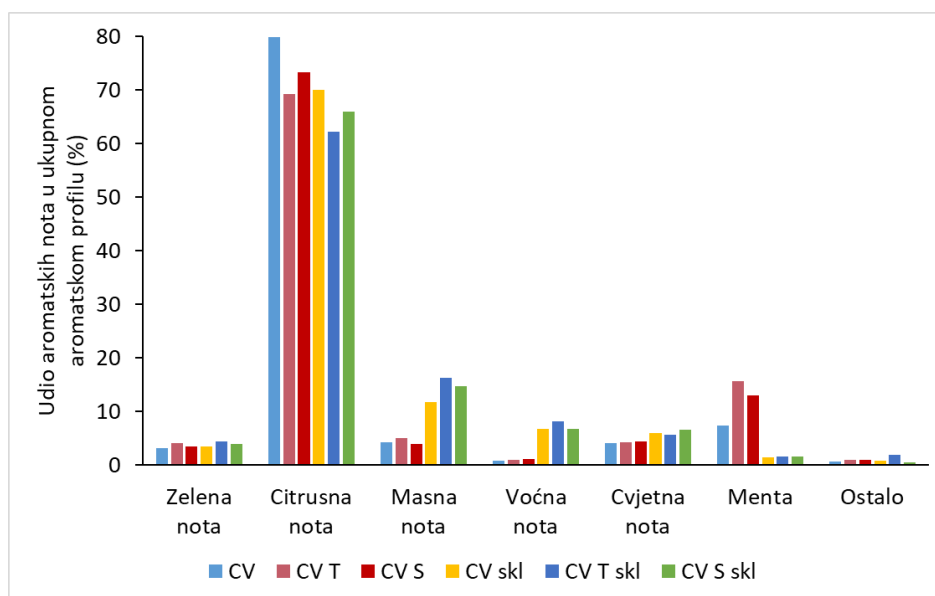
Spoj	CV	CV T	CV S	CV/X	CV/X T	CV/X S	CV/G	CV/G T	CV/G S
Alkoholi	<i>20,16 ± 0,24^e</i>	<i>16,47 ± 0,32^f</i>	<i>19,28 ± 0,36^e</i>	<i>48,56 ± 0,57^a</i>	<i>15,58 ± 0,50^f</i>	<i>19,38 ± 0,08^e</i>	<i>32,97 ± 0,29^c</i>	<i>37,00 ± 1,04^b</i>	<i>30,71 ± 0,62^d</i>
3-heksen-1-ol	0,77 ± 0,02 ^e	0,52 ± 0,01 ^f	1,51 ± 0,07 ^{ab}	1,05 ± 0,05 ^d	1,23 ± 0,08 ^c	1,64 ± 0,02 ^a	1,50 ± 0,00 ^b	1,27 ± 0,02 ^c	1,19 ± 0,02 ^c
Heks-1-ol	4,27 ± 0,13 ^c	5,08 ± 0,12 ^a	4,71 ± 0,20 ^b	3,28 ± 0,03 ^e	1,16 ± 0,03 ^f	4,72 ± 0,00 ^b	3,64 ± 0,06 ^d	5,38 ± 0,01 ^a	1,40 ± 0,07 ^f
2-etilheksan-1-ol	15,12 ± 0,09 ^a	10,86 ± 0,19 ^d	13,07 ± 0,08 ^b	10,30 ± 0,01 ^e	7,69 ± 0,28 ^g	6,91 ± 0,01 ^h	9,19 ± 0,02 ^f	11,44 ± 0,33 ^c	9,26 ± 0,09 ^f
Oktan-1-ol	-	-	-	32,64 ± 0,45 ^a	2,94 ± 0,05 ^e	4,87 ± 0,05 ^d	15,16 ± 0,09 ^b	13,94 ± 0,66 ^c	16,01 ± 0,13 ^b
Nonan-1-ol	-	-	-	1,30 ± 0,04 ^d	2,57 ± 0,06 ^c	1,68 ± 0,00 ^d	3,48 ± 0,11 ^b	4,97 ± 0,02 ^a	2,84 ± 0,31 ^c
Karbonilni spojevi	<i>57,36 ± 1,57^d</i>	<i>39,98 ± 0,99^f</i>	<i>49,64 ± 1,71^e</i>	<i>39,05 ± 1,30^f</i>	<i>31,14 ± 0,91^g</i>	<i>28,82 ± 0,40^g</i>	<i>102,38 ± 0,01^c</i>	<i>121,07 ± 2,16^a</i>	<i>110,28 ± 2,65^b</i>
Heksanal	1,82 ± 0,02 ^d	0,94 ± 0,01 ^e	0,67 ± 0,04 ^{ef}	-	0,50 ± 0,01 ^f	0,07 ± 0,01 ^g	8,06 ± 0,15 ^b	8,97 ± 0,15 ^a	7,26 ± 0,08 ^c
Benzaldehid	2,21 ± 0,06 ^e	1,50 ± 0,10 ^f	2,73 ± 0,09 ^d	5,46 ± 0,19 ^b	4,18 ± 0,12 ^c	1,16 ± 0,01 ^f	2,19 ± 0,06 ^e	5,75 ± 0,23 ^b	8,74 ± 0,22 ^a
2-oktenal	11,97 ± 0,34 ^c	8,68 ± 0,10 ^d	8,78 ± 0,08 ^d	7,61 ± 0,17 ^e	4,63 ± 0,00 ^g	6,86 ± 0,03 ^f	12,32 ± 0,07 ^b	14,18 ± 0,09 ^a	12,61 ± 0,27 ^b
Nonanal	17,71 ± 0,38 ^c	11,70 ± 0,49 ^e	14,29 ± 0,49 ^d	8,60 ± 0,39 ^f	5,68 ± 0,14 ^g	7,78 ± 0,03 ^f	34,29 ± 0,55 ^b	39,90 ± 0,18 ^a	34,71 ± 0,52 ^b
2-nonenal	4,72 ± 0,30 ^c	3,18 ± 0,11 ^d	4,04 ± 0,05 ^c	2,44 ± 0,12 ^e	1,40 ± 0,13 ^f	2,38 ± 0,01 ^e	7,34 ± 0,14 ^b	8,54 ± 0,38 ^a	7,33 ± 0,41 ^b
Dekanal	10,05 ± 0,21 ^c	6,98 ± 0,05 ^e	9,09 ± 0,50 ^d	5,17 ± 0,24 ^f	4,51 ± 0,12 ^{fg}	4,06 ± 0,17 ^g	15,88 ± 0,00 ^a	15,64 ± 0,00 ^{ab}	15,04 ± 0,43 ^b
2,4-nonadienal	1,25 ± 0,02 ^{cd}	0,87 ± 0,01 ^{de}	1,39 ± 0,01 ^c	1,47 ± 0,07 ^c	1,48 ± 0,08 ^c	1,05 ± 0,00 ^{ce}	4,47 ± 0,13 ^{ab}	4,82 ± 0,33 ^a	4,10 ± 0,30 ^b
2-dekkenal	2,40 ± 0,06 ^e	2,30 ± 0,01 ^e	2,50 ± 0,19 ^e	4,82 ± 0,05 ^d	2,34 ± 0,04 ^e	2,87 ± 0,01 ^e	13,94 ± 0,18 ^c	18,06 ± 0,66 ^a	15,11 ± 0,27 ^b
4-propilbenzaldehyd	-	0,71 ± 0,02 ^b	0,83 ± 0,00 ^a	0,36 ± 0,01 ^d	0,35 ± 0,01 ^d	0,48 ± 0,03 ^c	-	-	-
Geranil aceton	5,23 ± 0,18 ^a	3,10 ± 0,08 ^c	5,31 ± 0,26 ^a	3,12 ± 0,06 ^c	1,69 ± 0,03 ^e	2,12 ± 0,05 ^d	3,89 ± 0,01 ^b	5,21 ± 0,14 ^a	5,38 ± 0,15 ^a
Terpeni	<i>297,86 ± 0,82^o</i>	<i>182,42 ± 5,42^c</i>	<i>256,02 ± 0,97^b</i>	<i>142,29 ± 2,93^d</i>	<i>123,54 ± 1,22^f</i>	<i>142,15 ± 2,29^d</i>	<i>111,82 ± 1,45^g</i>	<i>124,13 ± 1,16^f</i>	<i>144,77 ± 1,64^d</i>
D-limonen	262,30 ± 0,27 ^a	139,01 ± 4,39 ^c	207,39 ± 0,24 ^b	105,08 ± 1,95 ^d	87,70 ± 0,86 ^e	106,80 ± 1,92 ^d	57,12 ± 0,67 ^g	66,60 ± 0,38 ^f	87,11 ± 1,18 ^e
Linalool	4,82 ± 0,08 ^b	3,61 ± 0,29 ^c	3,59 ± 0,01 ^c	3,39 ± 0,02 ^c	2,53 ± 0,10 ^d	1,96 ± 0,01 ^d	5,56 ± 0,45 ^a	4,76 ± 0,13 ^b	4,73 ± 0,01 ^b
Mentol	16,87 ± 0,15 ^f	27,88 ± 0,55 ^c	28,40 ± 0,27 ^c	23,99 ± 0,43 ^e	25,02 ± 0,09 ^d	23,98 ± 0,25 ^e	28,39 ± 0,22 ^c	29,59 ± 0,33 ^b	30,60 ± 0,26 ^a
α -terpineol	2,39 ± 0,26 ^d	1,49 ± 0,02 ^{fh}	2,14 ± 0,02 ^{de}	1,76 ± 0,13 ^{ef}	1,29 ± 0,04 ^{gh}	1,63 ± 0,05 ^{fg}	6,66 ± 0,06 ^b	7,58 ± 0,16 ^a	5,94 ± 0,16 ^c
Karvon	10,61 ± 0,06 ^d	9,63 ± 0,13 ^e	13,80 ± 0,40 ^{bc}	7,33 ± 0,36 ^f	7,01 ± 0,14 ^f	7,15 ± 0,07 ^f	13,23 ± 0,03 ^c	14,32 ± 0,11 ^{ab}	14,71 ± 0,02 ^a
α -ionon	-	-	-	0,22 ± 0,00 ^d	-	0,23 ± 0,00 ^d	0,72 ± 0,01 ^c	0,86 ± 0,01 ^b	1,09 ± 0,01 ^a
β -ionon	0,87 ± 0,02 ^a	0,79 ± 0,05 ^b	0,70 ± 0,02 ^b	0,51 ± 0,04 ^d	-	0,40 ± 0,00 ^e	0,15 ± 0,02 ^f	0,42 ± 0,03 ^e	0,60 ± 0,00 ^c

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza. Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

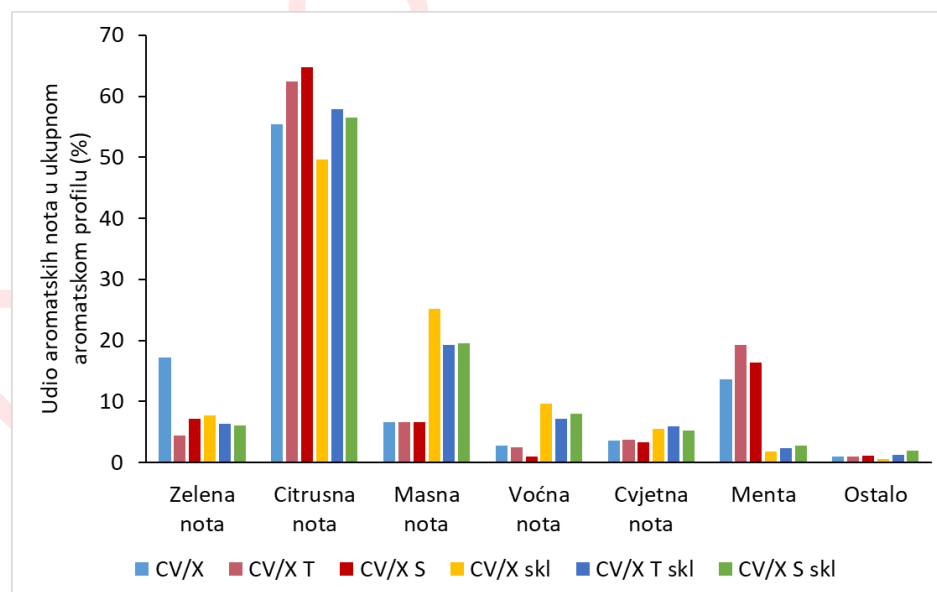
Tablica 42 Sadržaj hlapljivih komponenti u skladištenim kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima određenih GC-MS analizom ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Spoj	CV	CV T	CV S	CV/X	CV/X T	CV/X S	CV/G	CV/G T	CV/G S
Alkoholi	$5,09 \pm 0,45^h$	$7,57 \pm 0,21^g$	$5,18 \pm 0,16^h$	$14,11 \pm 0,74^d$	$13,04 \pm 0,23^{ef}$	$12,45 \pm 0,02^f$	$31,39 \pm 0,27^a$	$19,07 \pm 0,14^c$	$21,72 \pm 0,52^b$
3-heksen-1-ol	$0,28 \pm 0,00^{de}$	$0,12 \pm 0,00^g$	$0,12 \pm 0,01^g$	$0,27 \pm 0,01^e$	$0,35 \pm 0,00^c$	$0,38 \pm 0,01^b$	$0,60 \pm 0,00^a$	$0,29 \pm 0,00^d$	$0,21 \pm 0,00^f$
Heks-1-ol	$0,26 \pm 0,00^{fg}$	$1,60 \pm 0,04^c$	$0,61 \pm 0,00^d$	$0,42 \pm 0,01^e$	$0,16 \pm 0,00^{gh}$	$0,33 \pm 0,00^{ef}$	$9,07 \pm 0,11^a$	$1,86 \pm 0,00^b$	$0,08 \pm 0,00^h$
2-etilheksan-1-ol	$4,54 \pm 0,44^b$	$5,86 \pm 0,16^a$	$4,45 \pm 0,14^b$	$3,35 \pm 0,22^d$	$3,92 \pm 0,12^{bd}$	$3,81 \pm 0,01^{cd}$	$4,30 \pm 0,07^{bc}$	$2,53 \pm 0,02^e$	$3,56 \pm 0,21^d$
Oktan-1-ol	-	-	-	$7,54 \pm 0,28^c$	$6,02 \pm 0,08^d$	$5,54 \pm 0,00^d$	$13,66 \pm 0,03^a$	$11,30 \pm 0,11^b$	$13,76 \pm 0,17^a$
Nonan-1-ol	-	-	-	$2,54 \pm 0,23^c$	$2,59 \pm 0,03^c$	$2,38 \pm 0,01^c$	$3,76 \pm 0,05^a$	$3,09 \pm 0,00^b$	$4,12 \pm 0,14^a$
Karbonilni spojevi	$65,54 \pm 0,57^c$	$99,60 \pm 1,80^b$	$77,77 \pm 1,02^c$	$81,08 \pm 1,67^c$	$69,98 \pm 1,11^d$	$67,82 \pm 0,98^{de}$	$110,65 \pm 1,20^a$	$98,52 \pm 1,14^b$	$100,93 \pm 1,21^b$
Heksanal	$0,98 \pm 0,05^c$	$0,84 \pm 0,00^d$	$0,56 \pm 0,01^e$	-	$0,13 \pm 0,01^f$	$0,08 \pm 0,01^f$	$6,41 \pm 0,05^a$	$5,10 \pm 0,04^b$	$5,15 \pm 0,00^b$
Benzaldehid	$10,58 \pm 0,19^d$	$14,40 \pm 0,28^a$	$11,84 \pm 0,18^{bc}$	$15,01 \pm 0,19^a$	$11,29 \pm 0,29^c$	$12,01 \pm 0,07^b$	$10,47 \pm 0,19^d$	$9,33 \pm 0,23^e$	$9,31 \pm 0,02^e$
2-oktenal	$16,76 \pm 0,10^d$	$26,36 \pm 0,03^a$	$18,81 \pm 0,13^c$	$21,38 \pm 0,02^b$	$14,95 \pm 0,05^e$	$15,55 \pm 0,39^e$	$12,69 \pm 0,23^f$	$9,75 \pm 0,04^g$	$10,28 \pm 0,33^g$
Nonanal	$14,90 \pm 0,12^e$	$22,51 \pm 0,45^d$	$15,80 \pm 0,16^e$	$13,24 \pm 0,57^f$	$12,81 \pm 0,28^{fg}$	$12,22 \pm 0,00^g$	$26,90 \pm 0,09^a$	$23,66 \pm 0,01^c$	$25,63 \pm 0,36^b$
2-nonenal	$5,09 \pm 0,00^e$	$7,79 \pm 0,18^c$	$6,64 \pm 0,08^d$	$4,56 \pm 0,04^f$	$4,33 \pm 0,02^f$	$3,67 \pm 0,01^g$	$9,18 \pm 0,07^a$	$8,09 \pm 0,16^b$	$8,18 \pm 0,05^b$
Dekanal	$7,59 \pm 0,07^c$	$9,27 \pm 0,14^b$	$9,45 \pm 0,00^b$	$6,55 \pm 0,10^d$	$7,29 \pm 0,14^c$	$6,00 \pm 0,05^e$	$10,09 \pm 0,29^a$	$10,09 \pm 0,27^a$	$9,76 \pm 0,13^{ab}$
2,4-nonadienal	$0,70 \pm 0,01^f$	$1,91 \pm 0,07^d$	$1,61 \pm 0,21^e$	$1,71 \pm 0,03^{de}$	$2,40 \pm 0,12^c$	$1,66 \pm 0,04^{de}$	$3,34 \pm 0,01^b$	$3,68 \pm 0,00^a$	$3,47 \pm 0,04^{ab}$
2-dekenal	$5,13 \pm 0,03^h$	$10,52 \pm 0,43^f$	$9,32 \pm 0,16^g$	$16,06 \pm 0,68^c$	$13,75 \pm 0,06^e$	$12,61 \pm 0,22^d$	$27,91 \pm 0,20^a$	$26,18 \pm 0,14^b$	$26,47 \pm 0,11^b$
4-propilbenzaldehyd	-	$1,68 \pm 0,01^a$	-	-	-	$1,48 \pm 0,00^b$	-	-	-
Geranil aceton	$3,82 \pm 0,01^b$	$4,31 \pm 0,21^a$	$3,73 \pm 0,08^b$	$2,57 \pm 0,05^d$	$3,04 \pm 0,14^c$	$2,54 \pm 0,18^d$	$3,65 \pm 0,07^b$	$2,65 \pm 0,25^{cd}$	$2,67 \pm 0,15^{cd}$
Terpeni	$121,02 \pm 0,12^b$	$132,16 \pm 1,27^a$	$119,36 \pm 1,00^b$	$70,24 \pm 0,58^e$	$91,59 \pm 0,31^c$	$84,21 \pm 1,30^d$	$51,84 \pm 0,96^f$	$44,98 \pm 0,59^g$	$52,28 \pm 0,69^f$
D-limonen	$113,51 \pm 0,02^b$	$119,01 \pm 0,66^a$	$111,61 \pm 0,89^c$	$64,33 \pm 0,49^f$	$82,47 \pm 0,04^d$	$75,45 \pm 0,92^e$	$37,17 \pm 0,71^g$	$28,91 \pm 0,09^h$	$37,10 \pm 0,14^g$
Linalool	$1,19 \pm 0,02^{cd}$	$1,63 \pm 0,00^b$	$1,60 \pm 0,03^b$	$1,15 \pm 0,00^d$	$1,82 \pm 0,07^b$	$1,52 \pm 0,17^{bc}$	$4,73 \pm 0,01^a$	$4,55 \pm 0,26^a$	$4,54 \pm 0,02^a$
Mentol	$1,24 \pm 0,03^d$	$1,77 \pm 0,19^{bc}$	$1,73 \pm 0,01^c$	$1,28 \pm 0,02^d$	$1,86 \pm 0,00^{ac}$	$2,08 \pm 0,01^a$	$1,82 \pm 0,02^{bc}$	$1,19 \pm 0,10^d$	$2,01 \pm 0,03^{ab}$
α -terpineol	$1,39 \pm 0,01^f$	$2,69 \pm 0,15^c$	$1,04 \pm 0,01^g$	$0,92 \pm 0,02^g$	$2,10 \pm 0,07^d$	$1,74 \pm 0,14^e$	$3,53 \pm 0,06^b$	$4,24 \pm 0,00^a$	$3,76 \pm 0,20^b$
Karvon	$1,44 \pm 0,02^f$	$2,00 \pm 0,04^{de}$	$1,56 \pm 0,02^f$	$1,71 \pm 0,03^{ef}$	$2,25 \pm 0,11^{cd}$	$2,41 \pm 0,03^c$	$3,23 \pm 0,14^b$	$4,61 \pm 0,08^a$	$3,13 \pm 0,19^b$
α -ionon	$0,49 \pm 0,01^{de}$	$0,74 \pm 0,04^c$	$0,55 \pm 0,00^d$	$0,32 \pm 0,00^g$	$0,44 \pm 0,00^{ef}$	$0,40 \pm 0,02^f$	$0,77 \pm 0,01^{bc}$	$0,82 \pm 0,02^{ab}$	$0,86 \pm 0,03^a$
β -ionon	$1,76 \pm 0,01^b$	$4,32 \pm 0,20^a$	$1,26 \pm 0,05^c$	$0,52 \pm 0,01^e$	$0,66 \pm 0,01^{de}$	$0,61 \pm 0,00^e$	$0,59 \pm 0,01^e$	$0,66 \pm 0,04^{de}$	$0,88 \pm 0,07^d$

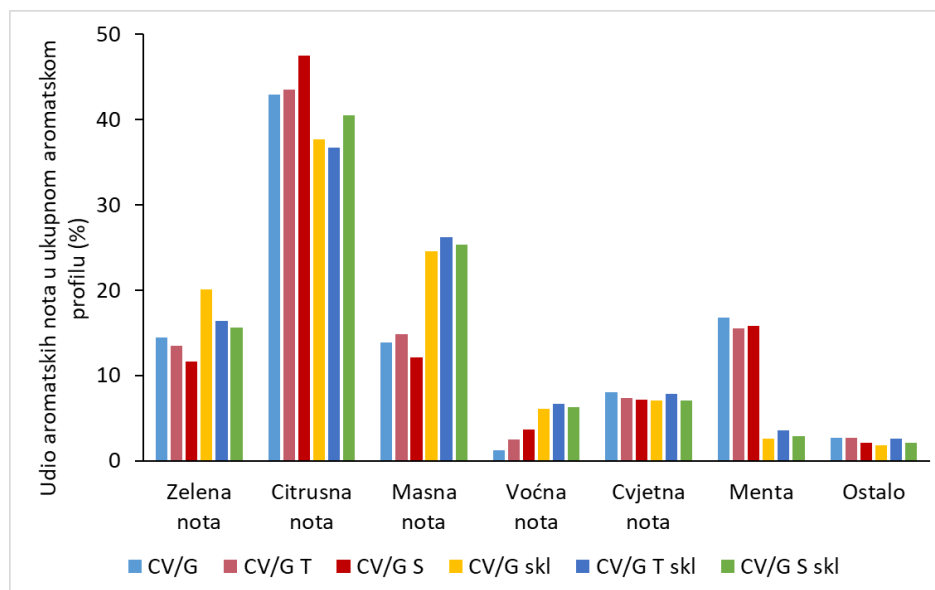
CV – citrus vlakno; X – ksantana; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza. Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).



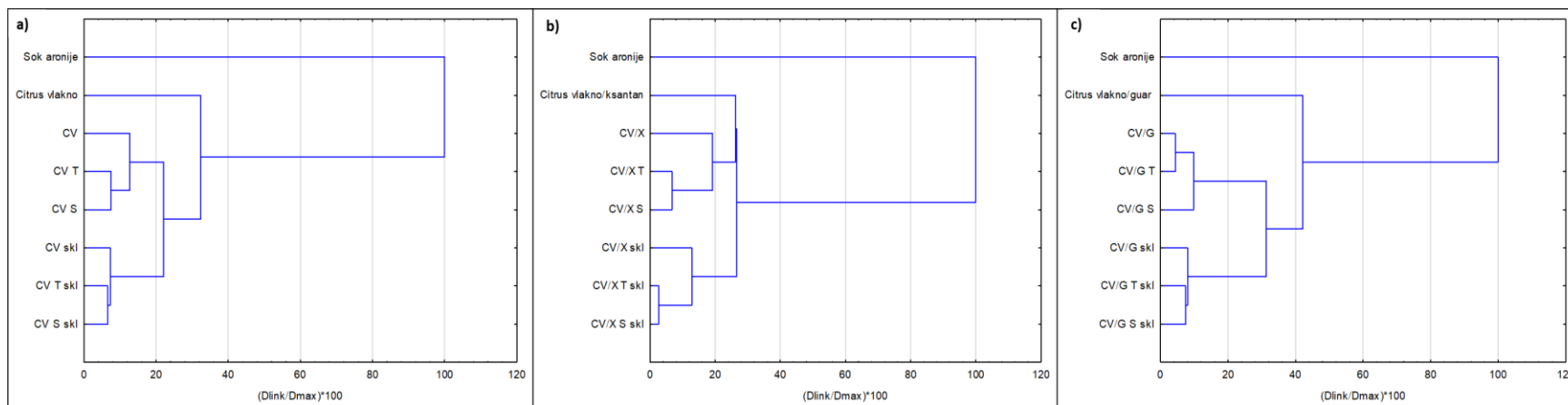
Slika 49 Aromatski profil kompleksa na bazi citrus vlakna sa sokom aronije i disaharidima nakon pripreme i nakon skladištenja (CV – citrus vlakno; skl – skladišteno; T – trehaloza; S – saharoza)



Slika 50 Aromatski profil kompleksa na bazi citrus vlakna/ksantana sa sokom aronije i disaharidima nakon pripreme i nakon skladištenja (CV – citrus vlakno; X – ksantan; skl – skladišteno; T – trehaloza; S – saharoza)



Slika 51 Aromatski profil kompleksa na bazi citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima nakon pripreme i nakon skladištenja (CV – citrus vlakno; G – guar; skl – skladišteno; T – trehaloza; S - saharoza)



Slika 52 Grupiranje uzoraka po sličnosti aromatskog profila u kompleksima na bazi a) citrus vlakna b) citrus vlakna/ksantana i c) citrus vlakna/guara primjenom klaster analize (CV – citrus vlakno; X – ksantan, G – guar; T – trehaloza; S - saharoza; skl – skladišteno)

4.3.8. Parametri boje kompleksa

Tablica 43 Parametri boje kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima

Uzorak	L*	a*	b*	ΔE	ΔE^1	$^{\circ}h$	C*
CV	43,14 ± 0,17 ^b	17,65 ± 0,13 ^e	5,04 ± 0,05 ^e	29,14	45,11	15,94 ± 0,06 ^c	18,36 ± 0,15 ^e
CV T	42,40 ± 0,12 ^c	17,15 ± 0,06 ^f	4,84 ± 0,03 ^f	28,23	45,65	15,76 ± 0,04 ^d	17,82 ± 0,06 ^f
CV S	43,76 ± 0,24 ^a	17,98 ± 0,24 ^d	5,11 ± 0,08 ^{de}	29,84	44,67	15,86 ± 0,06 ^c	18,69 ± 0,25 ^d
CV/X	42,65 ± 0,40 ^c	18,32 ± 0,12 ^c	5,21 ± 0,03 ^c	29,17	49,25	15,87 ± 0,03 ^c	19,05 ± 0,12 ^c
CV/X T	43,11 ± 0,03 ^b	18,84 ± 0,10 ^b	5,49 ± 0,04 ^b	29,89	48,97	16,26 ± 0,07 ^b	19,62 ± 0,10 ^b
CV/X S	43,99 ± 0,06 ^a	19,11 ± 0,04 ^a	5,57 ± 0,03 ^a	30,76	48,27	16,24 ± 0,05 ^b	19,91 ± 0,05 ^a
CV/G	42,49 ± 0,19 ^c	17,64 ± 0,05 ^e	5,15 ± 0,03 ^{cd}	28,63	44,66	16,28 ± 0,03 ^{ab}	18,38 ± 0,05 ^e
CV/G T	43,27 ± 0,17 ^b	17,73 ± 0,04 ^e	5,21 ± 0,03 ^c	29,32	43,99	16,36 ± 0,06 ^a	18,48 ± 0,04 ^e
CV/G S	42,42 ± 0,18 ^c	17,55 ± 0,11 ^e	5,14 ± 0,03 ^d	28,52	44,69	16,31 ± 0,07 ^{ab}	18,29 ± 0,11 ^e

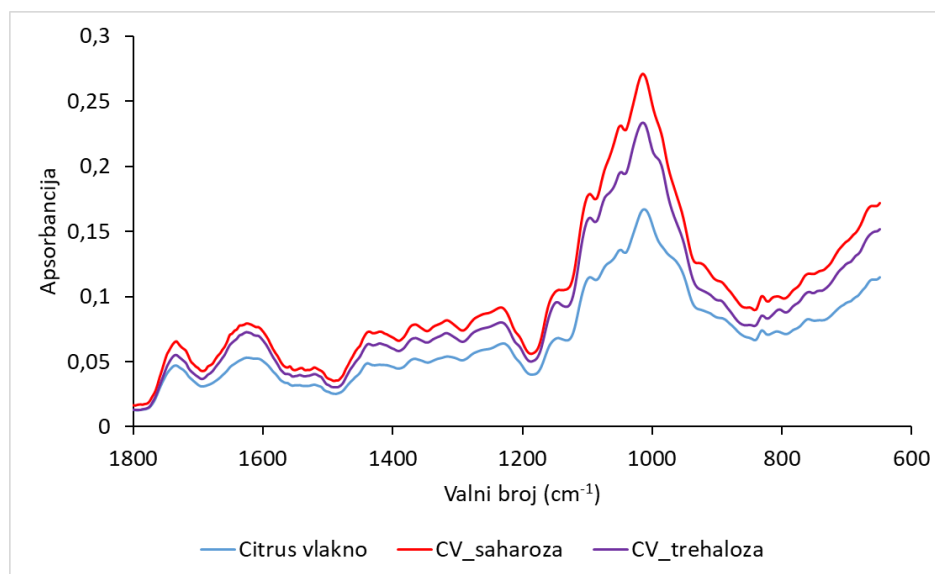
CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza; ΔE – razlika boje između soka aronije i uzoraka; ΔE^1 – razlika boje između nosača i uzoraka. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

Tablica 44 Parametri boje skladištenih kompleksa na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima

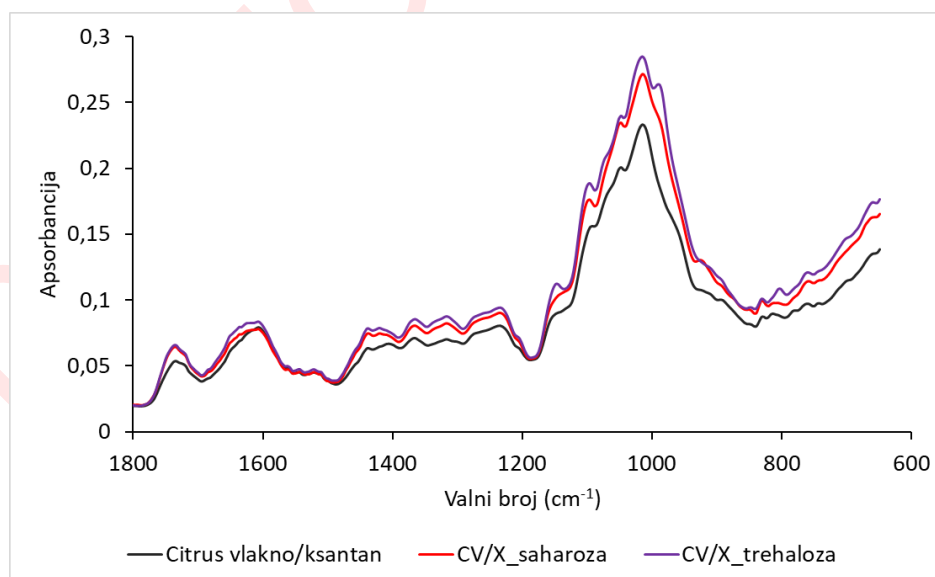
Uzorak	L*	a*	b*	ΔE	$^{\circ}h$	C*
CV	43,27 ± 0,10 ^{cd}	17,98 ± 0,03 ^c	5,52 ± 0,03 ^{de}	0,59	17,06 ± 0,10 ^d	18,80 ± 0,03 ^c
CV T	43,76 ± 0,60 ^{bc}	17,66 ± 0,32 ^d	5,45 ± 0,13 ^e	1,58	17,16 ± 0,12 ^{cd}	18,48 ± 0,34 ^d
CV S	44,40 ± 0,10 ^a	18,43 ± 0,08 ^b	5,74 ± 0,06 ^{bc}	1,01	17,29 ± 0,13 ^c	19,30 ± 0,09 ^b
CV/X	42,38 ± 0,21 ^e	18,43 ± 0,20 ^b	5,70 ± 0,06 ^{bc}	0,58	17,20 ± 0,02 ^{cd}	19,30 ± 0,21 ^b
CV/X T	42,95 ± 0,05 ^d	18,93 ± 0,05 ^a	5,90 ± 0,03 ^a	0,45	17,32 ± 0,09 ^c	19,82 ± 0,04 ^a
CV/X S	44,22 ± 0,17 ^{ab}	18,92 ± 0,13 ^a	5,80 ± 0,09 ^{ba}	0,38	17,05 ± 0,13 ^d	19,79 ± 0,15 ^a
CV/G	42,43 ± 0,17 ^e	17,69 ± 0,07 ^d	5,72 ± 0,02 ^{bc}	0,57	17,94 ± 0,05 ^a	18,59 ± 0,06 ^{cd}
CV/G T	42,99 ± 0,43 ^d	17,68 ± 0,05 ^d	5,61 ± 0,07 ^{dc}	0,50	17,61 ± 0,17 ^b	18,55 ± 0,06 ^{cd}
CV/G S	42,24 ± 0,25 ^e	17,57 ± 0,19 ^d	5,72 ± 0,14 ^{bc}	0,61	18,04 ± 0,21 ^a	18,48 ± 0,23 ^d

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T – trehaloza; S – saharoza; ΔE – razlika boje između uzoraka nakon pripreme i nakon skladištenja. Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test).

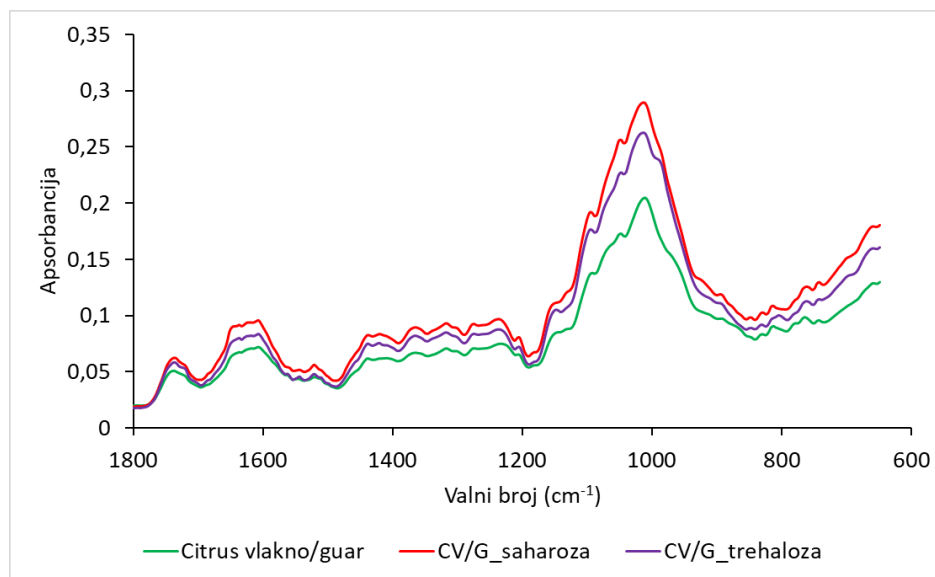
4.3.9. IR spektri kompleksa



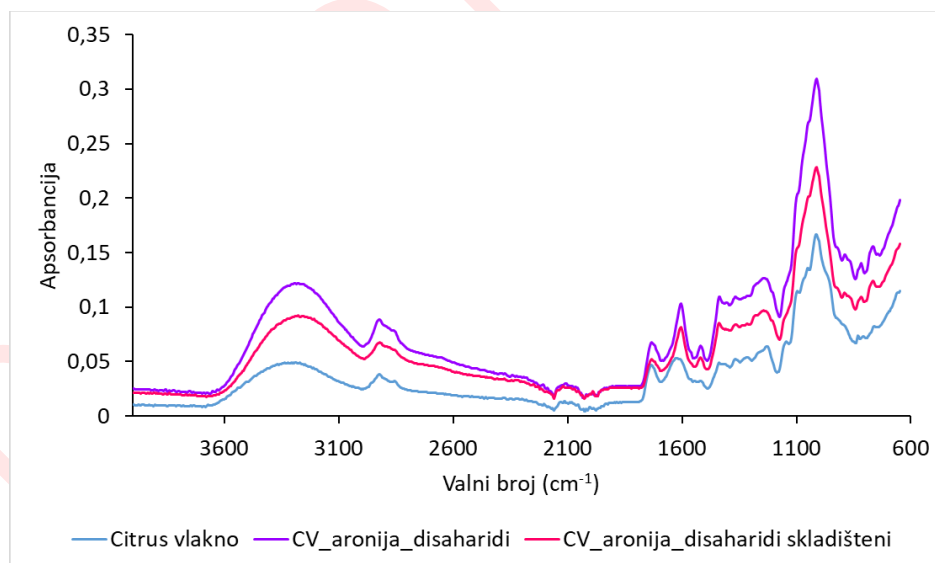
Slika 53 IR spektri citrus vlakna, citrus vlakna (CV) sa saharozom i citrus vlakna (CV) s trehalozom



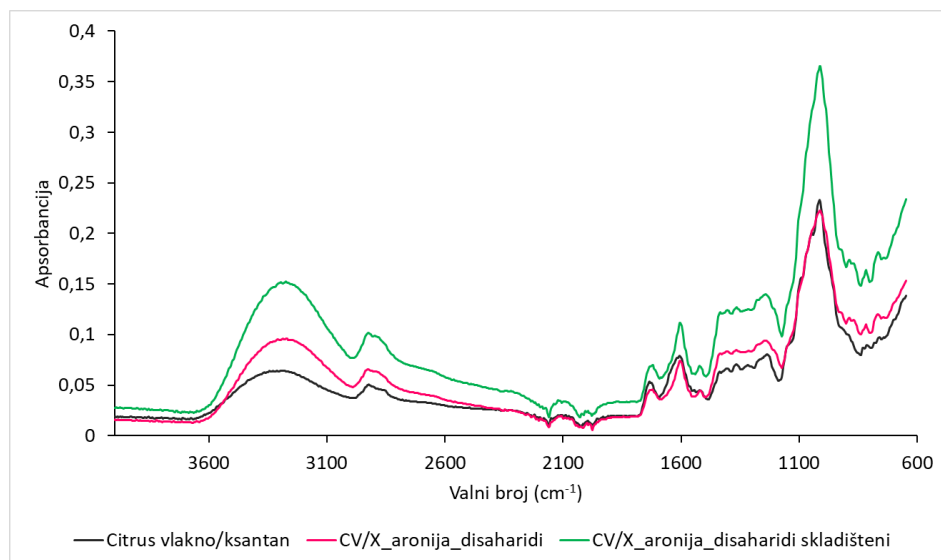
Slika 54 IR spektri citrus vlakna/ksantana, citrus vlakna/ksantana (CV/X) sa saharozom i citrus vlakna/ksantana (CV/X) s trehalozom



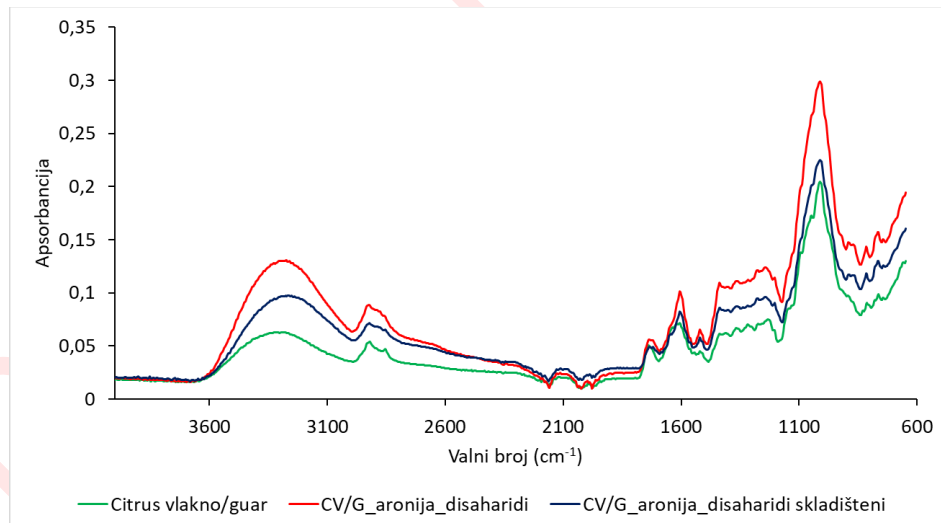
Slika 55 IR spektri citrus vlakna/guara, citrus vlakna/guara (CV/G) sa saharozom i citrus vlakna/guara (CV/G) s trehalozom



Slika 56 IR spektri citrus vlakna i kompleksa na bazi citrus vlakna (CV) sa sokom aronije i disaharidima



Slika 57 IR spektri citrus vlakna/ksantana i kompleksa na bazi citrus vlakna/ksantana (CV/X) sa sokom aronije i disaharidima



Slika 58 IR spektri citrus vlakna/guara i kompleksa na bazi citrus vlakna/guara (CV/G) sa sokom aronije i disaharidima

Tablica 45 Indeks ukupnog kristaliteta (TCI), indeks bočnog poretka (LOI) i intenzitet vodikove veze (HBI) za vlakna i komplekse na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima

Uzorak	TCI	LOI	HBI
Prije skladištenja			
Citrus vlakno	1,64	0,56	0,91
CV	1,30	0,82	1,07
CV T	1,36	0,72	0,99
CV S	1,32	0,77	1,08
Citrus vlakno/ksantan	1,51	0,63	0,91
CV/X	1,29	0,77	1,11
CV/X T	1,31	0,74	1,15
CV/X S	1,34	0,73	1,11
Citrus vlakno/guar	1,39	0,63	0,90
CV/G	1,32	0,82	1,09
CV/G T	1,28	0,76	1,14
CV/G S	1,32	0,78	1,14
Nakon skladištenja			
CV	1,30	0,79	1,03
CV T	1,38	0,74	0,93
CV S	1,32	0,79	1,05
CV/X	1,28	0,76	1,10
CV/X T	1,27	0,75	1,19
CV/X S	1,28	0,73	1,16
CV/G	1,29	0,80	1,07
CV/G T	1,33	0,75	1,00
CV/G S	1,28	0,77	1,07

CV – citrus vlakno; X – ksantan; G – guar; T-trehaloza; S-saharoza.

DO NOT COPY

5. RASPRAVA

Citrus vlakna odabrana su kao nosači bioaktivnih spojeva iz soka aronije kako bi se pripremili bioaktivni dodaci hrani. Otpad od citrusa predstavlja vrijedan nusproizvod prehrambene industrije bogat prehrambenim vlaknima. U najvećoj količini u citrus vlaknima nalaze se pektin zatim celuloza i hemiceluloza. Interakcije prehrambenih vlakana sa polifenolima i hlapljivim spojevima bile su predmet prethodnih istraživanja te je utvrđeno kako se te interakcije odvijaju uglavnom putem nekovalentnih veza (Liu i sur., 2020). Ksantan guma i guar guma kombinirani su s citrus vlaknima kako bi se ispitaio njihov utjecaj na vezanje polifenola i hlapljivih spojeva iz soka aronije odnosno kako bi se utvrdio utjecaj kombinacije dvaju nosača. U nekim istraživanjima pokazalo se kako je kombinacija nosača imala bolji učinak na vezanje polifenola. Polifenoli kože crvenog luka u višoj količini su se vezali kada je kao nosač korišten maltodekstrin i proteini soje nego pojedinačno ta dva nosača (Elsebaie i Essa, 2018). Također, antocijanini biljke *Hibiscus sabdaridda* L. bolje su se inkapsulirali kombinacijom nosača (maltodekstrin i guma arabika) nego korištenjem pojedinačnih nosača (maltodekstrin, guma arabika, inulin, glukomanan) (Nguyen i sur., 2022). Utjecaj količine nosača na vezanje polifenola i hlapljivih spojeva je također ispitan jer se u prethodnim istraživanjima pokazalo kako ima utjecaj. Bioaktivni dodaci hrani na bazi soka kupine i citrus vlakana imali su viši sadržaj polifenola kada se koristila manja količina vlakna (1 %) (Buljeta i sur., 2021b). Slično je utvrđeno kod pripreme dodataka s celulozom i polifenolima maline gdje je količina polifenola opadala s porastom količine celuloze (Vukoja i sur., 2021a). U drugom dijelu istraživanja ispitan je utjecaj dodatka disaharida (saharoze i trehaloze) na polifenole i hlapljive spojeve soka aronije u bioaktivnim dodacima hrani. Prethodnim istraživanjima utvrđeno je kako disaharidi mogu utjecati na vezanje polifenola i hlapljivih spojeva (Kopjar i sur., 2021; Kopjar i sur., 2022). Stabilnost bioaktivnih dodataka hrani odnosno polifenola i hlapljivih spojeva soka aronije ispitana je skladištenjem na sobnoj temperaturi i prisutnosti svjetlosti u trajanju od osam mjeseci. Poznato je kako su polifenoli osjetljivi na prisutnost svjetlosti odnosno da može doći do njihove degradacije. Također je utvrđeno kako se procesom liofilizacije i vezanjem polifenola i hlapljivih spojeva na nosače povećava njihova stabilnost. Stabilnost bioaktivnih dodataka hrani tijekom skladištenja važna je zbog moguće primjene takvih dodataka u prehrambene proizvode.

5.1. SOK ARONIJE I VLAKNA

Sadržaj polifenola u soku aronije i vlaknima

Od svih proizvoda aronije najčešće se konzumira sok koji je poznat po svojim pozitivnim učincima na ljudsko zdravlje zbog prisutnosti bioaktivnih spojeva kao što su polifenoli. Sadržaj ukupnih polifenola, proantocijanidina i antocijana u soku aronije korištenom u ovom istraživanju prikazan je u **Tablici 12**. Sadržaj ukupnih fenola iznosio je 5,82 g/L što je u skladu s prethodno objavljenim rezultatima od Tolić i sur. (2015) koji su analizirali različite sokove aronije dostupne na tržištu čiji je ukupni sadržaj polifenola bio u rasponu od 3,00 g/L do 6,64 g/L. U istom istraživanju sadržaj ukupnih antocijanina bio je u rasponu od 154 mg/L do 1228 mg/L, dok je sok iz ovog istraživanja imao 131,53 mg/L ukupnih antocijanina. Proantocijanidini čine glavnu skupinu polifenola prisutnih u plodu aronije (oko 66 %) (Oszmiański i Wojdyło, 2005) te je i u soku aronije sadržaj proantocijanidina bio visok (643,98 mg/L). Pojedinačni polifenoli u soku aronije su identificirani i kvantificirani primjenom HPLC analize i pripadali su skupinama antocijanina, fenolnih kiselina i flavonola. Iz skupine antocijanina u najvećoj količini bio je zastupljen cijanidin-3-galaktozid (8,06 mg/L), a zatim cijanidin-3-arabinozid (2,18 mg/L) i cijanidin-3-glukozid (0,22 mg/L). U istraživanju od Bursać Kovačević i sur. (2016) isti trend zastupljenosti pojedinačnih antocijanina utvrđen je u soku aronije. Iz skupine fenolnih kiselina u soku su detektirane neoklorogenska kiselina (302,89 mg/L) i klorogenska kiselina (196,25 mg/L). Ove dvije kiseline su glavne fenolne kiseline u plodovima aronije, ali i u soku i komini (Oszmiański i Wojdyło, 2005; Bursać Kovačević i sur., 2016). Kvercetin-3-galaktozid (3,61 mg/L) i kvercetin-3-rutinozid (18,96 mg/L) su flavonoli koji su pronađeni u soku aronije. Poznato je kako su u aroniji većinom zastupljeni glikozidi kvercetina. U istraživanju Bursać Kovačević i sur. (2016) kvercetin-3-galaktozid u soku aronije bio je zastupljen u količini od 10,10 mg/L. Osim soka aronije, polifenoli su određeni i u vlaknima koja su korištena za potrebe ovog istraživanja te su rezultati prikazani u **Tablici 13**. Ukupni polifenoli citrus vlakna bili su 3,19 g/kg dok su za citrus vlakno/guar iznosili 7,09 g/kg, a za citrus vlakno/ksantan 6,81 g/kg. Osim ukupnih polifenola, određeni su i proantocijanidini s najvećom količinom u citrus vlaknu/ksantanu (197,42 µg/g) dok su nešto manje količine bile u citrus vlaknu/guaru (178,90 µg/g) i najmanje količine u citrus vlaknu (1,31 µg/g). S obzirom da su ova vlakna dobivena ekstrakcijom iz otpada citrusa, očekivana je prisutnost polifenola koji se uobičajeno nalaze u

citrusima. Hesperidin je polifenol koji pripada skupini flavanona i u citrusima se nalazi u najvećim količinama (Hochava i sur., 2022). Najveće količine hesperidina bile su u citrus vlaknu/guaru (13,22 g/kg) dok su nešto niže količine bile u citrus vlaknu/ksantanu (12,52 g/kg) te najniže količine u citrus vlaknu (5,52 g/kg).

Antioksidacijska aktivnost soka aronije i vlakana

Antioksidacijska aktivnost soka aronije određena je pomoću DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metoda i prikazana je u **Tablici 12**, dok su rezultati za antioksidacijsku aktivnost vlakana prikazani u **Tablici 13**. Antioksidacijska aktivnost soka aronije određena DPPH metodom bila je 2,91 mmol/100 mL dok je za vlakna bila u rasponu od 1,18 mmol/100 g do 1,27 mmol/100 g. Rezultati ABTS metode bili su najveći za sok aronije (5,51 mmol/100 mL) dok su za vlakna bili u rasponu od 0,33 mmol/100 g do 1,89 mmol/100 g. Antioksidacijska aktivnost soka aronije određena FRAP metodom bila je 3,91 mmol/100 mL dok je CUPRAC metodom bila 3,22 mmol/100 mL. Kod vlakana je antioksidacijska aktivnost određena FRAP i CUPRAC metodama bila najveća za citrus vlakno/guar (3,50 mmol/100 g – FRAP; 4,07 mmol/100 g – CUPRAC). Prethodnim istraživanjima utvrđeno je kako aronija zbog većeg sadržaja bioaktivnih komponenti posjeduje veću antioksidacijsku aktivnost od jagode, maline i kupine (Jakobek i sur., 2007b).

Sposobnost inhibicije enzima α -amilaze i α -glukozidaze bioaktivnim spojevima soka aronije

Poznato je kako se regulacija razine glukoze u krvi može postići inhibicijom enzima α -amilaze i α -glukozidaze što može ublažiti komplikacije kod dijabetesa. Akarboza je sintetski inhibitor ovih enzima i koristi se u tretiranju dijabetesa tipa 2. Brojnim novijim istraživanjima pokušavaju se pronaći inhibitori ovih enzima iz prirodnih izvora u svrhu prevencije razvoja i tretiranja dijabetesa. Jedan od tih prirodnih izvora bi mogli biti bioaktivni spojevi aronije za koje je utvrđeno da posjeduju sposobnost inhibicije enzima α -amilaze i α -glukozidaze (Zhang i sur., 2021). Za sok aronije koji je korišten u ovom istraživanju određena je sposobnost inhibicije spomenutih enzima. Rezultati su prikazani u **Tablici 12** te se može utvrditi kako je sok aronije pri koncentraciji polifenola u reakcijskoj smjesi od 6,26 mg/L uzrokovao 26,06 %-tnu inhibiciju enzima α -amilaze, dok je pri istim uvjetima eksperimenta akarboza u koncentraciji od 6,67 mg/L u reakcijskoj smjesi uzrokovala 52,11 %-tnu inhibiciju enzima α -amilaze. Za 85,94 %-tnu inhibiciju enzima α -glukozidaze

koncentracija polifenola soka aronije u reakcijskoj smjesi bila je 0,02 mg/L. Pri istim uvjetima, koncentracija akarboze od 33 mg/L u reakcijskoj smjesi, uzrokovala je 66,04 %-tnu inhibiciju α -glukozidaze. Iz usporedbe ovih rezultata, može se uočiti kako je sok aronije bolji inhibitor enzima α -glukozidaze, a slabiji inhibitor enzima α -amilaze od akarboze.

Sadržaj hlapljivih komponenti soka aronije i vlakana

Hlapljive komponente prisutne u soku aronije i vlaknima korištenim u ovom istraživanju prikazane su u **Tablici 14**. Zbog boljeg pregleda, spojevi su podijeljeni u pet skupina (kiselina, alkoholi, karbonilni spojevi, terpeni i esteri). Identificirano je i kvantificirano 29 hlapljivih komponenti u soku aronije. Iz skupine kiselina u soku je bilo zastupljeno pet kiselina s ukupnom koncentracijom od 7,85 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Alkoholi su bili zastupljeni u najvećoj koncentraciji u soku aronije (161,77 $\mu\text{g}/\text{kg}$), a heks-1-ol je bio prisutan u najvećoj količini (118,20 $\mu\text{g}/\text{kg}$) što je u skladu s rezultatima od Romani i sur. (2016). Iz skupine karbonilnih spojeva u soku aronije bilo je zastupljeno sedam komponenti s ukupnom koncentracijom od 30,58 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a benzaldehid (9,80 $\mu\text{g}/\text{kg}$) i nonanal (8,63 $\mu\text{g}/\text{kg}$) bili su prisutni u najvećim koncentracijama. Najviše hlapljivih komponenti pripadalo je skupini terpena (10 komponenti) s ukupnom koncentracijom od 10,90 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Esteri su bili zastupljeni u najnižoj koncentraciji (1,27 $\mu\text{g}/\text{kg}$) s tri detektirane hlapljive komponente. Važnost aronije više se očitava u polifenolnom sastavu i sadržaju nego u aromatskom sastavu. Analizirana vlakna imala su viši sadržaj hlapljivih komponenti (osim alkohola) od soka aronije. Iz skupine kiselina u citrus vlaknu detektirana je samo heksanska kiselina (17,73 $\mu\text{g}/\text{kg}$) dok su u citrus vlaknu/ksantanu i citrus vlaknu/guaru bile prisutne i heksanska i nonanska kiselina. Koncentracija alkohola bila je najveća u citrus vlaknu/guaru (124,29 $\mu\text{g}/\text{kg}$) s nešto nižim koncentracijama u citrus vlaknu (115,76 $\mu\text{g}/\text{kg}$) dok su najniže koncentracije bile u citrus vlaknu/ksantanu (40,02 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Najviše hlapljivih komponenti prisutnih u vlaknima bilo je iz skupine karbonilnih spojeva. U citrus vlaknima detektirano je 8 komponenti s ukupnom koncentracijom od 439,80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dok je u citrus vlaknu/ksantanu (264,65 $\mu\text{g}/\text{kg}$) i citrus vlaknu/guaru (637,70 $\mu\text{g}/\text{kg}$) detektirano 13 komponenti. Heksanal je bio zastupljen u najvećoj koncentraciji u vlaknima. Iz skupine terpena, D-limonen je bio prisutan u najvećoj koncentraciji u vlaknima, a ukupna koncentracija terpena u vlaknima bila je u rasponu od 504,99 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 646,49 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Aromatski profil soka aronije i vlakana prikazan je na **Slici 28**. U soku aronije prevladavale su zelene note (72 %). Citrusne, masne, voćne i cvjetne

note te menta su bile zastupljene ispod 10 %. Kod citrus vlakna prevladavala je citrusna nota (56 %), a zatim zelena nota (22 %) dok su masna, voćna, cvjetna i ostale note bile prisutne u udjelu ispod 10 %. Najveći udio aromatskih nota u citrus vlaknu/ksantanu činile su citrusne note (68 %) dok su kod citrus vlakna/guara u najvećem udjelu bile zastupljene citrusne note (47 %) i zelene note (32 %).

Parametri boje soka aronije i vlakana

Parametri boje (L^* , a^* , b^* , $^{\circ}h$ i C^*) soka aronije i vlakana korištenih u ovom istraživanju prikazani su u **Tablici 15**. Rezultati su pokazali da je svjetlina (L^*) soka aronije bila 19,70 dok je svjetlina vlakana bila u rasponu od 81,83 do 87,04 što upućuje na znatno svijetlije uzorke u usporedbi sa sokom aronije. Parametri a^* (0,85) i b^* (0,87) za sok aronije upućuju na prisutnost crvene boje i žute boje. Kod vlakana je parametar b^* bio u rasponu od 16,03 do 19,21 što upućuje na prisustvo žute boje. Ton boje ($^{\circ}h$) soka aronije bio je 45,68, a zasićenje boje (C^*) 1,22. Za vlakna je $^{\circ}h$ bio u rasponu od 86,45 do 90,22, a C^* od 16,03 do 19,25. Rezultati parametara L^* , a^* , b^* soka aronije i vlakana korišteni su za računanje promjene boje kompleksa.

FTIR analiza vlakana

FTIR analiza je provedena kako bi se utvrdile glavne funkcionalne skupine prisutne na vlaknima, a IR spektri vlakana prikazani su na **Slikama 29-31**. Vrpca prisutna na 3280 cm^{-1} upućuje na vibracijsko istezanje O-H veza. Općenito vrpce prisutne u regiji od 3600 cm^{-1} do 3200 cm^{-1} upućuju na slobodne i intermolekularno vezane hidroksilne skupine što se može povezati s prisutnošću velikog broja OH skupina u strukturi pektina. Vrpce na 2922 cm^{-1} i 2856 cm^{-1} mogu se povezati s vibracijskim istezanjem C-H veza (Aburto i sur., 2015). Bichara i sur. (2016) utvrdili su kako pektin ima dvije intenzivne vrpce u regiji od 1800 cm^{-1} do 1500 cm^{-1} koje se mogu pripisati COO^- skupinama s različitim dijelovima povezanim na njih kao što su -OH i -O-CH₃. U toj regiji na IR spektrima se mogu uočiti vrpce na 1735 cm^{-1} i 1604 cm^{-1} . Spomenuta vrpca na 1735 cm^{-1} upućuje na prisutnost vibracijskog istezanja C=O veze alkilnih estera polisaharida kao što su pektin i hemiceluloza. Vrpca na 1604 cm^{-1} može se pripisati nesimetričnom istezanju COO^- povezanim s poligalakturonskom kiselinom i karboksilnim esterima pektina. Vrpce na području od 1400 cm^{-1} do 1300 cm^{-1} upućuju na simetrično istezanje CH₂ u celulozi. Vrpca na 1237 cm^{-1} upućuje na

istežanje C-O veze, dok vrpca na 1010 cm^{-1} osim C-O se odnosi i na istežanje C-C veze u strukturi pektina. Sve vrpce u regiji od 900 cm^{-1} do 600 cm^{-1} mogu se pripisati vibracijskim istežanjima C-H veza izvan ravnine (Movasaghi i sur., 2008).

5.2. BIOAKTIVNI DODATCI HRANI NA BAZI CITRUS VLAKANA, CITRUS VLAKANA/KSANTANA I CITRUS VLAKANA/GUARA SA SOKOM ARONIJE

5.2.1. Sadržaj polifenola u kompleksima

Sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u kompleksima određenih spektrofotometrijskim metodama

U bioaktivnim dodacima hrane pripremljenim na bazi vlakana (citrus vlakno, citrus vlakno/ksantan i citrus vlakno/guar) i soka aronije određen je sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina (**Tablica 16**). Rezultati ukupnih polifenola u kompleksima bili su u rasponu od $51,60\text{ mg/g}$ do $102,83\text{ mg/g}$. Iz rezultata se može utvrditi kako je povećanje količine vlakna imalo negativan utjecaj na vezanje ukupnih polifenola te su kompleksi pripremljeni s 1 % vlakna imali najveći sadržaj polifenola. Najveću koncentraciju ukupnih polifenola imao je kompleks s 1 % citrus vlakna/guara ($102,83\text{ mg/g}$), dok je najnižu vrijednost imao kompleks s 3 % citrus vlakna/guara ($51,60\text{ mg/g}$). Uspoređujući komplekse s 1 % vlakna može se utvrditi da je najbolji nosač bio citrus vlakno/guar zatim citrus vlakno i na kraju citrus vlakno/ksantan. Sadržaj antocijanina u kompleksima bio je u rasponu od $1,52\text{ mg/g}$ do $2,58\text{ mg/g}$ te je bio zastupljen isti trend kao i kod ukupnih polifenola; s većom količinom vlakna manji je sadržaj antocijanina. Kompleks s 1 % citrus vlakna/guara imao je najveću koncentraciju antocijanina ($2,58\text{ mg/g}$) dok između kompleksa s 2 % citrus vlakna/ksantana i 2 % citrus vlakna/guara te 3 % citrus vlakna/ksantana i 3 % citrus vlakna/guara nije bilo statistički značajne razlike u koncentracijama antocijanina. Kod kompleksa s 1 % vlakna, trend najboljih nosača bio je isti kao i kod sadržaja ukupnih polifenola (citrus vlakno/guar > citrus vlakno > citrus vlakno/ksantan). Sadržaj proantocijanidina u kompleksima bio je u rasponu od $6,80\text{ mg/g}$ (za kompleks s 3 % citrus vlakna/guara) do $16,34\text{ mg/g}$ (za kompleks s 1 % citrus vlakna/guara). Utvrđen je isti trend utjecaja nosača na sadržaj proantocijanidina kod kompleksa s 1 % vlakna kao i za sadržaj ukupnih polifenola i antocijanina. Nakon skladištenja kompleksa u trajanju od osam mjeseci ponovno su provedene

analize sadržaja ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina te su rezultati prikazani u **Tablici 17**. Sadržaj ukupnih polifenola bio je u rasponu od 47,37 mg/g do 97,06 mg/g. Antocijanini prisutni u kompleksima nakon skladištenja bili su u rasponu od 1,34 mg/g do 2,47 mg/g dok je sadržaj proantocijanidina bio u rasponu od 5,99 mg/g do 15,05 mg/g. Trend rezultata ostao je skoro isti kao i prije skladištenja, odnosno kompleksi s 1 % vlakna imali su najveće količine polifenola, a citrus vlakno/guar u količini od 1 % bio je najbolji nosač za vezanje ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina. Kompleksi s 1 % citrus vlakna i 1 % citrus vlakna/ksantana nisu imali statistički značajne razlike u sadržaju ukupnih polifenola i antocijanina. Kako bi se utvrdilo koji su kompleksi bili najstabilniji tijekom skladištenja, izračunat je postotak zadržavanja antocijanina i proantocijanidina nakon skladištenja (**Tablica 18**). Zadržavanje antocijanina bilo je u rasponu od 89,18 % do 100 % dok su proantocijanidini bili zadržani u kompleksima u rasponu od 88,07 % do 100 %. Iz rezultata je uočeno kako kod kompleksa s 2 % citrus vlakna nije došlo do degradacije antocijanina i proantocijanidina. Antocijanini su u potpunosti zadržani i u kompleksu s 2 % citrus vlakna/guara, te kompleksu s 2 % citrus vlakna/ksantana (99,45 %). Najveća degradacija antocijanina i proantocijanidina utvrđena je u kompleksu s 3 % citrus vlakna/guara (zadržavanje antocijanina 89,18 % i zadržavanje proantocijanidina 88,07 %).

Dobiveni rezultati sadržaja ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u kompleksima su u skladu s istraživanjem provedenim na bioaktivnim dodatcima hrani na bazi citrus vlakana i soka kupine (Buljeta i sur., 2021b) i celuloze i soka maline (Vukoja i sur., 2021a) gdje su manje količine vlakana imale veći utjecaj na vezanje polifenola odnosno vezana je veća količina polifenola. U ovom istraživanju korištena su tri tipa vlakna, a iz rezultata se uočilo kako je citrus vlakno/guar imao najpozitivniji utjecaj na vezanje polifenola pri količini od 1 % zatim citrus vlakno te na kraju citrus vlakno/ksantan. Iz prethodnih istraživanja uočeno je kako kombinacija nosača može pozitivno utjecati na vezanje polifenola i njihovu stabilnost. Mansour i sur. (2019) inkapsulirali su antocijanine maline s gumom arabikom i proteinima soje te su postigli bolju učinkovitost i stabilnost antocijanina nego s pojedinačnim materijalima za inkapsuliranje. U istraživanju Ćujić Nikolić i sur. (2018) dodatak gume arabike je poboljšao stabilnost polifenola aronije što bi moglo biti zbog svojstava nosača na bazi gume koji stvaraju dobru barijeru oko polifenola. Slično je utvrđeno kod inkapsulacije polifenola kore jabotikabe (*Myrciaria Jaboticaba*) u pogledu

zadržavanja antocijanina gdje je najefikasnija inkapsulacija postignuta korištenjem maltodekstrina ili maltodekstrina u kombinaciji s gumom arabikom. Prahovi dobiveni s maltodekstrinom i gumom arabikom imali su homogenije čestice (Silva i sur., 2013). Proantocijanidini su najznačajnija skupina polifenola u aroniji te su u najvećoj mjeri odgovorni za njenu trpkost (Jurendić i Ščetar, 2021). Interakcije proantocijanidina i vlakana iz staničnih stijenki biljaka u ovisnosti su o koncentraciji proantocijanidina, molekulskoj masi, stupnju galoilacije i polimerizacije kao i o sastavu i strukturi staničnih stijenki. Neki autori navode kako proantocijanidini koji u svojoj strukturi imaju (+)-katehin jedinice pokazuju veći afinitet prema polisaharidima od onih koji imaju jedinice (-)-epikatehina (Renard i sur., 2017). U aroniji se većinom može detektirati epikatehin, dok se katehin može detektirati u jako niskim koncentracijama. Proantocijanidini uobičajeno prisutni u aroniji su procijanidin B2, procijanidin B5 i procijanidin C1 čija se struktura sastoji od jedinica epikatehina (Bräunlich i sur., 2013). Ako se promatra priroda vlakna, istraživanja su pokazala kako pektin iz citrusa koji sadrži više ramnogalakturonana tipa I ima veći afinitet prema proantocijanidinima od pektina iz jabuke (Renard i sur., 2017). U usporedbi s drugim istraživanjem, uočeno je kako je u ovim kompleksima visok postotak zadržavanja antocijanina i proantocijanidina nakon skladištenja. Vukoja i sur. (2021a) u bioaktivnim dodatcima hrani na bazi celuloze i soka maline nakon skladištenja od 12 mjeseci imali su zadržavanje antocijanina u rasponu od 55 % do 65 %. S obzirom na navedeno, moglo bi se pretpostaviti kako su citrus vlakna imala bolji utjecaj na zadržavanje antocijanina tijekom skladištenja od celuloze.

Sadržaj individualnih polifenola u kompleksima određenih HPLC metodom

Kako bi se odredio polifenolni profil pripremljenih kompleksa provedena je HPLC analiza. Sadržaj individualnih polifenola identificiranih i kvantificiranih u kompleksima prikazan je u **Tablici 19**. Rezultatima je utvrđeno prisustvo osam polifenola iz skupina antocijanina (cijanidin-3-galaktozid, cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3-arabinozid), fenolnih kiselina (neoklorogenska kiselina, klorogenska kiselina i derivat klorogenske kiseline), flavonola (kvercetin-3-galaktozid) i flavanona (hesperidin). Šest polifenola je prethodno određeno u soku aronije dok je hesperidin bio određen u vlaknima. Polifenoli soka aronije, određeni u kompleksima su u skladu s prethodnim istraživanjem (Bursać Kovačević i sur., 2016). Iz skupine antocijanina, cijanidin-3-galaktozid je bio zastupljen u najvećim koncentracijama u kompleksima u rasponu od 24,41 mg/100 g do 31,80 mg/100 g.

Cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3-arabinozid bili su prisutni u nižim koncentracijama u kompleksima u rasponima od 8,18 mg/100 g do 16,04 mg/100 g (cijanidin-3-glukozid) i od 9,11 mg/100 g do 14,56 mg/100 g (cijanidin-3-arabinozid). Najveće koncentracije cijanidin-3-galaktozida bile su u kompleksima s 1 % vlakna, a citrus vlakno/guar u količini od 1 % pokazao se kao najbolji nosač (31,80 mg/100 g). Koncentracije cijanidin-3-glukozida bile su najveće u kompleksu s 1 % citrus vlakna (16,04 mg/100 g) te se može utvrditi kako u ovom slučaju kombinacija citrus vlakna s guarom ili ksantanom nije poboljšala vezanje (pri količini od 1 % nema statistički značajne razlike između kompleksa). Nasuprot tome, cijanidin-3-arabinozid najviše se vezao u kompleksu s 1 % citrus vlakna/ksantana (14,56 mg/100 g). Između uzoraka pripremljenih sa 1 % i 2% citrus vlakna, 3 % citrus vlakna/ksantana i 2 % citrus vlakna/guara nije bilo statističke značajne razlike u koncentracijama cijanidin-3-arabinozida. Koncentracija neoklorogenske kiseline u kompleksima bila je u rasponu od 95,45 mg/100 g do 145,33 mg/100 g. Najveća koncentracija bila je u kompleksu s 1 % citrus vlakna. Povećanje količine vlakna uzrokovalo je smanjenje koncentracije neoklorogenske kiseline, osim kod kompleksa s 2 % i 3 % citrus vlakna/guara gdje nije bilo statistički značajne razlike u koncentracijama (oko 100 mg/100 g). Klorogenska kiselina u kompleksima bila je u rasponu od 122,36 mg/100 g (za kompleks s 3 % citrus vlakna) do 156,72 mg/100 g (za kompleks s 1 % citrus vlakna/ksantana). Promjena količine citrus vlakna i citrus vlakna/guara s 2 % na 3 % nije uzrokovala statistički značajne promjene u koncentraciji klorogenske kiseline. U kompleksima je detektiran derivat klorogenske kiseline čiji je raspon koncentracija bio od 68,78 mg/100 g do 92,91 mg/100 g. Najveće koncentracije derivata klorogenske kiseline bile su u kompleksima s citrus vlaknom/ksantanom, posebno pri količini vlakna od 1 %, dok su najniže koncentracije bile u kompleksima s 2 % i 3 % citrus vlakna. Najveće koncentracije ukupnih fenolnih kiselina bile su u kompleksima s 1% citrus vlakna i 1 % citrus vlakna/ksantana. Iz skupine flavonola u kompleksima je detektiran kvercetin-3-galaktozid, dok kvercetin-3-rutinozid koji je detektiran u soku aronije nije pronađen u kompleksima. Koncentracija kvercetin-3-galaktozida u uzorcima bila je u rasponu od 26,41 mg/100 g do 44,08 mg/100 g. Najveća koncentracija bila je u kompleksu s 1 % citrus vlakna/guara, a najniža u kompleksima s 3 % citrus vlakna te 2 % i 3 % citrus vlakna/ksantana (oko 26,50 mg/100 g). Koncentracije hesperidina u kompleksima bile su u rasponu od 782,10 mg/100 g do 1453,06 mg/100 g. Kako se povećavala količina vlakna, tako je i

koncentracija hesperidina bila veća što je bilo i očekivano zbog njegove prisutnosti u vlaknu. Najveće koncentracije su bile u kompleksu s 3 % citrus vlakna/guara (1453,06 mg/100 g). Rezultati pojedinačnih polifenola nakon skladištenja kompleksa prikazani su u **Tablici 20**. Koncentracije cijanidin-3-galaktozida nakon skladištenja kompleksa bile su u rasponu od 23,10 mg/100 g do 29,88 mg/100 g s najvećom koncentracijom u kompleksu s 1 % citrus vlakna/guara što je bio slučaj i u kompleksima prije skladištenja. Cijanidin-3-glukozid bio je zastupljen u kompleksima u rasponu od 4,76 mg/100 g do 20,23 mg/100 dok je cijanidin-3-arabinozid bio zastupljen od 6,27 mg/100 g do 11,33 mg/100 g. Koncentracija cijanidin-3-glukozida bila je najveća u kompleksu s 1 % citrus vlakna/guara, a najniža u kompleksu s 3 % citrus vlakna/guara. Cijanidin-3-arabinozid je u najvećoj koncentraciji bio prisutan u kompleksu s 1 % citrus vlakna/guara, a u najmanjoj koncentraciji u kompleksu s 3 % citrus vlakna/guara i 3 % citrus vlakna/ksantana. Neoklorogenska kiselina (69,80 mg/100 g), klorogenska kiselina (124,15 mg/100 g) i derivat klorogenske kiseline (82,58 mg/100 g) u najvećim koncentracijama bili su zastupljeni u kompleksu s 1 % citrus vlakna/ksantana. Najniže koncentracije fenolnih kiselina bile su u kompleksu s 3 % citrus vlakna (205,12 mg/100 g). Kvercetin-3-galaktozid u skladištenim kompleksima bio je u rasponu od 27,16 mg/100 g (kompleks s 3 % citrus vlakna) do 44,91 mg/100 g (kompleks s 1 % citrus vlakna/guara). Koncentracije hesperidina bile su u rasponu od 647,54 mg/100 g do 1152,17 mg/100 g. U **Tablici 21** prikazan je postotak zadržavanja polifenola određenih HPLC analizom nakon skladištenja. Ukupni antocijanini u potpunosti su zadržani u kompleksu s 1 % citrus vlakna/guara, a najveća degradacija bila je u kompleksu s 3 % citrus vlakna/ksantana (zadržavanje 82,14 %). U usporedbi s drugim polifenolima, zadržavanje neoklorogenske kiseline nakon skladištenja je bilo nisko (44,54 – 53,02 %). Najveća degradacija neoklorogenske kiseline bila je u kompleksu s 1 % citrus vlakna/guara, a najmanja u kompleksu s 2 % citrus vlakna. Zadržavanje klorogenske kiseline u kompleksima nakon skladištenja bilo je u rasponu od 77,81 % do 84,04 %. U kompleksu s 2 % citrus vlakna najbolje je zadržana klorogenska kiselinu dok je kod kompleksa s 1 % i 2 % citrus vlakna bila najmanje zadržana. Derivat klorogenske kiseline u potpunosti je zadržan u kompleksu s 2 % citrus vlakna, a najmanje u kompleksu s 3 % citrus vlakna/ksantana. Ako se promatraju ukupne fenolne kiseline, zadržavanje je bilo u rasponu od 68,98 % (kompleks s 1 % citrus vlakna/guara) do 75,77 % (kompleks s 2 % citrus vlakna). Kvercetin-3-galaktozid je u potpunosti zadržan u svim kompleksima osim u

kompleksu s 1 % citrus vlakna/ksantana. Zadržavanje hesperidina bilo je približno isto u svim kompleksima (oko 85 %), a najveća degradacija bila je u kompleksu koji je imao najveći sadržaj hesperidina; uzorak s 3 % citrus vlakna/guara (zadržavanje od 79,29 %). Promatrajući ukupne polifenole određene HPLC analizom, kompleks s 2 % citrus vlakna bio je najstabilniji i najviše je zadržao polifenole dok je najveća degradacija polifenola bila u kompleksu s 3 % citrus vlakna/guara.

Veće koncentracije cijanidin-3-galaktozida u kompleksima rezultat su njegove veće koncentracije u soku aronije. Prema drugim istraživanjima, vezanje polifenola na vlakna je u ovisnosti o koncentraciji polifenola. Polifenoli s većom koncentracijom u okolini vlakna više će se vezati od polifenola prisutnih u nižoj koncentraciji (Phan i sur., 2015; Jakobek i sur., 2021). U istraživanju Jakobek i sur. (2021) cijanidin-3-galaktozid i cijanidin-3-arabinozid u ekstraktu aronije su bili prisutni u većim koncentracijama od svih polifenola te je njihova adsorpcija na β -glukan bila veća. Isti autori su pretpostavili kako se ta adsorpcija odvija preko vodikovih veza i van der Waals-ovih sila. Stvaranje vodikovih veza smanjilo je udaljenost između polifenola i β -glukana te omogućilo stvaranje van der Waals-ovih sila. U ovom istraživanju neoklorogenska kiselina se u soku nalazila u znatno višim koncentracijama od klorogenske kiseline, ali u kompleksima to nije bio slučaj. U kompleksima je pronađen derivat klorogenske kiseline koji nije prethodno pronađen u soku i vlaknima. Može se pretpostaviti kako je prisustvo ovog derivata posljedica degradacije neoklorogenske i/ili klorogenske kiseline. Zhu i sur. (2016) su istraživali degradaciju klorogenskih kiselina te su zaključili kako neoklorogenska kiselina i klorogenska kiselina imaju tendenciju da degradiraju u kriptoklorogensku kiselinu. Dostupna mjesta na vlaknu za vezanje polifenola mogu biti važan čimbenik u količini vezanih polifenola. Citrus vlakna koja su korištena u ovom istraživanju sadržavala su hesperidin za koji se može pretpostaviti da je smanjio dostupnost mjesta za vezanje polifenola soka aronije. Najveće količine hesperidina bile su u kompleksu s 3 % citrus vlakna/guara, a taj kompleks je imao najmanje vezanih polifenola soka aronije. Interakcije između polifenola i prehrambenih vlakana odvijaju se preko nekovalentnih veza kao što su vodikove veze, hidrofobne interakcije, Van der Waals-ove sile ili fizičkim „zarobljavanjem“ molekula. Afinitet polifenola prema polisaharidima odnosno u ovom slučaju prehrambenim vlaknima može ovisiti o molekularnoj masi polifenola, ali i o prirodi i strukturi polisaharida (Renard i sur., 2001). Hidrofilne hidroksilne grupe

polifenola vezane za hidrofobni aromatski prsten imaju mogućnost vezanja na polisaharide. To se vezanje odvija preko polifenolnih hidroksilnih skupina i atoma kisika na polisaharidima (Fernandes i sur., 2014). Nadalje, smatra se kako niskoesterificirani pektin bolje stabilizira antocijanine od visokoesterificiranog. Pektin iz citrusa bolje stabilizira antocijanine za razliku od pektina iz jabuka ili šećerne repe. Vodikove veze između pektina i antocijanina se vjerojatno formiraju između karboksilnih i hidroksilnih grupa između galakturonana pektina i hidroksilnih skupina antocijanina (Fernandes i sur., 2014). Polifenoli, a posebno antocijanini su skloni degradaciji tijekom procesiranja i dugog skladištenja prehrambenih proizvoda. Njihova degradacija može imati značajan utjecaj na kvalitetu boje, antioksidacijsku aktivnost i nutritivna svojstva. Inkapsulacija polifenola predstavlja zaštitni mehanizam za očuvanje aktivnog oblika polifenola. Jedan od najvažnijih kriterija za procjenu kvalitete inkapsuliranih polifenola je duljina vremenskog roka tijekom kojeg takvi pripravci zadržavaju svoju bioaktivnost (Wilkowska i sur., 2016b). Stabilnost inkapsuliranih polifenola tijekom skladištenja proučavana je i u drugim istraživanjima. Bakowska-Barczak i Kolodziejczyk (2011) skladištili su inkapsulirane polifenole crnog ribiza s inulinom i maltodekstrinom 12 mjeseci na temperaturama od 8 °C i 25 °C. Na temperaturi od 25 °C gubitak antocijanina bio je 24 – 32 %, a gubitak ukupnih polifenola bio je 8 – 11 %. Inulin se pokazao boljim nosačem tijekom skladištenja za zadržavanje polifenola. Inkapsulacija ekstrakta bogatog antocijaninima dobivenog iz komine *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg provedena je procesom liofilizacije, a kao nosači su se koristili maltodekstrin, pektin i proteini soje. Nakon skladištenja od 90 dana pri izloženosti UV svjetlu i sobnoj temperaturi, ispitan je sadržaj ukupnih polifenola i antocijanina. Degradacija ukupnih polifenola bila je najmanja u uzorku gdje se kao nosač koristio maltodekstrin u kombinaciji s pektinom i proteinima soje (0,4 %) dok je degradacija antocijanina bila najmanja u uzorku s maltodekstrinom (9 %) (Pereira Souza i sur., 2017). Wilkowska i sur. (2016b) su ispitali degradaciju polifenola i antocijanina tijekom skladištenja (12 mjeseci) pri različitim uvjetima (8 °C, 25 °C i 25°C uz svjetlost) u inkapsuliranim polifenolima soka aronije s β -ciklodekstrinom, maltodekstrinom i gumom arabikom. Najveći gubitci ukupnih polifenola (21,1 – 30,8 %) i antocijanina (23 – 42,5 %) bili su pri 25°C i izloženosti svjetlu. Autori su naveli kako osim temperature skladištenja i odabira nosača, sastav polifenola utječe na stabilnost tijekom skladištenja. Antocijanini aronije inkapsulirani s maltodekstrinom u kombinaciji s pektinom, β -

glukanom, inulinom, gumom arabikom ili guar gumom skladišteni su sedam dana na svjetlosti i zraku. Iz rezultata je uočeno kako nije došlo do statistički značajne degradacije antocijanina kod uzoraka s guar gumom i inulinom te da su ovi nosači predstavljali dobru fizičku barijeru u zaštiti antocijanina (Pieczykolan i Kurek, 2019).

Grupiranje uzoraka prema sličnosti sadržaja polifenola

Rezultati grupiranja uzoraka po sličnosti sadržaja pojedinačnih polifenola dobivenih klaster analizom prikazani su na **Slici 32**. Kod kompleksa na bazi citrus vlakana (**Slika 32a**) utvrđena su dva klastera te su najveću sličnost imali kompleksi s 2 % i 3 % citrus vlakna te kompleksi s 1 % citrus vlakna nakon pripreme i nakon skladištenja. **Slika 32b** prikazuje sličnost kompleksa na bazi citrus vlakna/ksantana. U ovom slučaju također su prisutna dva klastera, a najveća sličnost utvrđena je za komplekse s 3 % citrus vlakna/ksantana i skladištenog kompleksa s 2 % citrus vlakna/ksantana te kompleksa s 1 % citrus vlakna/ksantana nakon pripreme i nakon skladištenja. Dendrogram prikazan na **Slici 32c** pokazuje grupiranje u dva klastera i to prvi klaster kompleksi s 2 % i 3 % citrus vlakna/guara te drugi klaster skladišteni kompleksi s 2 % i 3 % citrus vlakna/guara. Iz svih dendrograma može se zaključiti kako su kompleksi sličniji međusobno nego s odgovarajućim vlaknom, a najviše se razlikuju od soka aronije.

5.2.2. Antioksidacijska aktivnost kompleksa

Antioksidacijska aktivnost kompleksa određena DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodama

Primjenom četiri različite metode (DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC) određena je antioksidacijska aktivnost kompleksa te su dobiveni rezultati prikazani u **Tablici 22**. Rezultati DPPH metode bili su u rasponu od 21,02 mmol/100 g do 36,09 mmol/100 g. Najveće vrijednosti antioksidacijske aktivnosti imao je kompleks s 1 % citrus vlakna, a najniže vrijednosti kompleksi s 3 % citrus vlakna i 3 % citrus vlakna/guara. Rezultati ABTS metode bili su u rasponu od 35,26 mmol/100 g do 67,46 mg/100 g, a najveću antioksidacijsku vrijednost imao je kompleks s 1 % citrus vlakna/guara dok je kompleks s 3 % citrus vlakna/guara imao najnižu vrijednost. Isti uzorci su imali najveću i najmanju antioksidacijsku aktivnost određenu FRAP i CUPRAC metodama s rasponom rezultata od 33,41 do 68,01 mmol/100 g (FRAP) i od 53,66 do 108,51 mmol/100 g (CUPRAC). Povećanje količine vlakna uzrokovalo je smanjenje antioksidacijske aktivnosti određene svim metodama. Rezultati

antioksidacijske aktivnosti skladištenih kompleksa prikazani su u **Tablici 23**. Antioksidacijska aktivnost određena DPPH metodom bila je u rasponu od 20,04 mmol/100 g do 33,77 mmol/100 g. Najveću antioksidacijsku aktivnost određenu DPPH metodom imao je kompleks s 1 % citrus vlakna/guara, a najnižu aktivnost uzorak s 3 % citrus vlakna/guara. Raspon rezultata antioksidacijske aktivnosti određene ABTS metodom bio je od 31,55 mmol/100 g do 64,12 mmol/100 g. Uzorak s 1 % citrus vlakna/guara imao je najveću antioksidacijsku aktivnost. Isti uzorak imao je najveću antioksidacijsku aktivnost određenu FRAP metodom (66,60 mmol/100 g) dok je najnižu aktivnost imao uzorak s 3 % citrus vlakna/guara (31,86 mmol/100 g). Iz rezultata antioksidacijske aktivnosti određene CUPRAC metodom za skladištene komplekse može se utvrditi kako su uzorci s 1 % citrus vlakna/ksantana i 1 % citrus vlakna/guara imali najveću antioksidacijsku aktivnost bez statistički značajne razlike između uzoraka. Najnižu antioksidacijsku aktivnost imao je uzorak s 3 % citrus vlakna/guara (52,46 mmol/100 g) kao i u ostalim metodama.

Antioksidacijska aktivnost je jedna od mnogih bioloških aktivnosti polifenola koja je ovisna o kemijskoj strukturi polifenola. U literaturi je dostupno puno metoda za mjerenje antioksidacijske aktivnosti uzoraka, ali ne postoji metoda kojom se može prikazati mehanizam djelovanja svih antioksidanasa prisutnih u kompleksnom sustavu. Zbog toga se često kombinira više metoda za analizu pojedinog uzorka kako bi se točnije prikazao antioksidacijski potencijal svih antioksidanasa. Dva su osnovna mehanizma deaktivacije slobodnih radikala antioksidansima: prijenos jednog elektrona (SET) i prijenos atoma vodika (HAT). DPPH metoda je široko primjenjivana zbog svoje jednostavnosti i brzine. DPPH radikal uobičajeno reagira preko SET mehanizma, ali ponekad može biti neutraliziran HAT ili SET mehanizmom kao i nepovezanim reakcijama. Male molekule zbog lakšeg pristupa reaktivnom mjestu pokazuju izrazito visoku antioksidacijsku aktivnost mjerenu DPPH metodom. Kod ABTS metode, mjeri se smanjenje boje intenzivno obojenog ABTS radikal kationa kroz reakciju antioksidansa s radikalom. FRAP metoda bazirana je na redukciji Fe^{3+} iona (feri oblik) u Fe^{2+} ion (fero oblik) djelovanjem antioksidansa. Ova metoda je prilično jednostavna, robusna i jeftina te je bazirana na SET mehanizmu. CUPRAC metoda bazirana je na redukciji Cu^{2+} u Cu^+ ione djelovanjem antioksidansa (Prior i sur., 2005). Antioksidacijska aktivnost fenolnih kiselina koje su u ovim kompleksima bile prisutne u značajnoj koncentraciji poboljšava se s povećanjem broja metoksi skupina, a posebno s povećanjem hidroksilnih skupina u strukturi. Osim

broja i pozicije OH skupina vezanih za aromatski prsten odgovornih za antioksidacijsku aktivnost, prisutnost $-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ skupine kod hidroksicimetnih kiselina zaslužna je za njihovu bolju antioksidacijsku aktivnost u odnosu na hidroksibenzojeve kiseline (Mercado-Mercado i sur., 2020). Zheng i Wang (2003) istraživali su antioksidacijsku aktivnost aronije i utvrdili kako antocijanini, hidroksicimetne kiseline i flavonoli doprinose oko 59,4 % ukupne antioksidacijske aktivnosti aronije, što upućuje na to da proantocijanidini doprinose oko 40 % antioksidacijske aktivnosti aronije. Dobiveni rezultati antioksidacijske aktivnosti u ovom istraživanju su u suglasnosti s drugim istraživanjima gdje je također veća količina vlakna za pripremu kompleksa uzrokovala opadanje antioksidacijske aktivnosti (Vukoja i sur., 2021a; Buljeta i sur., 2021b). Da Rosa i sur. (2014) istraživali su antioksidacijsku aktivnost inkapsuliranih polifenola kupine s ksantanom, β -ciklodekstrinom i inulinom. Najveću antioksidacijsku aktivnost imali su uzorci s ksantanom te su dobiveni rezultati bili u korelaciji sa sadržajem polifenola u uzorcima. Flavonoidi iz ekstrakta ljuske žutog luka inkapsulirani su s različitim nosačima (pektin, maltodekstrin i proteini sirutke) procesom liofilizacije. Uzorak s većim sadržajem pektina imao je veći sadržaj flavonoida i najveću antioksidacijsku aktivnost određenu DPPH metodom (Milea i sur., 2019). Skladištenjem kompleksa došlo je do blagog smanjenja antioksidacijske aktivnosti kod većine kompleksa dok su neki zadržali iste vrijednosti ili je čak došlo do povećanja antioksidacijske aktivnosti. Slično je utvrđeno kod Wilkowska i sur. (2016b) gdje se antioksidacijska aktivnost mikrokapsula s polifenolima aronije i maltodekstrinom, gumom arabikom i β -ciklodekstrinom blago smanjila nakon skladištenja (12 mjeseci). Najstabilnije mikrokapsule bile su s β -ciklodekstrinom. Uzimajući u obzir relativno dobru stabilnost polifenola i antioksidacijske aktivnosti bioaktivnih dodataka hrani pripremljenih u svrhu ovog istraživanja, ovi kompleksi pokazuju dobar potencijal za primjenu kao funkcionalni prehrambeni aditivi u prehrambenoj industriji.

Koeficijenti korelacije utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost kompleksa

Koeficijenti korelacije (r^2) utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost kompleksa prikazani su u **Tablici 24**. Sadržaj proantocijanidina, antocijanina i ukupnih polifenola u kompleksima određenih spektrofotometrijskim metodama je imao visoke koeficijente korelacije s antioksidacijskom aktivnosti ($r^2 > 0,9$). Iz rezultata sadržaja polifenola dobivenih HPLC analizom također su izračunati koeficijenti korelacije s antioksidacijskom aktivnosti. Fenolne kiseline su imale najveći koeficijent

korelacije s DPPH metodom ($r^2 = 0,8471$) dok su za ostale metode koeficijenti korelacije bili nešto niži ($r^2 \approx 0,78$). Koeficijent korelacije utjecaja antocijanina na antioksidacijsku aktivnost mjerenu DPPH metodom je bio 0,9419 dok je za sve ostale metode bio oko 0,98. Sadržaj flavanona u kompleksima nije imao pozitivne koeficijente korelacije sa antioksidacijskom aktivnosti. Iz toga se može zaključiti kako hesperidin, iako prisutan u najvećim količinama u kompleksima, nije imao utjecaja na antioksidacijsku aktivnost kao ostali polifenoli koji su izvorno bili prisutni u soku aronije te su se vezali na vlakna. Flavonoli su imali najmanji koeficijent korelacije s DPPH metodom ($r^2 = 0,8532$) dok su s ostalim antioksidacijskim metodama imali koeficijent korelacije oko 0,92. U **Tablici 25** prikazani su koeficijenti korelacije utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost kod skladištenih kompleksa. Trend rezultata zadržan je kao i prije skladištenja. Utvrđeni su visoki koeficijenti korelacije za sve polifenole određene spektrofotometrijskim mjerenjima s antioksidacijskom aktivnosti ($r^2 > 0,9$) kao i za ukupne antocijanine određene HPLC metodom ($r^2 \approx 0,98$) i flavonole ($r^2 \approx 0,9$). Fenolne kiseline su imale nešto niže koeficijente korelacije s antioksidacijskom aktivnosti ($r^2 \approx 0,68$) dok flavanoni nisu imali pozitivne koeficijente korelacije s antioksidacijskom aktivnosti.

Antioksidacijska aktivnost pokazala je direktnu korelaciju sa sadržajem polifenola (osim za sadržaj hesperidina) što je u suglasnosti s Ballesteros i sur. (2017) gdje je linearna korelacija bila 0,99. Ćorković i sur. (2021a) utvrdili su visoke koeficijente korelacije između antioksidacijske aktivnosti mjerene DPPH ($r^2 = 0,8951$), ABTS ($r^2 = 0,9535$), FRAP ($r^2 = 0,9358$) i CUPRAC ($r^2 = 0,8756$) metodama i ukupnih antocijanina u inkapsuliranim polifenolima soka aronije metodom ionskog geliranja. Sadržaj fenolnih kiselina je također imao visok utjecaj na antioksidacijsku aktivnost kod ($r^2 \approx 0,8$) s nešto nižom korelacijom s antioksidacijskom aktivnosti mjerenom FRAP metodom ($r^2 = 0,6554$). Izrazito niska korelacija (0,2 – 0,3) utvrđena je za ukupne flavonole i antioksidacijsku aktivnost.

5.2.3. Inhibicija enzima α -amilaze i α -glukozidaze kompleksima

Na **Slikama 33-36** prikazana je sposobnost inhibicije enzima α -amilaze i α -glukozidaze kompleksima nakon pripreme i skladištenja. Dokazano je kako polifenoli imaju sposobnost inhibicije spomenutih enzima što uvelike ima utjecaj na prevenciju i tretiranje dijabetesa tipa 2,

pretilosti i slično. Istraživači sve više pokušavaju pronaći prirodne inhibitore enzima kako bi se smanjila i spriječila upotreba sintetskih, a aronija i njeni proizvodi s obzirom na bogat sadržaj polifenola zasigurno mogu biti razmatrani u toj primjeni. Na **Slici 33** prikazana je sposobnost inhibicije enzima α -amilaze kompleksima na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije. Inhibicija je bila u rasponu od 78,82 % do 86,51 % za koncentracije polifenola u reakcijskoj smjesi od 34,60 mg/L do 67,47 mg/L. Uočeno je kako je inhibicijska aktivnost povezana s koncentracijom polifenola u kompleksima; više polifenola u reakcijskoj smjesi rezultiralo je većom inhibicijskom aktivnošću. Najveću inhibicijsku aktivnost imali su kompleksi s 1 % citrus vlakna/guara i 1 % citrus vlakna (oko 86 %). Iako je kompleks s 1 % citrus vlakna imao nešto manju koncentraciju polifenola u reakcijskoj smjesi (65,68 mg/L) od uzorka s 1 % citrus vlakna/guara (67,47 mg/L), imao je veću koncentraciju cijanidin-3-glukozida i klorogenske kiseline što bi moglo utjecati na njegovu veću inhibicijsku aktivnost pri manjoj koncentraciji ukupnih polifenola u reakcijskoj smjesi. Cijanidin-3-glukozid i klorogenska kiselina u prethodnim istraživanjima pokazali su jaku inhibicijsku aktivnost prema enzimu α -amilazi (Worsztynowicz i sur., 2014; Akkarachiyasit i sur., 2010). Najnižu sposobnost inhibicije enzima α -amilaze imao je kompleks s 3 % citrus vlakna/guara koji je ujedno imao i najnižu koncentraciju polifenola u reakcijskoj smjesi. Rezultati inhibicije enzima α -amilaze sa skladištenim kompleksima prikazani su na **Slici 34**. Rezultati inhibicijske aktivnosti smanjili su se nakon skladištenja te su bili u rasponu od 66,65 % do 75,36 % za koncentracije polifenola u reakcijskoj smjesi od 30,02 mg/L do 65,53 mg/L. Trend koji je bio uočen prije skladištenja ostao je isti i nakon skladištenja, odnosno isti uzorci su ponovno imali najveću i najnižu inhibicijsku aktivnost. Na **Slici 35** prikazana je sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze kompleksima na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije. Inhibicijska aktivnost kompleksa bila je u rasponu od 52,42 % do 94,80 % za koncentracije polifenola u reakcijskoj smjesi od 5,71 mg/L do 11,13 mg/L. Uzorci s 1 % citrus vlakna/guara i 1 % citrus vlakna/ksantana imali su najveću sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze. Iako je kompleks s 1 % citrus vlakna/ksantana imao manju koncentraciju ukupnih polifenola u reakcijskoj smjesi od kompleksa s 1 % citrus vlakna/guara oba kompleksa su imala istu inhibicijsku aktivnost. Međutim, kompleks s 1 % citrus vlakna/ksantana imao je veću koncentraciju cijanidin-3-arabinozida te se pretpostavlja kako je veća koncentracija ovog

antocijanina zaslužna za veću inhibicijsku aktivnost kompleksa. Ovaj rezultat je u suglasnosti s prethodnim istraživanjem gdje je utvrđena najveća inhibicijska aktivnost za cijanidin-3-arabinozid između četiri ispitivana antocijanina (Bräunlich i sur., 2013). Najmanju sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze imao je kompleks s 3 % citrus vlakna (52,42 %) iako je imao veću koncentraciju polifenola u reakcijskoj smjesi (6,02 %) od kompleksa s 3 % citrus vlakna/guara. Pretpostavlja se kako je veća količina klorogenske i neoklorogenske kiseline u kompleksu s 3 % citrus vlakna/guara zaslužna za veću inhibicijsku aktivnost od kompleksa s 3 % citrus vlakna s manjom koncentracijom ovih fenolnih kiselina što je u suglasnosti s prethodnim istraživanjem (Worsztynowicz i sur., 2014). Rezultati inhibicije enzima α -glukozidaze skladištenim kompleksima prikazani su na **Slici 36**. Raspon rezultata inhibicije bio je od 46,75 % do 94,94 % za koncentracije polifenola u reakcijskoj smjesi od 4,95 mg/L do 10,81 mg/L. Kod nekih kompleksa je došlo do blagog povećanja inhibicijske aktivnosti nakon skladištenja. Isti kompleksi kao i prije skladištenja su imali najveću inhibicijsku aktivnost, dok je kompleks s 3 % citrus vlakna/guara nakon skladištenja imao najnižu inhibicijsku aktivnost. Kod ovog uzorka je došlo i do najveće degradacije polifenola tijekom skladištenja.

Iz prethodnih rezultata može se utvrditi kako su kompleksi imali višu inhibicijsku aktivnost α -glukozidaze pri nižim koncentracijama polifenola, dok je za inhibiciju α -amilaze u reakcijskoj smjesi bila potrebna mnogo veća koncentracija polifenola. Slični rezultati bili su i kod soka aronije korištenog u ovom istraživanju gdje se sok pokazao puno boljim inhibitorom α -glukozidaze u odnosu na akarbozu, ali lošijim inhibitorom α -amilaze u odnosu na akarbozu. Objašnjenje bi moglo biti u većoj prisutnosti cijanidin-3-galaktozida u kompleksima koji je bolji inhibitor α -glukozidaze i manjoj prisutnosti cijanidin-3-glukozida koji je bolji inhibitor α -amilaze. Inhibicijsku aktivnost cijanidina i njegovih glikozida za enzime α -amilazu i α -glukozidazu istraživali su Akkarachiyasit i sur. (2010). Iz dobivenih rezultata utvrđeno je kako cijanidin-3-glukozid ima najveću sposobnost inhibicije α -amilaze što je vjerojatno posljedica prisustva 3-O-glukoze u strukturi. Zamjena 3-O-glukoze s 3-O-galaktozom (cijanidin-3-galaktozid) uzrokuje značajan pad sposobnosti inhibicije α -amilaze i značajan porast sposobnosti inhibicije α -glukozidaze. Molekule glukoze i galaktoze imaju istu molekulsku, ali različitu strukturnu formulu. Jedina razlika između te dvije molekule je u položaju hidroksilne skupine na C-4. Autori navode kako je strukturalna promjena šećera na 3-O-

poziciji kod glikozida cijanidina važan čimbenik koji utječe na inhibiciju α -amilaze i α -glukozidaze. Također se pretpostavlja kako cijanidin i njegovi glikozidi mogu stvarati interakcije s proteinima preko hidroksilnih skupina stvarajući vodikove veze s polarnim grupama na aktivnim mjestima proteina (Akkarachiyasit i sur., 2010). Nadalje, istraživanjem provedenim na polifenolima ekstrakta aronije kao inhibitorima α -amilaze i lipaze utvrđeno je kako su i antocijanini i fenolne kiseline spojevi koji inhibiraju reakcije katalizirane α -amilazom i lipazom. Najveću efikasnost inhibicije α -amilaze iz skupine fenolnih kiselina imala je klorogenska kiselina dok je iz grupe antocijanina, cijanidin-3-glukozid bio najbolji inhibitor. Ovakvi rezultati upućuju na moguću primjenu aronije kao funkcionalne hrane koja može utjecati na sprječavanje pretilosti (Worsztynowicz i sur., 2014). Frakcionirane komponente aronije, ispitivane su na sposobnost inhibicije α -glukozidaze. Iz rezultata je uočeno kako svi antocijanini (cijanidin-3-galaktozid, -glukozid, -arabinozid) osim cijanidin-3-ksilozida imaju puno veću inhibicijsku aktivnost od proantocijanidina (B2, B5 i C1). Od ispitivanih antocijanina najbolju inhibicijsku aktivnost imao je cijanidin-3-arabinozid (što se u nekim slučajevima pokazalo i u ovom istraživanju). Od tri izolirana proantocijanidina, najveću sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze imao je procijanidin C1 (trimerni procijanidin) upućujući na veću inhibicijsku aktivnost proantocijanidina s povećanjem molekulske mase (Bräunlich i sur., 2013). S obzirom da je u kompleksima prisutno više komponenti koje imaju dokazanu sposobnost inhibicije enzima α -amilaze i α -glukozidaze, može se pretpostaviti da je sinergističko djelovanje pojedinačnih komponenti utjecalo na ukupnu inhibicijsku aktivnost. Bioaktivni dodaci hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije analizirani u ovom istraživanju pokazali su sposobnost inhibicije enzima α -amilaze i α -glukozidaze. Može se utvrditi kako je za inhibiciju α -glukozidaze bilo potrebno manje polifenola u reakcijskoj smjesi u odnosu na inhibiciju α -amilaze. Kompleksi s 1 % vlakana imali su najveću inhibicijsku aktivnost kod oba testirana enzima.

5.2.4. Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima

Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima određenih GC-MS metodom

U **Tablici 26** prikazan je sadržaj hlapljivih komponenti u bioaktivnim dodacima hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije. U kompleksima su bile

prisutne 22 hlapljive komponente koje su radi lakše preglednosti i uvida u rezultate podijeljene u pripadajuće skupine alkohola, karbonilnih spojeva i terpena. Najmanji udio hlapljivih komponenti u kompleksima činili su alkoholi s pet identificiranih komponenti. Najviše komponenti pripadalo je skupini karbonilnih spojeva (10 komponenti) dok je skupina terpena činila najveći udio hlapljivih komponenti sa sedam komponenti detektiranih u kompleksima. Koncentracija alkohola u kompleksima bila je u rasponu od 20,16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 102,23 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Kompleks s 3 % citrus vlakna/guara imao je najveću koncentraciju alkohola dok je uzorak s 2 % citrus vlakna imao najmanju koncentraciju alkohola. Koncentracije 3-heksen-1-ola u kompleksima bile su u rasponu od 0,13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (za kompleks s 3 % citrus vlakna/ksantana) do 1,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (za kompleks s 2 % citrus vlakna/guara). U kompleksima s 3 % citrus/vlakna i 1 % citrus vlakna/guara, 3-heksen-1-ol nije identificiran. Heks-1-ol bio je prisutan u svim kompleksima (0,15 – 4,27 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Visoka koncentracija 2-etilheksan-1-ola, koji je identificiran i u soku aronije i u vlaknima, bila je u uzorku s 3 % citrus vlakna/guara (68,69 $\mu\text{g}/\text{kg}$) što je očekivano s obzirom da je citrus vlakno/guar imalo visoke koncentracije ovog spoja. U ostalim kompleksima njegova je koncentracija bila u rasponu od 2,60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 15,12 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Oktan-1-ol je prethodno identificiran na vlaknima te je u kompleksima bio zastupljen u najvećim koncentracijama (15,16 – 32,64 $\mu\text{g}/\text{kg}$), dok u kompleksu s 2 % citrus vlakna nije detektiran. Nonan-1-ol nije identificiran u kompleksima s 2 % i 3 % citrus vlakna, a u ostalim kompleksima bio je u rasponu od 0,46 do 6,08 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Karbonilni spojevi su bili zastupljeni u rasponu od 36,81 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 102,38 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Kompleks s 2 % citrus vlakna/guara imao je najveću koncentraciju karbonilnih spojeva. Najniže koncentracije karbonilnih spojeva bile su u kompleksima s citrus vlaknom/ksantanom, posebice u kompleksu s 1 % citrus vlakna/ksantana. Koncentracije nonanala, koji je bio prisutan i u soku i na vlaknima, u kompleksima su bile dosta visoke (7,56 – 34,29 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Najveće koncentracije nonanala su bile u kompleksima s citrus vlaknima/guarom. Iako je citrus vlakno/guar imao najveće koncentracije nonanala, u kompleksu s 3 % citrus vlakna/guara gdje su bile očekivane najveće koncentracije tog spoja to nije bio slučaj. Iz toga se da pretpostaviti kako su i drugi čimbenici utjecali na vezanje ove komponente. Značajne koncentracije dekanala također su bile prisutne u kompleksima (5,17 – 19,69 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Dekanal je bio prisutan i u soku aronije i na vlaknima s najvećom koncentracijom u citrus vlaknu/guaru. Iz rezultata se može uočiti kako povećanje količine citrus vlakna/guara u kompleksima nije utjecalo

na veću prisutnost dekanala (nije bilo statistički značajne razlike između kompleksa s 1 % i 3 % te 1 % i 2 % citrus vlakna/guara). Geranil aceton je u vlaknima bio prisutan u jako visokim koncentracijama, ali u kompleksima su te koncentracije bilo značajno manje (2,12 – 16, 58 µg/kg). Može se utvrditi kako njegovo vezanje odnosno zadržavanje na vlaknima, nije pratilo trend; najveća koncentracija na vlaknu nije rezultirala najvećom koncentracijom u kompleksu. Od svih ispitivanih spojeva, terpeni su bili zastupljeni u najvećoj koncentraciji u kompleksima, osim kod kompleksa s 1 % i 3 % citrus vlakna/guara koji su bili bogatiji karbonilnim spojevima. Iz grupe terpena, D-limonen je bio prisutan u najvećim koncentracijama u kompleksima (osim u kompleksu s 3 % citrus vlakna/guara) te su njegove koncentracije bile u rasponu od 9,95 µg/kg do 262,30 µg/kg). Ujedno D-limonen je od svih identificiranih hlapljivih komponenti imao najveće koncentracije u kompleksima. U **Tablici 27** prikazan je sadržaj hlapljivih komponenti u skladištenim bioaktivnim dodacima hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije. U kompleksima je identificirana 21 komponenta iz skupine alkohola, karbonilnih spojeva i terpena. U usporedbi s kompleksima nakon pripreme, 4-propilbenzaldehyd nije identificiran u skladištenim kompleksima. U skladištenim kompleksima koncentracija alkohola se smanjila u svim kompleksima (5,09 – 34,80 µg/kg) osim u kompleksu s 3 % citrus vlakna gdje je ostala ista i kompleksu s 3 % citrus vlakna/ksantana gdje se malo povećala. Najmanje zadržavanje odnosno najveća degradacija alkohola (oko 70 %) bila je u kompleksima s 2 % citrus vlakna, 2 % citrus vlakna/ksantana i 3 % citrus vlakna/guara. U nekim kompleksima pojedinačni alkoholi nisu bili detektirani nakon skladištenja iako su bili prisutni prije skladištenja. U kompleksima s 1 % citrus vlakna, 1 % citrus vlakna/ksantana, 3 % citrus vlakna/ksantana, 3-heksen-1-ol nije bio detektiran nakon skladištenja. Heks-1-ol nakon skladištenja nije bio prisutan u kompleksima s 1 % citrus vlakna, 1 % citrus vlakna/guara, dok nonan-1-ol nije detektiran u istim kompleksima te dodatno u kompleksu s 1 % citrus vlakna/ksantana. Koncentracije karbonilnih spojeva kod skladištenih kompleksa bile su u rasponu od 35,71 µg/kg do 110,65 µg/kg. Degradacija karbonilnih spojeva utvrđena je kod kompleksa s 1 % citrus vlakna (oko 40 %), 3 % citrus vlakna (oko 35 %) i 1 % citrus vlakna/guara (oko 20 %). Kod ostalih kompleksa utvrđen je porast koncentracije karbonilnih spojeva, a posebice je to bilo izraženo kod kompleksa s citrus vlaknom/ksantanom (oko 50 %). Koncentracije terpena u kompleksima nakon skladištenja bile su u rasponu od 21,21 µg/kg do

121,02 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Kod svih kompleksa došlo je do degradacije terpena nakon skladištenja, a najbolje zadržavanje utvrđeno je kod kompleksa s 3 % citrus vlakna/guara (96 %). Kod ostalih kompleksa smanjenje koncentracije terpena bilo je za oko 50 – 80 %.

U većini istraživanja proučava se utjecaj učinkovitosti nosača za vezanje polifenola iz različitih prirodnih izvora dok su hlapljive komponente često zanemarene. Sok aronije, osim bogatog sadržaja polifenola, sadrži i specifične hlapljive komponente odgovorne za aromu. Tijekom kompleksacije vlakana i polifenola soka aronije, bilo je očekivano da će se dogoditi i vezanje hlapljivih spojeva. Formiranje *delivery systems* aktivnih spojeva kao što hlapljive komponente je od visoke važnosti za prehrambenu industriju. Poznato je kako na aromatski profil voća utječe dodatak hidrokoloida preko dva moguća mehanizma. Jedan od mogućih mehanizama je povećanje viskoznosti sustava što smanjuje brzinu difuzije hlapljivih komponenti u okolinu, a drugi je vezanje hlapljivih komponenti na hidrokoloide (Kopjar i sur., 2020). Sustav za inkapsulaciju treba biti odabran na način da se hlapljive komponente zaštite od degradacije i oksidacije. Ugljikohidrati su dokazani efikasni materijali za inkapsulaciju takvih komponenti te utječu na njihovo zadržavanje i kontrolirano otpuštanje. Ti učinci ovise o mnogo čimbenika kao što su fizikalno-kemijske karakteristike hlapljivih komponenti, vrsta i koncentracija ugljikohidrata (Naknean i Meenune, 2010). Poznato je kako se komponente s visokom molekulskom masom bolje zadržavaju u sustavu s ugljikohidratima nego komponente s niskom molekulskom masom dok povećana hlapljivost i polarnost smanjuju zadržavanje. Također, smanjeno zadržavanje hlapljivih komponenti uzrokovano je povećanjem stupnja kristalizacije nosača zbog unakrsnog povezivanja što smanjuje površinu između polimernih lanaca i uzrokuje „istiskivanje“ hlapljivih komponenti iz matriksa na površinu (Guichard 2002; Naknean i Meenune, 2010). Malo je istraživanja provedeno na hlapljivim spojevima aronije, a još manje na njihovoj inkapsulaciji. Ćorković i sur. (2021a) inkapsulirali su polifenole i hlapljive spojeve aronije metodom ionskog geliranja gdje su kao materijale za inkapsulaciju koristili alginat i alginat/pektin. Iz rezultata je uočeno kako je dodatak pektina kao nosača poboljšao zadržavanje karbonilnih spojeva u usporedbi s alginatom kao jedinim nosačem. Poznato je kako postoji poveznica između kemijskih skupina u određenim grupama hlapljivih komponenti i njihovim stupnjem zadržavanja. Nekim istraživanjima je utvrđeno kako se alkoholi najbolje zadržavaju u sustavu s ugljikohidratima, a zatim ketoni, aldehidi te su u konačnici esteri s

najmanjim stupnjem zadržavanja (Goubet i sur., 1998). Ponekad je cilj prehrambenog sektora ukloniti neke spojeve iz konačnog proizvoda jer mogu uzrokovati nepoželjne okuse. Jedan od takvih problema se može pojaviti tijekom konzerviranja soka od lubenice termičkom obradom. Slično se može tvrditi i za aroniju i njene proizvode. Aroma aronije kojoj doprinose i hlapljive komponente ograničava prihvatljivost aronije među potrošačima. Ovakav način inkapsulacije hlapljivih komponenti soka aronije bi utjecao na poboljšanje prihvatljivosti proizvoda odnosno prehrambenih dodataka na bazi aronije. Yang i sur. (2020) su u svom istraživanju pokušali ukloniti neželjene spojevi okusa soka od lubenice korištenjem β -ciklodekstrina, ksantana, šećera/kiseline i karboksimetil celuloze. Rezultatima je utvrđeno kako je najbolji učinak na poboljšanje senzorske kvalitete soka od lubenice imao β -ciklodekstrin učinkovitim smanjenjem 1-oktanola (22,81 %), (E)-2-oktanola (36,43 %), dekanala (50,82 %) i (E)-2-dekenala (28,19 %). FTIR analizom je utvrđeno stvaranje nekovalentnih veza (vodikovih veza) između β -ciklodekstrina i (E)-2-dekenal ili 1-oktanola. Interakcije između hlapljivih komponenti i guma se odvijaju preko vodikovih veza, a primjena guma u prehrambenim proizvodima je vrlo česta u svrhu stabilizacije arome proizvoda. Utvrđeno je kako dodatak karboksimetil celuloze ili guar gume smanjuje hlapljivost vrlo hlapljivih nepolarnih spojeva kao što su α -pinen, 1,8-cineol, etil-2-metilbutirat dok na manje hlapljive komponente kao što su 2-metoksi-3-metilpirazin, vanilin, metil antranilat i maltol nije bilo utjecaja (Preininger, 2005). Osim toga, guar guma i karboksimetil celuloza smanjili su otpuštanje heksanala, limonena, heksanona, stirena, dimetil sulfida, etilbenzena i etilsulfida u modelnim otopinama (Jouquand i sur., 2008). Pozitivan utjecaj veće količine gume arabike u kombinaciji s maltodekstrinom na bolje zadržavanje komponenti utvrdio je Reineccius (1991) tijekom inkapsulacije etil butirata, narančinog ulja, etil propionata, benzaldehida i cinamaldehida. Istraživanjima je utvrđeno kako se vodikove veze stvaraju između OH skupine okten-3-ola i kisika iz karbonilne skupine na ksantanu. Ksantan je pokazao svojstvo inhibicije otpuštanja hlapljivih komponenti, ali s različitim preferencijama među komponentama u ovisnosti o hidrofobnosti (različite log P vrijednosti). Terpeni (D-limonen i α -pinen) su bili dobro zadržani u sustavu s ksantanom (Yang i sur., 2016). U ovom istraživanju najbolje zadržavanje terpena tijekom skladištenja bilo je kod kompleksa s 3 % citrus vlakna/guara (96 %), dok je kod kompleksa s citrus vlaknom/ksantanom zadržavanje terpena bilo od 35 % do 50 %. Utjecaj različite količine celuloze

(2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 %) i različitog vremena kompleksiranja (15 i 60 min) na vezanje hlapljivih spojeva maline ispitivano je u istraživanju Vukoja i sur. (2020). Iz dobivenih rezultata utvrđeno je kako nije postojao trend u vezanju hlapljivih komponenti. Različite komponente ili skupine komponenti su imali različiti afinitet vezanja u ovisnosti o količini celuloze i vremenu kompleksiranja. Slično je utvrđeno u ovom istraživanju gdje je količina vlakna različito utjecala na vezanje pojedinih skupina hlapljivih komponenti.

Aromatski profil kompleksa

Nosači imaju različitu sposobnost vezanja hlapljivih komponenti tijekom procesa sušenja odnosno inkapsulacije pa tako mogu utjecati i na aromatski profil finalnog proizvoda mijenjajući zadržavanje i udjele hlapljivih komponenti. Na **Slikama 37-39** prikazan je aromatski profil bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije nakon pripreme i skladištenja. Hlapljive komponente podijeljene su u šest specifičnih grupa na temelju osnovne aromatske note kojom doprinose ukupnoj aromi: zelena nota, citrusna nota, masna nota, voćna nota, cvjetna nota i menta. U sedmu grupu (ostalo) uključene su aromatske note koje su rjeđe bile prisutne u kompleksima kao što je drvenast miris (α -terpineol) i slab miris (4-propilbenzaldehyd). Sve ove aromatske note čine cjelokupni aromatski profil bioaktivnih dodataka hrani. Na **Slici 37** prikazan je aromatski profil kompleksa citrus vlakna sa sokom aronije nakon pripreme i skladištenja. Citrusne note (2-etilheksan-1-ol, nonanal, D-limonen, linalool) bile su prisutne u najvećim udjelu u kompleksima (42 – 80 %). Tijekom skladištenja došlo je do smanjenja udjela citrusnih nota u kompleksima. Zelene note (3-heksen-1-ol, heks-1-ol, oktan-1-ol, heksanal, 2-nonenal) činile su 3 – 25 % ukupnog aromatskog profila s utvrđenim porastom kod skladištenih kompleksa s 1 % i 3 % citrus vlakna. Masne note (nonan-1-ol, 2-oktenal, 2,4-nonadienal, 2-dekanal) bile su prisutne u kompleksima u rasponu od 4 % do 12 %. Tijekom skladištenja kompleksa došlo je do povećanja udjela masne. Voćne note (benzaldehyd, α -ionon, β -ionon) u kompleksima s citrus vlaknima bile su prisutne u rasponu od 0,8 % do 11,5 %. Cvjetne note (dekanal, geranil aceton) činile su 4 – 11 % ukupnog aromatskog profila dok je aromatska nota mente (mentol, karvon) u cjelokupnom aromatskom profilu kompleksa bila oko 1 – 7 %. Aromatski profil bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakna/ksantana sa sokom aronije nakon pripreme i skladištenja prikazan je na **Slici 38**. Najveći udio ukupnog aromatskog profila

činile su citrusne note (41,5 – 73 %). Najveći udio ovih nota bio je u kompleksu s 3 % citrus vlakna/ksantana dok je skladištenjem došlo do smanjenja udjela ovih nota u svim kompleksima. Zelene note činile su 8 – 20 % ukupnog aromatskog profila. Tijekom skladištenja došlo je do povećanja udjela masnih nota u kompleksima za oko 15 %. Blago povećanje uočeno je i kod voćnih i cvjetnih nota. Na **Slici 39** prikazan je aromatski profil bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakna/guara sa sokom aronije nakon pripreme i skladištenja. Kao i kod prethodno opisanih rezultata, citrusne note činile su najveći udio ukupnog aromatskog profila (42 – 50 %) s utvrđenim smanjenjem udjela nakon skladištenja (31 – 38 %). Udio zelenih i masnih nota kod skladištenih kompleksa s citrus vlakno/guarom povećao se za oko 5 % do 10 %. Udio cvjetne note i aromatske note mente nakon skladištenja kompleksa se smanjio. U usporedbi sa aromatskim profilom soka aronije i vlakana (**Slika 28**) utvrđeno je kako su u kompleksima dominirale citrusne note koje su najviše bile zastupljene u vlaknima dok je u soku prevladavala zelena nota čiji je udio u kompleksima bio dosta niži od citrusnih nota.

Grupiranje uzoraka prema sličnosti aromatskog profila

Rezultati grupiranja uzoraka po sličnosti aromatskog profila dobivenih klaster analizom prikazani su na **Slici 40**. Kod kompleksa na bazi citrus vlakana (**Slika 40a**) utvrđena su dva klastera te su najveću sličnost imali kompleksi s 1 % i 3 % citrus vlakna te skladišteni kompleksi s 1 % i 3 % citrus vlakna. **Slika 40b** prikazuje sličnost kompleksa na bazi citrus vlakna/ksantana. U ovom slučaju također su prisutna dva klastera na dendrogramu, ali s nešto drugačijim trendom. U prvom klasteru grupiran je kompleks s 1 % citrus vlakna/ksantana i citrus vlakno/ksantan. Drugi klaster čine skladišteni kompleksi s 1 % i 3 % citrus vlakna/ksantana. Dendrogram prikazan na **Slici 40c** pokazuje grupiranje uzoraka na bazi citrus vlakna/guara u dva klastera. Najbliži su bili skladišteni kompleksi s 2 % i 3 % citrus vlakna/guara te kompleksi s 1 % i 3 % citrus vlakna/guara. Općenito se može utvrditi iz svih dendrograma da su kompleksi bili sličniji međusobno nego s vlaknom osim za komplekse s citrus vlaknom/ksantanom. Najveće razlike su utvrđene između aromatskog profila soka aronije i kompleksa.

5.2.5. Parametri boje kompleksa

Parametri boje (L^* , a^* , b^* , ΔE , ΔE^1 , $^{\circ}h$, C^*) bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije prikazani su u **Tablici 28**. Svjetlina kompleksa (L^*) bila je u rasponu od 38,29 do 44,74. Najsvjetliji kompleksi bili su oni sa 3 % vlakna (3 % citrus vlakno/ksantan > 3 % citrus vlakno > 3 % citrus vlakno/guar) dok su najtamniji bili s 1 % vlakna (1 % citrus vlakno > 1 % citrus vlakno/guar = 1 % citrus vlakno/ksantan). Pozitivne vrijednosti parametra a^* ukazuju na crvenu boju kompleksa u rasponu vrijednosti od 14,69 do 18,99. Kompleksi s 1 % vlakna imali su najniže vrijednosti parametra a^* što nije u korelaciji s sadržajem antocijanina koji daju crvenu boju kompleksima. Razlog tome bi mogao biti bolja inkapsulacija antocijanina u unutrašnjost vlakana (Syamaladevi i sur., 2012). Pozitivne vrijednosti parametra b^* upućuju na prisutnost žute boje u uzorcima (4,06 - 5,35) koja potječe s vlakna pa tako uzorci pripremljeni s 3 % vlakna imaju najveće vrijednosti parametra b^* . Pomoću parametara boje L^* , a^* i b^* izračunata je promjena boje između soka aronije i kompleksa (ΔE) te promjena boje između vlakana i kompleksa (ΔE^1). Promjena boje u oba slučaja bila je veća od 6 što znači da su očigledna odstupanja boje kompleksa od soka aronije i vlakana. Vrijednost ΔE bila je u rasponu od 23,39 do 32,28. Najveću promjenu boje u usporedbi sa sokom aronije imao je kompleks s 3 % citrus vlakna/ksantana, a najmanju kompleks s 1 % citrus vlakna. Vrijednost ΔE^1 bila je u rasponu od 43,38 do 51,18. Najveću promjenu boje u usporedbi s vlaknom imao je kompleksa s 1 % citrus vlakna/ksantana, a najmanju kompleks s 3 % citrus vlakna/guara. Ton boje ($^{\circ}h$) bio je u rasponu od 15,44 do 16,30, a zasićenje boje (C^*) od 15,24 do 19,73. Parametri boje skladištenih bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije prikazani su u **Tablici 29**. Svjetlina kompleksa bila je u rasponu od 38,46 do 45,32. Vrijednosti parametara a^* bili su u rasponu od 15,18 do 19,14, a parametra b^* od 4,98 do 6,01. Promjena boje između kompleksa nakon pripreme i skladištenih kompleksa (ΔE) bila je u rasponu od 0,80 do 1,39. Prema vrijednostima ΔE kod kompleksa s 1 % citrus vlakna te 1 % i 2 % citrus vlakna/ksantana, razlika boje se vidjela dok se kod ostalih kompleksa razlika boje primjećuje. Ton boje skladištenih kompleksa bio je u rasponu od 16,98 do 18,67, a zasićenje boje od 15,97 do 20,01.

Antocijanini soka aronije su odgovorni za crvenu boju kompleksa. Ovi pigmenti su osjetljivi na

različite čimbenike okoline te prehrambena industrija pokušava pronaći načine za njihovo očuvanje. Liofilizacija je proces koji se pokazao učinkovitim metodom sušenja za očuvanje antocijanina te produženje njihove stabilnosti. U istraživanju koje su proveli Syamaladevi i sur. (2012) inkapsulirane su crvene maline s gumom arabikom. Uzorci s višim sadržajem antocijanina bili su svjetliji i sa nižim intenzitetom crvene boje. Autori su pretpostavili da bi niži intenzitet crvene boje mogao biti zbog bolje inkapsulacije antocijanina te je „maskirana“ površinska boja uzoraka. Slično je utvrđeno i kod inkapsulacije antocijanina aronije s guar gumom, gumom arabikom, pektinom, β -glukanom i inulinom. Uzorak s najnižom vrijednosti parametra a^* (uzorak s guar gumom) imao je najveću efikasnost inkapsulacije (Pieczykolan i Kurek, 2019).

5.2.6. FTIR analiza

IR spektri kompleksa i vlakana

Infracrvena spektroskopija je brza, nedestruktivna i pristupačna tehnika koja se učestalo koristi u analizi strukture polisaharida. Uglavnom se koristi za identifikaciju tipa polisaharida, supstitucijskih grupa te konfiguracije anomernog ugljika. U ovom istraživanju, FTIR analiza se koristila za analizu funkcionalnih grupa prisutnih u vlaknima i kompleksima odnosno kako bi se potvrdilo vezanje aktivnih spojeva iz soka aronije na vlakna. Na **Slikama 41-43** prikazani su IR spektri vlakana i kompleksa te je na svakoj slici prikazan samo jedan IR spektar od kompleksa s različitim postotcima vlakna jer su promjene bile iste. Kada se radi o polisaharidima, IR spektar može se podijeliti u pet regija: 1. regija $4000 - 2500 \text{ cm}^{-1}$, 2. regija $1800 - 1500 \text{ cm}^{-1}$, 3. regija $1500 - 1200 \text{ cm}^{-1}$, 4. regija $1200 - 800 \text{ cm}^{-1}$ i 5. regija ispod 800 cm^{-1} (Hong i sur., 2021). Uvidom u IR spektre može se utvrditi kako je najmanji intenzitet apsorbancije bio kod vlakana dok su kompleksi vlakna sa sokom aronije imali najveći intenzitet apsorbancije. Skladištenjem je došlo do smanjenja intenziteta u odnosu na komplekse prije skladištenja. Svi uzorci su imali široku vrpca na oko 3300 cm^{-1} koja odgovara vibracijskom istezanju O-H veza, te vrpce na $3000 - 2800 \text{ cm}^{-1}$ koje mogu biti pripisane simetričnom i asimetričnom vibracijskom istezanju C-H (moguća prisutnost CH_2 skupina) (Aburto i sur., 2015). Vrpca na 2856 cm^{-1} (vibracijsko istezanje C-H veza) u kompleksima je puno slabijeg intenziteta u odnosu na vlakna. Vrpce u regiji od 1800 cm^{-1} do 1500 cm^{-1} mogu se pripisati vibracijskom istezanju dvostrukih veza (Hong i sur., 2021). Vrpca na 1735 cm^{-1} na vlaknima (citrus

vlakno, citrus vlakno/ksantan i citrus vlakno/guar) upućuje na prisutnost vibracijskog istezanja C=O veze alkilnih estera polisaharida kao što su pektin i hemiceluloza. U kompleksima je ta vrpca pomjerena na 1725 cm^{-1} . Vrpca na 1604 cm^{-1} može se pripisati nesimetričnom istezanju COO⁻ povezanim s poligalakturonskom kiselinom i karboksilnim esterima pektina (Bichara i sur., 2016). Na vlaknima se može uočiti slaba vrpca na 1520 cm^{-1} s ramenom odgovorna za vibracijsko istezanje C=C veza dok se kod kompleksa vidi jasno definirana i naglašena vrpca na tom valnom broju. Regija od 1500 cm^{-1} do 1200 cm^{-1} uključuje vibracije skupina kao što su CH₂ i brojnih C-OH deformacija kod ugljikohidrata. U ovoj regiji se nalazi jako puno vrpce s različitim vibracijama koje se preklapaju te je njihovo tumačenje zahtjevno (Hong i sur., 2021). Vrpce u području od 1400 cm^{-1} do 1300 cm^{-1} upućuju na simetrično istezanje CH₂ u celulozi (Movasaghi i sur., 2008). Vrpca na 1317 cm^{-1} bila je prisutna na vlaknima dok na kompleksima nije bilo vrpce na tom valnom broju. Vrpca na 1225 cm^{-1} upućuje na istezanje C-O veze, a na kompleksima je ta vrpca pomjerena na 1337 cm^{-1} . Regija od 1200 cm^{-1} do 800 cm^{-1} općenito se može nazvati „otisak prsta“ (*eng. fingerprint*) regijom. Nove vrpce koje se pojavljuju u regiji od 1175 cm^{-1} do 1140 cm^{-1} smatra se da pripadaju glikozidnim vezama kod polisaharida, jer kod monosaharida nisu uočene (Hong i sur., 2021). Vrpce u regiji od 1050 cm^{-1} do 1000 cm^{-1} (na vlaknu i kompleksima prisutna vrpca na 1010 cm^{-1}) odnose se na vibracijsko istezanje C-OH skupina i vibraciju C-O-C glikozidnih veza. Vrpce u regiji od 900 cm^{-1} do 600 cm^{-1} mogu se pripisati vibracijskim istezanjima C-H veza izvan ravnine (Movasaghi i sur., 2008). Može se utvrditi stvaranje nove vrpce na kompleksima na 890 cm^{-1} s ramenom na 867 cm^{-1} .

Promjena intenziteta IR spektra nakon vezanja bioaktivnih spojeva iz soka aronije je u suglasnosti s porastom intenziteta IR spektra kod inkapsulacije kvercetina s citrus vlaknima u usporedbi s citrus vlaknom bez kvercetina (Buljeta i sur., 2022c). Čujić Nikolić i sur. (2018) inkapsulirali su polifenole aronije s gumom arabikom procesom sušenja raspršivanja. Analizom IR spektra nisu uočene nove veze između nosača i polifenola što upućuje na to da su polifenoli inkorporirani u matriks nosača intermolekularnim vezama. Kompleksiranjem celuloze sa galnom kiselinom ili kafeinskom kiselinom te metodom liofilizacije dobiveni su bioaktivni kompleksi čija je struktura ispitana FTIR analizom (Kopjar i sur., 2023). Utvrđen je porast intenziteta IR spektra u kompleksima u odnosu na celulozu. Veći porast intenziteta imao je kompleks s kafeinskom kiselinom i celulozom, što je u suglasnosti s većom koncentracijom kafeinske kiseline u kompleksu u odnosu na galnu

kiseline. Ovi rezultati bi mogli pojasniti niži intenzitet skladištenih kompleksa u ovom istraživanju u odnosu na komplekse prije skladištenja (skladišteni kompleksi imali su niži sadržaj polifenola).

Parametri indeksa ukupnog kristaliteta (TCI), indeksa bočnog poretka (LOI) i intenziteta vodikove veze (HBI) za vlakna i komplekse

U **Tablici 30** prikazani su parametri indeksa ukupnog kristaliteta (TCI), indeksa bočnog poretka (LOI) i intenziteta vodikove veze (HBI) za vlakna i komplekse. Indeks kristaliteta je parametar koji se koristi za kvantifikaciju omjera kristalnih regija u celuloznim materijalima. Infracrvena spektroskopija je jedna od tehnika koja se koristi za određivanje tog parametra. Tri pojma se koriste za opisivanje tog parametra, a to su LOI, TCI i HBI. LOI se još naziva i empirijski indeks kristaliteta. Relativne količine kristalnih područja u odnosu na amorfne dijelove u celulozi se pokazuju ovim omjerom. HBI je povezan s kristalnim sustavom i stupnjem inermolekularne uređenosti odnosno kristaliteta i količini vezane vode (Hong i sur., 2021). TCI za citrus vlakno bio je 1,64 dok je za komplekse na bazi citrus vlakna sa sokom aronije bio niži i to u rasponu od 1,40 do 1,47 (s povećanjem količine vlakna povećavao se i TCI). Isto je utvrđeno i za komplekse s citrus vlaknom/ksantanom gdje su vrijednosti bile manje (1,29 – 1,34) u odnosu na citrus vlakno/ksantan (1,51). TCI za citrus vlakno/guar bio je 1,39, a za komplekse na bazi citrus vlakna/guara sa sokom aronije u rasponu od 1,31 do 1,34. Skladišteni kompleksi su imali nešto niže vrijednosti TCI u odnosu na komplekse prije skladištenja. LOI vrijednost kompleksa se povećavala u odnosu na vlakno. HBI vrijednosti kompleksa su se također povećavale u odnosu na vlakno. HBI vrijednost citrus vlakna i citrus vlakna/ksantana bila je 0,91 dok je za komplekse na bazi citrus vlakna bila 1,06 – 1,14, a za komplekse na bazi citrus vlakna/ksantana bila 1,11 – 1,20. Za citrus vlakno/guar HBI je bio 0,90, a za komplekse na bazi citrus vlakna/guara 1,08 – 1,11. Kod skladištenih kompleksa u nekim slučajevima je došlo do porasta HBI vrijednosti (kompleksi s citrus vlaknom/gurom). HBI je bio veći za komplekse koji su imali veći sadržaj polifenola. Ovaj porast bi se mogao povezati sa formiranjem vodikovih veza (Cichosz i Masek, 2020). Također, ove vodikove veze mogu biti posljedica interakcija među molekulama celuloze. S obzirom da se parametar TCI smanjio vezanjem polifenola, interakcije celuloza-celuloza mogu biti isključene što dokazuje vezanje polifenola soka aronije na vlakna vodikovim vezama. U istraživanju Kopjar i sur. (2023) stvaranje vodikovih veza između celuloze i fenolnih kiselina (galna i kafeinska kiselina) je potvrđeno

porastom HBI i smanjenjem TCI parametra nakon vezanja polifenola na celulozu.

5.3. BIOAKTIVNI DODATCI HRANI NA BAZI CITRUS VLAKANA, CITRUS VLAKANA/KSANTANA I CITRUS VLAKANA/GUARA SA SOKOM ARONIJE I DISAHARIDIMA

5.3.1. Sadržaj polifenola u kompleksima

Sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u kompleksima određenih spektrofotometrijskim metodama

U **Tablici 31** prikazan je sadržaj ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina u kompleksima na bazi citrus vlakna, citrus vlakna/ksantana i citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima. Sadržaj ukupnih polifenola u kompleksima bio je u rasponu od 56,72 mg/g do 67,56 mg/g. Najveći sadržaj ukupnih polifenola bio je u kompleksima s citrus vlaknom, citrus vlaknom/guarom i citrus vlaknom sa saharozom. Najmanji sadržaj polifenola imao je kompleks s citrus vlaknom/ksantanom i saharozom. Disaharidi nisu utjecali na vezanje polifenola ili su negativno utjecali na vezanje ukupnih polifenola. Sadržaj antocijanina (1,61 – 1,93 mg/g) bio je najveći u kompleksu s citrus vlaknom bez disaharida. Dodatak saharoze i trehaloze u komplekse s citrus vlaknom i citrus vlaknom/ksantanom uzrokovao je smanjenje sadržaja antocijanina ili nije bilo statistički značajne promjene. Kod kompleksa s citrus vlaknom/guarom dodatak disaharida poboljšao je vezanje antocijanina, ali bez razlike između saharoze i trehaloze. Proantocijanidini su u kompleksima bili prisutni u rasponu od 7,24 mg/g do 10,64 mg/g. Trend vezanja proantocijanidina bio je isti kao i za antocijanine. U kompleksima s citrus vlaknima sadržaj proantocijanidina bio je veći nego u kompleksima s citrus vlaknom/ksantanom i citrus vlaknom/guarom. Sadržaj ukupnih polifenola nakon skladištenja kompleksa (**Tablica 32**) bio je u rasponu od 56,91 mg/g do 71,39 mg/g te je zadržan isti trend kao i prije skladištenja. Sadržaj antocijanina bio je u rasponu od 1,55 mg/g do 1,88 mg/g dok je sadržaj proantocijanidina bio u rasponu od 7,66 mg/g do 10,95 mg/g. U **Tablici 33** prikazano je zadržavanje polifenola nakon skladištenja. Iz rezultata se može utvrditi kako su antocijanini u potpunosti zadržani u kompleksu s citrus vlaknom/guarom dok je najveća

degradacija antocijanina bila u kompleksu s citrus vlaknom/guarom i saharozom (13 %). Potpuno zadržavanje proantocijanidina utvrđeno je kod kompleksa s citrus vlaknom i citrus vlaknom/ksantanom i saharozom. Najveća degradacija proantocijanidina bila je kod kompleksa s citrus vlaknom saharozom i citrus vlaknom/ksantanom.

Utjecaj disaharida na vezanje polifenola je ispitan u nekoliko istraživanja (Lončarić i sur., 2016; Kopjar i sur., 2017; Kopjar i sur., 2022; Ćorković i sur., 2023). Procesom liofilizacije pripremljene su mikročestice na bazi polifenola soka kupine i vlakana jabuke te s dodatkom saharoze i trehaloze. Sadržaj ukupnih polifenola je bio manji kada su disaharidi bili prisutni u sustavu bez razlike između prisutnosti saharoze ili trehaloze u mikročesticama (Kopjar i sur., 2022). Isto je utvrđeno i u ovom istraživanju kod kompleksa na bazi citrus vlakna/guara. Isti autori su nešto drugačiji trend utvrdili kod sadržaja proantocijanidina, gdje je trehaloza imala bolji učinak od saharoze na sadržaj proantocijanidina, iako su veće koncentracije proantocijanidina bile u mikročesticama bez disaharida. Slično se može utvrditi i za rezultate ovog istraživanja gdje je trehaloza imala bolji učinak na vezanje proantocijanidina u odnosu na saharozu kod kompleksa s citrus vlaknom/ksantanom i citrus vlaknom/guarom. Ćorković i sur. (2023) ispitali su utjecaj dodataka saharoze i trehaloze na sadržaj polifenola u hidrogelovima na bazi soka aronije i karboksimetil celuloze. Dodatak disaharida negativno je utjecao na sadržaj ukupnih polifenola i antocijanina. Uspoređujući hidrogelove sa disaharidima utvrđen je pozitivniji utjecaj trehaloze na ukupne polifenole i antocijanine u uzorcima s 30 % i 40 % disaharida, dok je u uzorcima s 50 % disaharida dodatak saharoze imao pozitivniji utjecaj. Nadalje, sadržaj ukupnih polifenola u ekstraktu višnje bio je veći kada je 10 % saharoze ili trehaloze bilo dodano u ispitivani sustav. Dodatak ovih disaharida u količini od 5 % nije utjecao na sadržaj polifenola (Kopjar i sur., 2017). U ovom istraživanju dodatak saharoze u količini od 2 % nije utjecao na sadržaj ukupnih polifenola kod kompleksa s citrus vlaknom. Skladištenjem ekstrakata višnje utvrdio se pozitivan utjecaj trehaloze na sadržaj ukupnih polifenola u odnosu na djelovanje saharoze (Kopjar i sur., 2017). U ovom istraživanju kod skladištenih kompleksa saharoza je rezultirala pozitivnim utjecajem na sadržaj ukupnih polifenola kod kompleksa s citrus vlaknom/ksantanom dok je pozitivan utjecaj trehaloze utvrđen kod kompleksa s citrus vlaknom/guarom.

Sadržaj individualnih polifenola u kompleksima određenih HPLC metodom

Sadržaj pojedinačnih polifenola u kompleksima određen je HPLC analizom te su rezultati prikazani u **Tablici 34**. Identificirano je i kvantificirano osam polifenola u kompleksima iz skupina antocijanina, fenolnih kiselina, flavonola i flavanona. Iz skupine antocijanina bila su prisutna tri spoja (cijanidin-3-galaktozid, cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3-arabinozid) koja su prethodno pronađena u soku aronije. Cijanidin-3-galaktozid bio je prisutan u koncentracijama od 25,74 mg/100 g do 27,99 mg/100 g dok su cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3-galaktozid bili prisutni u nižim koncentracijama (8,22 – 14,72 mg/100 g i 9,19 – 10,70 mg/100 g). Najveću koncentraciju cijanidin-3-galaktozida imao je kompleks s citrus vlaknom bez dodatka disaharida. Najmanja koncentracija cijanidin-3-galaktozida bila je u kompleksu s citrus vlaknom/ksantanom i trehalozom te citrus vlaknom/guarom i saharozom. Kompleksi s citrus vlaknom/guarom i citrus vlaknom/guarom i trehalozom imali su najveću koncentraciju cijanidin-3-glukozida. Koncentracije cijanidin-3-arabinozida bile su jednake u većini kompleksa. Nešto niže koncentracije bile su u kompleksima s citrus vlaknom/ksantanom i disaharidima te citrus vlaknom/guarom i saharozom. Iz skupine fenolnih kiselina u kompleksima su bile prisutne neoklorogenska kiselina, klorogenska kiselina i derivat klorogenske kiseline. Neoklorogenska i klorogenska kiselina prethodno su identificirane u soku aronije dok je derivat klorogenske kiseline bio prisutan samo u kompleksima. Prisustvo ovog derivata kako je već spomenuto moglo bi biti zbog degradacije neoklorogenske i/ili klorogenske kiseline (Zhu i sur., 2016). Od svih fenolnih kiselina, klorogenska kiselina bila je prisutna u najvećim koncentracijama u kompleksima (110,98 – 132,34 mg/100 g). Dodatak disaharida negativno je utjecao na vezanje fenolnih kiselina te je najveća koncentracija fenolnih kiselina bila u kompleksu s citrus vlaknom/ksantanom bez disaharida. Iz skupine flavonola u kompleksima je detektiran kvercetin-3-galaktozid dok kvercetin-3-rutinozid nije pronađen iako je bio prisutan u soku aronije. Koncentracije kvercetin-3-galaktozida bile su u rasponu od 24,08 mg/100 g do 29,88 mg/100 g. Najveće koncentracije bile su u kompleksu s citrus vlaknom/guarom dok je dodatak disaharida negativno utjecao na vezanje ovog spoja. U kompleksima je također identificiran hesperidin, spoj koji pripada grupi flavanona, a prethodno je identificiran na vlaknima koja su se koristila za pripremu kompleksa. Koncentracije hesperidina bile su u rasponu od 731,83 mg/100 g do 1297,25 mg/100 g. Veće koncentracije bile su u kompleksima s citrus

vlaknom/guarom nego u kompleksima s citrus vlaknom i citrus vlaknom/ksantanom. Kompleks s citrus vlaknom/guarom i trehalozom imao je najveću koncentraciju hesperidina. Sadržaj pojedinačnih polifenola u skladištenim kompleksima prikazan je u **Tablici 35** dok je u **Tablici 36** prikazan postotak zadržavanja polifenola nakon skladištenja. Skladištenjem kompleksa došlo je do smanjenja sadržaja ukupnih antocijanina (28,91 – 49,29 mg/100 g). Smanjenje koncentracija cijanidin-3-glukozida i cijanidin-3-arabinozida u skladištenim kompleksima bilo je izraženije od smanjenja koncentracije cijanidin-3-galaktozida. Najveća degradacija ukupnih antocijanina utvrđena je u kompleksu s citrus vlaknom/guarom i saharozom (37,5 %). Kompleksi s disaharidima u usporedbi s kompleksima bez disaharida imali su manje zadržavanje antocijanina osim kod kompleksa s citrus vlaknom/ksantanom i trehalozom (78,5 %) gdje je zadržavanje bilo veće u usporedbi s kontrolnim uzorkom (75,5 %). Kod svih kompleksa saharoza je imala negativniji utjecaj na zadržavanje antocijanina u odnosu na trehalozu. Neoklorogenska kiselina u skladištenim kompleksima bila je u rasponu od 59,42 mg/100 g do 109,42 mg/100 g. Degradacija neoklorogenske kiseline bila je visoka (oko 40 – 50 %), a najveća je bila u kompleksu s citrus vlaknom i trehalozom dok je najmanja bila u kompleksu s citrus vlaknom/guarom. Sadržaj klorogenske kiseline u skladištenim kompleksima bio je u rasponu od 55,42 mg/100 g do 109,42 mg/100 g. Najbolje zadržavanje klorogenske kiseline bilo je u kompleksu s citrus vlaknom/guarom i trehalozom (87 %) dok je najveća degradacija bila u kompleksu s citrus vlaknom/guarom i saharozom (20 %). Sadržaj derivata klorogenske kiseline bio je u rasponu od 54,38 mg/100 g do 71,73 mg/100 g s najvećim zadržavanjem u kompleksu s citrus vlaknom bez disaharida (87 %), a najmanjem zadržavanju u kompleksu s citrus vlaknom/guarom i saharozom (74 %). Koncentracije kvercetin-3-galaktozida su se malo povećale nakon skladištenja te su bile u rasponu od 24,73 mg/100 g do 32,51 mg/100 g. Hesperidin (660,85 – 1141,96 mg/100 g) je u najvećoj količini zadržan u kompleksu s citrus vlaknom/ksantanom i saharozom (92 %) dok je najmanje zadržan u kompleksu s citrus vlaknom i trehalozom.

Interakcije između polifenola i stanične stijenke biljaka, koja je uglavnom izgrađena od pektina, celuloze i hemiceluloze, ovise o kemijskim svojstvima polifenola i fizikalnim svojstvima polisaharida (Phan i sur., 2015). Pretpostavlja se kako se vezanje polifenola na celulozu odvija kroz adsorpciju polifenola na mjesta za vezanje na površini celuloze preko hidroksilnih skupina, a onda

se odvija nekovalentno vezanje preko vodikovih veza i hidrofobnih interakcija (Liu i sur., 2017). Ovaj mehanizam bi se također mogao pretpostaviti za vezanje polifenola soka aronije na vlakna i na vlakna i disaharide. Broj i fleksibilnost aromatskih prstena je važan čimbenik za nekovalentno vezanje. Također, spojevi s većom molekulskom masom u većoj se mjeri vežu za nosače. U ovom istraživanju, u sustavu su bili prisutni različiti spojevi soka aronije (polifenoli, aromatske komponente), citrus vlakna (pektin, celuloza i hemiceluloza), guar ili ksantan te disaharidi koji su imali važan utjecaj na vezanje polifenola na vlakna. S obzirom da je dodatak disaharida negativno utjecao na vezanje polifenola na vlakna, može se pretpostaviti kako su se stvorile interakcije između vlakana i disaharida te da nije bilo dovoljno slobodnih mjesta za vezanje polifenola. Razlike između trehaloze i saharoze na vezanje polifenola utvrđene su u nekim slučajevima što upućuje na utjecaj vrste disaharida i njegovih svojstava na vezanje polifenola kao i vrsti nosača koji se koristi. Postoji nekoliko načina utjecaja disaharida na stabilnost komponenti u nekom sustavu. Trehaloza ima veći afinitet od saharoze za vezanje molekula vode što dovodi do stvaranja homogenijih otopina. Nadalje, disaharidi uzrokuju steričke smetnje i na taj način smanjuju nukleofilne „napade“ vode na nestabilne komponente. Trehaloza je u usporedbi sa saharozom stabilnija na hidrolizu pa nezasićeni spojevi mogu stvarati stabilne intramolekularne komplekse s trehalozom (Olsson i Swenson, 2020). Tijekom smrzavanja i stvaranja kristala leda u vodenim otopinama disaharidi se ponašaju različito. U prisutnosti trehaloze molekule vode su raspoređene u određenu konfiguraciju, čime se izbjegava stvaranje leda i čuvaju biomolekule od oštećenja uslijed smrzavanja i hlađenja (Magazù i sur, 2012). Uspješnost inkapsulacije polifenola na nosače ovisi o vrsti, količini i svojstvima polifenola i nosača kao i prisutnosti drugih komponenti u sustavu. Negativan utjecaj dodatka disaharida na vezanje pojedinačnih polifenola utvrdili su i Kopjar i sur. (2022). Mikročestice s disaharidima imale su niži sadržaj cijanidin-3-glukozida, cijanidin-3-dioksalilglukozida, kvercetina, elaginske kiseline, klorogenske kiseline te derivata klorogenske kiseline u odnosu na mikročestice bez disaharida. Floretin i floridzin nisu pratili taj trend, a prethodno su bili prisutni na vlaknu jabuke. Slično je bilo i u ovom istraživanju za hesperidin koji je pronađen u vlaknima, te na njegove koncentracije u kompleksima dodatak disaharida nije imao isti utjecaj kao na ostale polifenole. Lončarić i sur. (2016) ispitivali su utjecaj trehaloze, saharoze i maltoze na sadržaj polifenola kaše od višnje tijekom liofilizacije. Kontrolni uzorak (bez disaharida)

imao je najveću koncentraciju ukupnih polifenola i flavonoida. Dodatak maltoze (20 %) imao je pozitivan učinak na koncentracije cijanidin-3-glukosil-rutinosida i cijanidin-3-soforozida, dok je dodatak trehaloze utjecao pozitivno na očuvanje cijanidin-3-glukozil-rutinozida. Analizom želea od naranče s i bez dodatka trehaloze, utvrđeno je da je sadržaj polifenola bio veći u uzorcima koji nisu sadržavali trehalozu. Nakon skladištenja uzoraka u trajanju od 135 dana, sadržaj polifenola bio je veći u uzorcima s trehalozom (Kopjar i sur., 2016a). U ovom istraživanju može se utvrditi pozitivan učinak trehaloze na sadržaj ukupnih antocijanina (**Tablica 36**) tijekom skladištenja kompleksa kao i na ukupne fenolne kiseline za komplekse s citrus vlaknom/ksantanom i citrus vlaknom/guarom. Koncentracije cijanidin-3-galaktozida u hidrogelovima pripremljenim s karboksimetil celulozom i sokom aronije te dodatkom disaharida bile su najveće u kompleksu bez disaharida (Ćorković i sur., 2023). Slično je utvrđeno i u ovom istraživanju osim kod kompleksa s citrus vlaknom/guarom gdje je kompleks s trehalozom i bez disaharida imao iste koncentracije cijanidin-3-galaktozida. Iako su koncentracije cijanidin-3-arabinozida u soku aronije bile značajno veće od koncentracije cijanidin-3-glukozida, u kompleksima je u većini slučajeva bila veća koncentracija cijanidin-3-glukozida. Cijanidin-3-galaktozid je i u soku i u kompleksima bio prisutan u najvećim koncentracijama. Bolje vezanje cijanidin-3-galaktozida i cijanidin-3-glukozida moglo bi biti zbog većeg broja hidroksilnih skupina u strukturama u odnosu na cijanidin-3-arabinozid (Liu i sur., 2017).

Grupiranje uzoraka prema sličnosti sadržaja polifenola

Rezultati grupiranja uzoraka po sličnosti sadržaja pojedinačnih polifenola dobivenih klaster analizom prikazani su na **Slici 44**. Kod kompleksa na bazi citrus vlakana s disaharidima (**Slika 44a**) utvrđena su dva klastera. U prvom klasteru grupirani su kompleksi prije skladištenja, a u drugom klasteru skladišteni kompleksi s citrus vlaknom i citrus vlaknom saharozom. **Slika 44b** prikazuje sličnost kompleksa na bazi citrus vlakna/ksantana te su na dendrogramu prisutna dva klastera. Najveća sličnost utvrđena je za komplekse s citrus vlaknom/ksantanom i citrus vlaknom/ksantanom i trehalozom. Drugi klaster su činili skladišteni kompleksi s citrus vlaknom/ksantanom i citrus vlaknom/ksantanom i trehalozom. Dendrogram prikazan na **Slici 44c** pokazuje grupiranje u dva klastera. U prvom klasteru su grupirani kompleksi prije skladištenja, a u drugom klasteru skladišteni kompleksi s trehalozom i saharozom. Iz svih dendrograma može se zaključiti kako su kompleksi sličniji međusobno nego s odgovarajućim vlaknom, a najviše se

razlikuju od soka aronije.

5.3.2. Antioksidacijska aktivnost kompleksa

Antioksidacijska aktivnost kompleksa određena DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodama

Antioksidacijska aktivnost bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije i disaharidima određena je pomoću četiri metode (DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC) te su dobiveni rezultati prikazani u **Tablici 37**. Rezultati antioksidacijske aktivnosti određene DPPH metodom bili su u rasponu od 24,38 mmol/100 g do 28,20 mmol/100 g te se može utvrditi kako je dodatak disaharida utjecao negativno ili nije imao utjecaja na antioksidacijsku aktivnost u usporedbi s odgovarajućim kontrolnim uzorcima. Isti trend je utvrđen i za ostale antioksidacijske metode sa sljedećim rasponom rezultata: 35,82 – 44,43 mmol/100 g (ABTS), 38,39 – 44,11 mmol/100 g (FRAP) i 59,56 – 70,76 mmol/100 g (CUPRAC). Kompleksi s citrus vlaknom/ksantanom i disaharidima imali su najnižu antioksidacijsku aktivnost određenu svim metodama. Antioksidacijska aktivnost skladištenih kompleksa prikazana je u **Tablici 38**. Iz rezultata antioksidacijske aktivnosti određene DPPH metodom (24,09 – 26,29 mmol/100 g) utvrđeno je kako se aktivnost skladištenjem smanjila ili je ostala ista. Najveću aktivnost imao je kompleks s citrus vlaknom i citrus vlaknom/guarom. Dodatkom disaharida aktivnost se smanjila ili je ostala ista kao u kontrolnim uzorcima što je bio trend i kod kompleksa nakon pripreme. Rezultati ABTS metode bili su u rasponu od 36,34 mmol/100 g do 46,23 mmol/100 g. Najveću aktivnost imao je kompleks s citrus vlaknom dok je najmanja aktivnost bila kod kompleksa s citrus vlaknom/guarom i saharozom. Rezultati FRAP metode bili su u rasponu od 35,51 mmol/100 g do 44,54 mg/100 g, a CUPRAC metode od 59,47 mmol/100 g do 73,59 mmol/100 g. Kod obje metode najveću aktivnost imao je kompleks s citrus vlaknom, a najmanju aktivnost kompleksi s citrus vlaknom/ksantanom i disaharidima i citrus vlaknom/guarom i saharozom.

Dodatak disaharida uzrokovao je smanjenje antioksidacijske aktivnosti i u hidrogelovima od karboksimetil celuloze i soka aronije (Ćorković i sur., 2023), mikročesticama od soka kupine i vlakana jabuke (Kopjar i sur., 2022) te kašama od višnje (kod ABTS i FRAP metode) (Lončarić i sur., 2016). Ćorković i sur. (2023) utvrdili su pozitivan utjecaj dodatka trehaloze (30 % i 40 %) u

hidrogelovima na antioksidacijsku aktivnost u odnosu na saharozu. U ovom istraživanju utjecaj trehaloze na antioksidacijsku aktivnost određenu DPPH, FRAP i CUPRAC metodama je bio pozitivniji od utjecaja saharoze kod kompleksa s citrus vlaknom/guarom. Isto je utvrđeno kod kompleksa s citrus vlaknom/ksantanom za antioksidacijsku aktivnost određenu ABTS, FRAP i CUPRAC metodama. Želei od naranče s dodatkom trehaloze pokazali su veću antioksidacijsku aktivnost mjerenu ABTS metodom dok kod antioksidacijske aktivnosti mjerene DPPH metodom nije bilo razlike između želea s trehalozom i bez trehaloze. Skladištenjem se trehaloza pokazala učinkovitom za očuvanje antioksidacijske aktivnosti mjerene s obje metode (Kopjar i sur., 2016a). Kod liofilizirane kaše od višnji, dodatak saharoze, maltoze ili trehaloze (5 %, 10 % ili 20 %) poboljšao je antioksidacijsku aktivnost određenu DPPH metodom u odnosu na uzorak bez disaharida. Rezultatima ABTS i FRAP metode utvrđeno je kako samo dodatak maltoze u količini od 20 % doprinosi većoj antioksidacijskoj aktivnosti dok u svim drugim slučajevima je antioksidacijska aktivnost bila niža u odnosu na uzorak bez disaharida (Lončarić i sur., 2016). Djelovanje saharoze i trehaloze ispitano je na antioksidacijsku aktivnost ekstrakta višnje. Antioksidacijska aktivnost određena DPPH i ABTS metodama bila je veća za uzorke s disaharidima. Skladištenje (65 dana na 4 °C u tamnom) je rezultiralo smanjenjem antioksidacijske aktivnosti, ali su i dalje uzorci s disaharidima imali veću antioksidacijsku aktivnost u odnosu na ekstrakt bez disaharida (Kopjar i sur., 2017). Iz navedenog bi se moglo utvrditi kako djelovanje disaharida ovisi o sustavu u koji se dodaje te prisustvu drugih komponenti kao što su prehrambena vlakna. Provedeno je istraživanje na ispitivanju antioksidacijske aktivnosti modelnih otopina polifenola (katehin, kvercetin i galna kiselina) s ili bez dodatka disaharida (Kopjar i sur., 2016b). Rezultatima ABTS metode utvrđen je pozitivan utjecaj saharoze i trehaloze na antioksidacijsku aktivnost modelne otopine katehin + kvercetin + galna kiselina, modelne otopine kvercetin + galna kiselina, modelne otopine katehin + kvercetin i modelne otopine s katehinom. Dodatak saharoze negativno je utjecao na antioksidacijsku aktivnost modelne otopine katehin + galna kiselina i modelne otopine s kvercetinom dok je dodatak trehaloze negativno utjecao na modelnu otopinu s galnom kiselinom. Rezultati FRAP metode su pokazali drugačiji utjecaj disaharida na antioksidacijsku aktivnost te je samo kod modelne otopine s kvercetinom bila veća aktivnost i kod modelne otopine s galnom kiselinom i dodatkom saharoze. Slično je bilo i s antioksidacijskom aktivnosti određenom DPPH

metodom gdje je dodatak trehaloze poboljšao aktivnost modelne otopine s kvercetinom, a oba disaharida su poboljšala aktivnost modelne otopine s katehinom. Iz ovog istraživanja se vidi različitost utjecaja disaharida na pojedinačne polifenole, ali i na sustave s više polifenolnih komponenti te razlike u metodama korištenim za određivanje antioksidacijske aktivnosti. Slično se može utvrditi i u ovom istraživanju kod antioksidacijske aktivnosti skladištenih kompleksa (**Tablica 38**) kod kompleksa s citrus vlaknom/ksantanom gdje nije bilo statistički značajne razlike u antioksidacijskoj aktivnosti određenoj DPPH metodom između kompleksa s ili bez disaharida dok su druge metode rezultirale drugačijim trendom. Poznato je kako antioksidacijska aktivnost polifenola ovisi o broju i poziciji OH skupina u strukturi. Prisutnost OH skupina na 3'-, 4'- i 5'- poziciji na B prstenu flavonoida povećava antioksidacijsku aktivnost u odnosu na polifenole s jednom hidroksilnom skupinom. ABTS radikal reagira sa svim hidroksiliranim aromatskim komponentama bez obzira na njihov stvarni antioksidacijski potencijal dok DPPH radikal ne reagira s flavonoidima koji nemaju OH skupinu na B prstenu (Roginsky i Lissi, 2005). Iz navedenog se može zaključiti kako je važno koristiti više različitih metoda kako bi se utvrdila antioksidacijska aktivnost nekog sustava.

Koeficijenti korelacije utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost kompleksa

Koeficijenti korelacije (r^2) utjecaja polifenola na antioksidacijsku aktivnost bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije i disaharidima prikazani su **Tablici 39**. Iz rezultata se može utvrditi kako su koeficijenti korelacije između sadržaja proantocijanidina i antioksidacijske aktivnosti određene DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodama bili u rasponu od 0,6651 do 0,9217. Korelacija između sadržaja antocijanina i antioksidacijske aktivnosti bila je znatno niža (0,3711 – 0,6484). Koeficijenti korelacije između ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti bili su u rasponu od 0,8062 do 0,9533. Najveća korelacija je utvrđena za ukupne polifenole i antioksidacijsku aktivnost određenu CUPRAC metodom. Izračunati su i koeficijenti korelacije između polifenola određenih HPLC metodom i antioksidacijske aktivnosti. Ukupni antocijanini određeni HPLC metodom su imali visoku korelaciju s antioksidacijskom aktivnosti (0,8421 – 0,9106). Fenolne kiseline pokazale su negativnu korelaciju s antioksidacijskom aktivnosti dok su flavanoni (hesperidin) imali nisku korelaciju s antioksidacijskom aktivnosti (0,1704 – 0,5567). Flavonoli (kvercetin-3-galaktozid) su imali dobru

korelaciju s antioksidacijskom aktivnosti određenu DPPH i ABTS metodama ($r^2 \approx 0,8$), a za FRAP i CUPRAC metode koeficijent korelacije bio je niži ($r^2 \approx 0,5$). Skladištenjem je došlo do malih promjena u koeficijentima korelacije (**Tablica 40**), ali je trend negativne ili jako niske korelacije fenolnih kiselina i flavanona sa antioksidacijskom aktivnosti ostao isti. Flavonoli su imali još nižu korelaciju s antioksidacijskom aktivnosti nego kod kompleksa prije skladištenja. U istraživanju Ćorković i sur. (2021b) gdje su ispitivani hidrogelovi na bazi karboksimetil celuloze i polifenola višnje utvrđeno je kako nije bilo korelacije između sadržaja flavonola i antioksidacijske aktivnosti mjerene DPPH, ABTS i CUPRAC metodama.

5.3.3. Inhibicija enzima α -amilaze i α -glukozidaze kompleksima

Sposobnost inhibicije enzima α -amilaze i α -glukozidaze bioaktivnim dodacima na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije i disaharidima prikazana je na **Slikama 45-48**. Inhibicija enzima α -amilaze kompleksima bila je u rasponu od 75,14 % do 84,02 % (**Slika 45**) za sadržaj polifenola u reakcijskoj smjesi od 37,98 mg/L do 45,03 mg/L. Najveću inhibicijsku aktivnost imao je kompleks s citrus vlaknom i saharozom, a najnižu kompleks s citrus vlaknom/ksantanom i saharozom. Skladištenjem kompleksa došlo je do promjene u sposobnosti inhibicije enzima α -amilaze te je kompleks s citrus vlaknom bez disaharida imao najveću inhibicijsku aktivnost (84,20 %) (**Slika 46**). Može se utvrditi kako je dodatak disaharida utjecao negativno ili nije bilo utjecaja na sposobnost inhibicije enzima α -amilaze u usporedbi s kontrolnim kompleksom (kompleks bez disaharida). Inhibicija enzima α -glukozidaze kompleksima prikazana je na **Slici 47** i bila je u rasponu od 72,88 % do 88,63 % za sadržaj polifenola u reakcijskoj smjesi od 6,27 mg/L do 7,38 mg/L. Najveću inhibicijsku aktivnost imali su kompleksi s citrus vlaknom/guarom i citrus vlaknom/guarom i trehalozom. Kompleksi s citrus vlaknom/ksantanom i citrus vlaknom/guarom i saharozom statistički nisu bili različiti od kompleksa s citrus vlaknom/guarom i trehalozom. Skladištenjem je došlo do promjene u inhibicijskoj aktivnosti kompleksa (**Slika 48**) te je kompleks s citrus vlaknom/guarom imao najmanju sposobnost inhibicije α -glukozidaze (64,07 %) dok je najveću inhibicijsku aktivnost imao kompleks s citrus vlaknom bez disaharida (90,91 %).

Za regulaciju bioraspoloživosti glukoze i suzbijanje hiperglikemije, inhibicija α -amilaze i α -

glukozidaze, gastrointestinalnih enzima uključenih u probavu ugljikohidrata, je vrlo bitan terapijski pristup. Kompleksi su imali veću inhibicijsku aktivnost α -glukozidaze pri nižim koncentracijama polifenola dok je za inhibiciju α -amilaze u reakcijskoj smjesi bila potrebna mnogo veća koncentracija polifenola. Usporedbom tih rezultata sa sokom aronije mogao se utvrditi isti trend; bolja sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze u odnosu na α -amilazu. Razlog za veću učinkovitost inhibicije enzima α -glukozidaze kompleksima mogao bi biti zbog većeg sadržaja cijanidin-3-galaktozida. Kako je već ranije istaknuto, cijanidin-3-galaktozid ima veću sposobnost inhibicije α -glukozidaze dok cijanidin-3-glukozid ima veću sposobnost inhibicije α -amilaze (Akkarachiyasit i sur., 2010). Kompleksi na bazi pektina s inkapsuliranom galnom kiselinom rezultirali su većom sposobnošću inhibicije enzima α -glukozidaze (oko 45 %) nego α -amilaze (oko 25 %) (Buljeta i sur., 2022d). Slično je utvrđeno u istraživanju Kuzmanović Nedeljković i sur. (2023) gdje su inkapsulirani polifenoli listova borovnice i aronije s pektinom i 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrinom procesom sušenja raspršivanjem pokazali veću sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze nego α -amilaze (u usporedbi s internim standardom akarbozom). Worsztynowicz i sur. (2014) su utvrdili kako neoklorogenska kiselina ima visoku sposobnost inhibicije α -amilaze koja je u ovim kompleksima bila prisutna u značajnim količinama. Interakcije fenolnih kiselina s probavnim enzimima škroba se najčešće odvijaju nekovalentnim vezama. Inhibicija enzima α -amilaze i α -glukozidaze prirodnim inhibitorima je poželjnija od primjene sintetskih inhibitora koji mogu uzrokovati gastrointestinalne probleme. Kompleksi iz ovog istraživanja mogli bi se koristiti kao prirodni inhibitori probavnih enzima za čiju sposobnost inhibicije su odgovorni polifenoli prisutni u kompleksima.

5.3.4. Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima

Sadržaj hlapljivih komponenti u kompleksima određenih GC-MS metodom

Sadržaj hlapljivih komponenti u bioaktivnim dodacima hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije i disaharidima prikazan je u **Tablici 41**. U kompleksima su identificirane i kvantificirane 22 komponente koje su zbog lakše preglednosti podijeljene u pripadajuće skupine alkohola, karbonilnih spojeva i terpena. Iz skupine alkohola u kompleksima je bilo prisutno pet komponenti s izuzetkom oktan-1-ola i nonan-1-ola koji nisu

identificirani u kompleksima s citrus vlaknom. Koncentracija alkohola u kompleksima bila je u rasponu od 15,58 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 48,56 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najveću koncentraciju alkohola imao je kompleks s citrus vlaknom/ksantanom bez disaharida dok su najmanje koncentracije alkohola bile u kompleksima s citrus vlaknom i trehalozom te citrus vlaknom/ksantanom i trehalozom. Najviše komponenti prisutnih u kompleksima bilo je iz skupine karbonilnih spojeva (10 komponenti). Koncentracija karbonilnih spojeva bila je u rasponu od 28,82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 121,07 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najveću koncentraciju karbonilnih spojeva imao je kompleks s citrus vlaknom/guarom i trehalozom dok je najmanju koncentraciju imao kompleks s citrus vlaknom/ksantanom i saharozom. Općenito su kompleksi s citrus vlaknom/guarom imali veći sadržaj karbonilnih spojeva od ostalih kompleksa, a tome je uzrok visoka koncentracija nonala. Terpeni su bili prisutni u najvećim koncentracijama u kompleksima (111,82 – 297,86 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Od sedam prisutnih komponenti, D-limonen je bio prisutan u najvećim koncentracijama (57,12 – 262,30 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Najveću koncentraciju terpena odnosno D-limonena imao je kompleks s citrus vlaknom bez disaharida dok je najmanju koncentraciju imao kompleks s citrus vlaknom/guarom. Sadržaj hlapljivih komponenti u skladištenim kompleksima prikazan je u **Tablici 42**. Koncentracija alkohola u skladištenim kompleksima bila je u rasponu od 5,09 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 31,39 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najveću koncentraciju imao je kompleks s citrus vlaknom/guarom bez disaharida dok je najmanja koncentracija alkohola bila u kompleksu s citrus vlaknom i citrus vlaknom i saharozom. Kod kompleksa s citrus vlaknom/ksantanom i citrus vlaknom/guarom, dodatak disaharida je utjecao na smanjenje vezanja alkohola. Sadržaj karbonilnih spojeva bio je najveći u kompleksu s citrus vlaknom/guarom bez disaharida (110,65 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Dodatak disaharida je utjecao negativno na vezanje karbonilnih spojeva u kompleksima s citrus vlaknom/ksantanom i citrus vlaknom/guarom dok je kod kompleksa s citrus vlaknom poboljšao vezanje karbonilnih spojeva. Skladištenjem je došlo do značajne degradacije D-limonena u kompleksima pa je i sadržaj terpena bio dosta manji u skladištenim kompleksima (44,98 – 132,16 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Najmanju koncentraciju terpena imao je kompleks s citrus vlaknom/guarom i trehalozom koji je ujedno imao i najveću degradaciju D-limonena (60 %). Najveća koncentracija terpena bila je u kompleksu s citrus vlaknom i trehalozom s degradacijom D-limonena od 14 %.

Jako malo istraživanja je provedeno na hlapljivim komponentama prisutnim u aroniji te na njihovoj inkapsulaciji. Zbog toga je ovo istraživanje od visoke vrijednosti jer daje uvid prvenstveno u sadržaj

hlapljivih komponenti soka aronije, a također i njihovo vezanje i zadržavanje u sustavima s prehrambenim vlaknima i disaharidima. U istraživanju Kopjar i sur. (2020) ispitivano je zadržavanje eugenola i linalola u hidrogelovima pripremljenim s guar gumom i ksantanom i dodatkom trehaloze i saharoze. Utvrđeno je da su uzorci (prije i nakon skladištenja) koji su sadržavali ksantan imali manje zadržavanje testiranih komponenti u usporedbi s uzorcima s guar gumom. Jedan od razloga za to može biti „zarobljavanje“ komponenti u hidrofobnoj šupljini ksantana. Također je moguće stvaranje različitog afiniteta prema komponentama tijekom pripreme hidrogelova u sustavu s disaharidima, vodom, guar gumom i ksantanom. Slično je utvrđeno u ovom istraživanju gdje su karbonilni spojevi bili manje vezani u kompleksima (prije i nakon skladištenja) s citrus vlaknom/ksantanom u odnosu na komplekse s citrus vlaknom/gurom. U voćna punila na bazi citrus vlakana i soka kupine dodavani su disaharidi (saharoza, maltoza i trehaloza) kako bi se ispitao njihov utjecaj na sadržaj hlapljivih komponenti i polifenola (Vukoja i sur., 2021b). Dobiveni rezultati su pokazali pozitivan utjecaj dodatka trehaloze na zadržavanje terpena. U ovom istraživanju slično je utvrđeno kod kompleksa na bazi citrus vlakna/guara gdje su dodatak trehaloze i saharoze imali pozitivan utjecaj na vezanje terpena. Kopjar i sur. (2021) utvrdili su pozitivniji utjecaj saharoze u odnosu na trehalozu na hlapljive komponente u gelovima na bazi soka kupine i citrus vlakana. D-limonen je u gelovima bio prisutan u izrazito visokim koncentracijama (363 – 506 µg/kg) s većim koncentracijama u uzorcima sa saharozom. Slično je utvrđeno u ovom istraživanju gdje su također koncentracije D-limonena bile u većim količinama u kompleksima sa saharozom nego u kompleksima s trehalozom. Nasuprot tome, kod skladištenih kompleksa manja degradacija D-limonena je bila kod kompleksa na bazi citrus vlakna i citrus vlakna/ksantana s trehalozom. Iz svega navedenog može se zaključiti kako interakcije između komponenti imaju važnu ulogu za vezanje hlapljivih komponenti u nekom sustavu. Natjecanje između komponenti za mjesta dostupna za vezanje je jedan od značajnih čimbenika vezanja i zadržavanja hlapljivih komponenti.

Aromatski profil kompleksa

Na **Slikama 49-51** prikazan je aromatski profil bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije i disaharidima nakon pripreme i skladištenja. Hlapljive komponente podijeljene su u šest specifičnih grupa na temelju osnovne aromatske note kojom doprinose ukupnoj aromi: zelena nota, citrusna nota, masna nota, voćna

nota, cvjetna nota i menta. U sedmu grupu (ostalo) uključene su aromatske note koje su rjeđe bile prisutne u kompleksima kao što je drvenast miris (α -terpineol) i slab miris (4-propilbenzaldehyd). Sve ove aromatske note čine cjelokupni aromatski profil bioaktivnih dodataka hrani. Na **Slici 49** prikazana je usporedba aromatskih profila kompleksa s citrus vlaknima i disaharidima nakon pripreme i skladištenja. Citrusne note (2-etilheksan-1-ol, nonanal, D-limonen, linalool) činile su najveći udio u aromatskom profilu ovih kompleksa (62 – 80 %). Iz rezultata se može utvrditi kako je skladištenjem došlo do smanjenja udjela citrusnih nota što je u najvećoj mjeri uzrokovano smanjenjem koncentracije D-limonena. Zelene note (3-heksen-1-ol, heks-1-ol, oktan-1-ol, heksanal) činile su 3 – 4 % cjelokupnog aromatskog profila bez značajnih promjena u udjelu nakon skladištenja. Masne note (nonan-1-ol, 2-oktenal, 2,4-nonadienal, 2-dekanal) činile su 4 – 5 % ukupnog aromatskog profila u kompleksima prije skladištenja dok su u skladištenim kompleksima činile 12 – 16 % cjelokupnog aromatskog profila. Udio voćnih nota (benzaldehyd, α -ionon, β -ionon) skladištenjem se povećao s 1 % na oko 7,5 %. Cvjetne note (dekanal, geranil acetone) u kompleksima bile su u rasponu od 4 % do 6,5 % dok je udio aromatske note mente (mentol, karvon) u kompleksima prije skladištenja bio 7 – 16 %, a u skladištenim kompleksima 1,5 %. Na **Slici 50** prikazan je aromatski profil kompleksa na bazi citrus vlakana/ksantana s disaharidima nakon pripreme i skladištenja. Udio citrusnih nota u ukupnom aromatskom profilu bio je u rasponu od 50 % do 65 %. Skladišteni kompleksi su imali manji udio citrusnih nota, zelenih nota i aromatske note mente u usporedbi s kompleksima prije skladištenja. Udio masnih, voćnih i cvjetnih nota u ukupnom aromatskom profilu se povećao skladištenjem kompleksa. **Slika 51** prikazuje aromatski profil kompleksa s citrus vlaknima/guarom i disaharidima nakon pripreme i skladištenja. Udio citrusnih nota bio je najveći (37 – 47,5 %) te se skladištenjem smanjio kao i udio aromatske note mente (2,5 – 17 %). Udio cvjetnih nota i prije i nakon skladištenja bio je oko 7,5 %. Udio zelenih (11,5 – 20 %), masnih (12 – 26 %) i voćnih (1 – 6,5 %) nota u cjelokupnom aromatskom profilu povećao se u skladištenim kompleksima. U usporedbi s aromatskim profilom soka aronije i vlakana (Slika x) može se utvrditi kako je u kompleksima prevladavala citrusna nota kao i kod vlakana dok je zelena nota koja je prevladavala u soku aronije bila zastupljena u nižem udjelu u kompleksima.

Grupiranje uzoraka prema sličnosti aromatskog profila

Na **Slici 52** prikazani su rezultati grupiranja uzoraka po sličnosti aromatskog profila dobivenih

klaster analizom. Na prvom dendrogramu (**Slika 52a**) prikazano je grupiranje uzoraka na bazi citrus vlakana i disaharida te je utvrđeno prisustvo dva klastera. Najsličniji uzorci su bili kompleksi s citrus vlaknom i saharozom i citrus vlaknom i trehalozom prije i nakon skladištenja. Na **Slici 52b** grupirani su kompleksi na bazi citrus vlakana/ksantana i disaharida te je utvrđena ista sličnost kao i na prethodnom dendrogramu. Kod kompleksa na bazi citrus vlakana/guara i disaharida (**Slika 52c**) utvrđena su dva klastera te su najveću sličnost imali kompleksi s citrus vlaknom/guarom i citrus vlaknom/guarom i trehalozom. Drugi klaster je grupirao skladištene komplekse s najvećom sličnošću između kompleksa s trehalozom i saharozom. Najveće razlike su utvrđene između aromatskog profila soka aronije i kompleksa.

5.3.5. Parametri boje kompleksa

Parametri boje (L^* , a^* , b^* , ΔE , ΔE^1 , $^{\circ}h$, C^*) bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije i disaharidima prikazani su u **Tablici 43**. Svjetlina kompleksa (L^*) bila je u rasponu od 42,40 do 43,99. Najsvjetliji kompleksi bili su oni s citrus vlaknom i saharozom te citrus vlaknom/ksantanom i saharozom. Pozitivne vrijednosti parametra a^* ukazuju na crvenu boju kompleksa u rasponu vrijednosti od 17,15 do 19,11. Kompleks s citrus vlaknom/ksantanom i saharozom imao je najveću vrijednost parametra a^* (19,11), ali i parametra b^* (5,57) i C^* (19,91). Kod kompleksa s citrus vlaknima/guarom dodatak disaharida nije imao utjecaj na parametar a^* kao ni na ostale parametre (b^* , $^{\circ}h$, C^*). Kompleks s citrus vlaknom i trehalozom imao je najmanje vrijednosti parametra a^* (17,15), b^* (4,84), $^{\circ}h$ (15,76) i C^* (17,82). Pomoću parametara boje L^* , a^* i b^* izračunata je promjena boje između soka aronije i kompleksa (ΔE) te promjena boje između vlakana i kompleksa (ΔE^1). Promjena boje u oba slučaja bila je veća od 6 što znači da su očigledna odstupanja boje. Vrijednost ΔE bila je u rasponu od 28,23 do 30,76. Najveću promjenu boje u usporedbi sa sokom aronije imao je kompleks s citrus vlaknom/ksantanom i saharozom. Vrijednost ΔE^1 bila je u rasponu od 43,99 do 49,25. Najveću promjenu boje u usporedbi s vlaknom imao je kompleksa s citrus vlaknom/ksantanom bez disaharida. Parametri boje skladištenih bioaktivnih dodataka hrani na bazi citrus vlakana, citrus vlakana/ksantana i citrus vlakana/guara sa sokom aronije i disaharidima prikazani su u **Tablici 44**. Svjetlina uzoraka bila je u rasponu od 42,24 do 44,40. Vrijednosti parametara a^* i b^* (crvena i žuta boja) bile su u rasponu od 17,57 do 18,93 i od 5,45 do 5,90. Promjena boje između kompleksa

nakon pripreme i skladištenih kompleksa (ΔE) bila je u rasponu od 0,38 do 1,58. Prema vrijednostima ΔE kod kompleksa s citrus vlaknom i disaharidima razlika boje se vidjela dok se kod ostalih kompleksa razlika boje primjećuje. Ton boje ($^{\circ}h$) i zasićenje boje (C^*) bili su u rasponu od 17,05 do 18,04 i 18,48 do 19,82. Svjetlina mikročestica s disaharidima, vlaknima jabuke i sokom kupine bila je veća u odnosu na mikročestice bez disaharida (Kopjar i sur., 2022). Slično je bilo i u ovom istraživanju gdje su kompleksi s saharozom i citrus vlaknom ili citrus vlaknom/ksantanom imali najveće vrijednosti L^* parametra. Isti autori su utvrdili veće vrijednosti parametara a^* i b^* u mikročesticama s disaharidima dok je u ovom radu to bio slučaj samo kod kompleksa s citrus vlaknom/ksantanom.

5.3.6. FTIR analiza

IR spektri kompleksa i vlakana

FTIR analiza je provedena kako bi se identificirale funkcionalne skupine prisutne na vlaknima i kompleksima odnosno kako bi se potvrdilo vezanje bioaktivnih spojeva iz soka aronije na vlakna u prisustvu disaharida. Na **Slikama 53-55** prikazani su IR spektri vlakana te vlakana s trehalozom ili saharozom (bez soka aronije). Izdvojeni su IR spektri od 1800 cm^{-1} do 600 cm^{-1} jer su u tom području uočene promjene. Utvrđeno je smanjenje intenziteta vrpce na 1720 cm^{-1} na vlaknima nakon što su disaharidi bili prisutni s izuzetkom za uzorak s citrus vlaknom/guarom i trehalozom. Kod uzoraka s vlaknima i saharozom došlo je do pomicanja vrpce s 1561 cm^{-1} na 1558 cm^{-1} . Na citrus vlaknu je bila prisutna vrpca na 1509 cm^{-1} dok kod uzoraka s disaharidima nije bilo vrpce na tom valnom broju. Prisutnost disaharida uzorkovala je pomicanje vrpce na vlaknima s 1439 cm^{-1} na 1437 cm^{-1} i s 1228 cm^{-1} na 1232 cm^{-1} . Vrpca prisutna na vlaknima na 1010 cm^{-1} pomjerila se na 1015 cm^{-1} kada su disaharidi bili prisutni. Prisutnost trehaloze uzrokovala je nastanak vrpce na 988 cm^{-1} koja odgovara istezanju C-O veza (Movasaghi i sur., 2008). Također kod uzoraka s trehalozom uočava se pomicanje vrpce s 814 cm^{-1} na 802 cm^{-1} . Na **Slikama 56-58** prikazani su IR spektri vlakana i kompleksa na bazi vlakana s disaharidima. Široka vrpca na oko 3300 cm^{-1} bila je prisutna na svim IR spektrima, a ona odgovara vibracijskom istezanju O-H veza. Vrpce na 2927 cm^{-1} i 2856 cm^{-1} mogu biti pripisane simetričnom i asimetričnom vibracijskom istezanju C-H veza (Aburto i sur., 2015). Iz IR spektara može se utvrditi kako je vrpca na 2856 cm^{-1} u kompleksima puno slabijeg

intenziteta u odnosu na vlakna. Vrpce prisutne u regiji od 1800 cm^{-1} do 1500 cm^{-1} mogu se pripisati vibracijskom istezanju dvostrukih veza, a iz IR spektara mogu se uočiti tri vrpce na tom području (1735 cm^{-1} , 1604 cm^{-1} i 1520 cm^{-1}) (Hong i sur., 2021). Vrpca na 1735 cm^{-1} na vlaknima (citrus vlakno, citrus vlakno/ksantan i citrus vlakno/guar) upućuje na prisutnost vibracijskog istezanja C=O veze alkilnih estera polisaharida kao što su pektin i hemiceluloza. U kompleksima je ta vrpca pomaknuta na 1725 cm^{-1} . Vrpca na 1604 cm^{-1} može se pripisati nesimetričnom istezanju COO⁻ povezanim s poligalakturonskom kiselinom i karboksilnim esterima pektina (Bichara i sur., 2016). Na vlaknima se može uočiti slaba vrpca na 1520 cm^{-1} s ramenom odgovorna za vibracijsko istezanje C=C veza dok se kod kompleksa vidi jasno definirana i naglašena vrpca na tom valnom broju. U regiji od 1500 cm^{-1} do 1200 cm^{-1} nalazi se veliki broj vrpce koje se preklapaju te je njihovo tumačenje zahtjevno, a većina njih je pripisana vibracijskom istezanju CH₂ skupina i C-OH deformacijama kod ugljikohidrata (Hong i sur., 2021). Vrpca na 1317 cm^{-1} bila je prisutna na vlaknima dok na kompleksima s citrus vlaknom nije bilo vrpce na tom valnom broju, a na kompleksima s citrus vlaknom/ksantanom i citrus vlaknom/guatom je slabijeg intenziteta. Vrpce u regiji od 1050 cm^{-1} do 1000 cm^{-1} (na vlaknu i kompleksima prisutna vrpca na 1010 cm^{-1}) odnose se na vibracijsko istezanje C-OH skupina i vibracija C-O-C glikozidnih veza. Vrpca na 988 cm^{-1} koja je bila prisutna kod uzoraka vlakana s trehalozom (**Slike 53-55**) nije bila prisutna na kompleksima što bi moglo upućivati na promjene u kemijskim vezama u sustavu sa sokom aronije, trehalozom i vlaknima. Vrpce u regiji od 900 cm^{-1} do 600 cm^{-1} mogu se pripisati vibracijskim istezanjima C-H veza izvan ravnine (Movasaghi i sur., 2008). Može se utvrditi stvaranje nove vrpce na kompleksima na 890 cm^{-1} s ramenom na 867 cm^{-1} .

Parametri indeksa ukupnog kristaliteta (TCI), indeksa bočnog poretka (LOI) i intenziteta vodikove veze (HBI) za vlakna i komplekse

U **Tablici 45** prikazani su parametri indeksa ukupnog kristaliteta (TCI), indeksa bočnog poretka (LOI) i intenziteta vodikove veze (HBI) za vlakna i komplekse. TCI za citrus vlakno bio je 1,64 dok je za komplekse na bazi citrus vlakna sa sokom aronije i disaharidima bio niži i to u rasponu od 1,30 do 1,36. Isto je utvrđeno i za komplekse s citrus vlaknom/ksantanom gdje su vrijednosti bile manje (1,29 – 1,34) u odnosu na citrus vlakno/ksantan (1,51). TCI za citrus vlakno/guar bio je 1,39, a za komplekse na bazi citrus vlakna/guara sa sokom aronije i disaharidima u rasponu od 1,28 do 1,32.

Kod skladištenih kompleksa TCI vrijednosti su varirale u usporedbi s kompleksima prije skladištenja; kod nekih kompleksa nije bilo promjene, a neki su imali veće ili manje vrijednosti parametra TCI. LOI vrijednost kompleksa je bila veća od LOI vlakana, a isto je utvrđeno i za HBI vrijednosti. HBI citrus vlakna i citrus vlakna/ksantana bio je 0,91 dok je za komplekse na bazi citrus vlakna sa sokom aronije i disaharidima bila 0,99 – 1,08, a za komplekse na bazi citrus vlakna/ksantana sa sokom aronije i disaharidima bila 1,11 – 1,15. Za citrus vlakno/guar HBI je bio 0,90, a za komplekse na bazi citrus vlakna/guara 1,09 – 1,14. Kod skladištenih kompleksa u nekim slučajevima je došlo do porasta HBI vrijednosti (kompleksi s citrus vlaknom/guarom). Općenito porast HBI vrijednosti nakon inkapsulacije polifenola soka aronije bi se mogao povezati sa formiranjem vodikovih veza (Cichosz i Masek, 2020). Smanjenje vrijednosti parametra TCI nakon inkapsulacije polifenola upućuje na to da nije došlo do stvaranja veza između molekula celuloze nego su se formirale vodikove veze između polifenola i vlakana. Slično je utvrđeno kod kompleksa galne i kafeinske kiseline s celulozom (Kopjar i sur., 2023) gdje su vodikove veze između nosača i fenolnih kiselina potvrđene smanjenjem TCI i porastom HBI parametra.

DO NOT COPY

6. ZAKLJUČCI

Cilj ovog rada bio je pripremiti bioaktivne dodatke hrani na bazi vlakana, soka aronije s ili bez dodatka disaharida. Definirane su hipoteze doktorskog rada iz kojih su izvedeni sljedeći zaključci na osnovu dobivenih rezultata:

Hipoteza 1: Prehrambena vlakna (citrus vlakna, citrus vlakna/guar i citrus vlakna/ksantan) imaju sposobnost vezanja polifenola i hlapljivih spojeva soka aronije.

Spektrofotometrijskim mjerenjem sadržaja ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina kao i HPLC analizom potvrđeno je vezanje polifenola soka aronije na vlakna. U kompleksima je bilo prisutno šest polifenola iz soka aronije, a pripadali su skupinama antocijanina (cijanidin-3-galaktozid, cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3-arabinozid), fenolnih kiselina (klorogenska i neoklorogenska kiselina) i flavonola (kvercetin-3-galaktozid). GC-MS analizom je potvrđeno vezanje 18 hlapljivih spojeva soka aronije iz skupina alkohola, karbonilnih spojeva i terpena. Iz navedenog se može zaključiti kako citrus vlakna, citrus vlakna/ksantan i citrus vlakna/guar imaju sposobnost vezanja polifenolnih i hlapljivih spojeva soka aronije. Citrus vlakno/guar je pokazao najbolju sposobnost vezanja ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina. IR spektrom potvrđeno je vezanje polifenola soka aronije na vlakna.

Hipoteza 2: Dodatak disaharida (saharoza i trehaloza) i različita količina nosača tijekom pripreme kompleksa imaju utjecaj na vezanje polifenola i hlapljivih spojeva soka aronije.

Dodatak disaharida (saharoze i trehaloze) utjecao je negativno ili nije bilo utjecaja na vezanje ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina osim kod kompleksa s citrus vlaknom/guarom gdje je dodatak disaharida poboljšao vezanje antocijanina, ali bez razlike između saharoze i trehaloze. Trehaloza je imala bolji učinak na vezanje proantocijanidina u odnosu na saharozu kod kompleksa s citrus vlaknom/ksantom i citrus vlaknom/guarom. Dodatak disaharida je kod većine kompleksa utjecao negativno na vezanje hlapljivih komponenti osim kod kompleksa s citrus vlaknom/guarom gdje je poboljšao vezanje terpena, a dodatak trehaloze je poboljšao vezanje alkohola i karbonilnih spojeva. Primjena različitih količina nosača (1 %, 2 % i 3

%) imala je utjecaj na vezanje polifenola i hlapljivih komponenata. Najveća količina vezanih polifenola bila je u kompleksima s 1 % vlakna. S povećanjem količine vlakna došlo je do smanjenja vezanja polifenola. Spektrofotometrijskim određivanjem sadržaja polifenola, citrus vlakno/guar u količini od 1 % pokazalo se najboljim nosačem za vezanje ukupnih polifenola, antocijanina i proantocijanidina. Količina vlakna je različito utjecala na vezanje određenih skupina hlapljivih spojeva. Terpeni su bili prisutni u najvećim količinama u kompleksima s citrus vlaknom i citrus vlaknom/ksantanom, a kompleks s citrus vlaknom u količini od 2 % imao je najveću količinu terpena.

Hipoteza 3: *Dobiveni kompleksi imaju sposobnost inhibicije enzima α -amilaze i α -glukozidaze.*

Rezultatima se utvrdilo kako kompleksi imaju veću sposobnost inhibicije enzima α -glukozidaze nego α -amilaze, odnosno pri nižoj koncentraciji polifenola inhibirali su α -glukozidazu dok je za inhibiciju α -amilaze bila potrebna veća koncentracija polifenola u reakcijskoj smjesi. Kompleksi s 1 % vlakna imali su veću sposobnost inhibicije enzima od kompleksa s 2 % i 3 % vlakna. Dodatak disaharida je u većini slučajeva djelovao negativno ili nije bilo utjecaja na sposobnost inhibicije enzima, osim kod kompleksa s citrus vlaknom i saharozom gdje je sposobnost inhibicije bila veća u odnosu na kontrolni uzorak (bez disaharida).

Hipoteza 4: *Dobiveni kompleksi posjeduju antioksidacijsku aktivnost.*

Rezultatima četiri različite metode (DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC) utvrđeno je kako kompleksi posjeduju antioksidacijsku aktivnost. Iz rezultata je vidljivo kako je antioksidacijska aktivnost bila veća kod kompleksa s 1 % vlakna, a s povećanjem količine vlakna se smanjivala. Najveću antioksidacijsku aktivnost određenu DPPH metodom imao je kompleks s 1 % citrus vlakna dok je iz rezultata ostalih metoda najveća antioksidacijska aktivnost utvrđena za kompleks s 1 % citrus vlakna/guara. Dodatak disaharida utjecao je negativno ili nije bilo utjecaja na antioksidacijsku aktivnost kompleksa. Najnižu antioksidacijsku aktivnost određenu svim metodama imali su kompleksi s citrus vlaknom/ksantanom i disaharidima. Sadržaj polifenola u

kompleksima imao je utjecaj na antioksidacijsku aktivnost, odnosno kompleksi s većim sadržajem polifenola imali su veću antioksidacijsku aktivnost.

Hipoteza 5: Skladištenje na sobnoj temperaturi i izloženosti svjetlu uzrokovat će promjene liofiliziranih kompleksa.

Skladištenjem kompleksa na sobnoj temperaturi i izloženosti svjetlu došlo je do promjena kod nekih kompleksa. Iz rezultata je utvrđena najveća degradacija antocijanina i proantocijanidina kod kompleksa s 3 % citrus vlakna/guara dok kod kompleksa s 2 % citrus vlakna nije došlo do degradacije antocijanina i proantocijanidina. Najveća degradacija utvrđena je za neoklorogensku kiselinu (oko 50 %). Kompleks s 2 % citrus vlakna je imao najmanju degradaciju ukupnih fenolnih kiselina kao i ukupnih polifenola određenih HPLC metodom. Sadržaj hlapljivih spojeva u skladištenim kompleksima bio je manji u odnosu na komplekse prije skladištenja, osim za sadržaj karbonilnih spojeva u kompleksima s citrus vlaknima/guarom (2 % i 3 %) i citrus vlaknima/ksantanom. Skladištenje kompleksa s disaharidima uzrokovalo je najveću degradaciju antocijanina i fenolnih kiselina kod kompleksa s citrus vlaknom/guarom i saharozom. Isto je utvrđeno i za degradaciju ukupnih fenolnih kiselina i ukupnih antocijanina određenih HPLC metodom. Iz zadržavanja ukupnih polifenola, određenih HPLC metodom, može se utvrditi najmanje zadržavanje u kompleksima s citrus vlaknom i disaharidima te citrus vlaknom/guarom i saharozom. Kod ostalih kompleksa zadržavanje polifenola nakon skladištenja je bilo oko 86 %. Također, došlo je do značajne degradacije D-limonena u kompleksima pa je i sadržaj terpena bio manji u skladištenim kompleksima. Najmanju koncentraciju terpena imao je kompleks s citrus vlaknom/guarom i trehalozom koji je ujedno imao i najveću degradaciju D-limonena (60 %). Najveća koncentracija terpena bila je u kompleksu s citrus vlaknom i trehalozom s degradacijom D-limonena od 14 %.

Potencijalna primjena dobivenih bioaktivnih dodataka hrani bila bi kod razvoja i/ili obogaćivanja novih proizvoda s polifenolima i hlapljivim spojevima soka aronije. Takvi proizvodi bi imali svojstva koja promiču zdravlje kao što je povećan antioksidativni potencijal. Buduće studije trebale bi ispitati stvarni utjecaj ovih dodataka na kvalitetu i stabilnost proizvoda kako bi se omogućila

tehnološka primjena u prehrambenoj industriji.

DO NOT COPY

DO NOT COPY

7. LITERATURA

- Aara A, Chappidi V, Ramadas MN: Antioxidant activity of eugenol in Piper betel leaf extract. *Journal of family medicine and primary care* 9(1):327–331, 2020. https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_809_19.
- Aburto J, Moran M, Galano A, Torres-García E: Non-isothermal pyrolysis of pectin: A thermochemical and kinetic approach. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 112:94–104, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2015.02.012>.
- Akkarachiyasit S, Charoenlertkul P, Yibchok-anun S, Adisakwattana S: Inhibitory Activities of Cyanidin and Its Glycosides and Synergistic Effect with Acarbose against Intestinal α -Glucosidase and Pancreatic α -Amylase. *International Journal of Molecular Sciences* 11(9):3387–3396, 2010. <https://doi.org/10.3390/ijms11093387>.
- American Association of Cereal Chemists: *The definition of dietary fiber*. *Cereal Foods World* 46:112–116, 2001.
- Apak R, Güçlü K, Ozyürek M, Karademir SE: Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:7970–7981, 2004. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>.
- Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Çapanoğlu E: Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64(5):997–1027, 2016. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>.
- Arnao MB, Cano A, Acosta M: The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry* 73:239–244, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00324-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00324-1).
- Astray G, Mejuto JC, Morales J, Rial-Otero R, Simal-Gándara J: Factors controlling flavors binding constants to cyclodextrins and their applications in foods. *Food Research International* 43(4):1212–1218, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.017>.
- Bakowska-Barczak AM, Kolodziejczyk PP: Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial Crops and Products* 34(2):1301–1309, 2011. [doi:10.1016/j.indcrop.2010.10.002](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.002).
- Ballesteros LF, Ramirez MJ, Orrego CE, Teixeira JA, Mussatto SI: Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food Chemistry* 237:623–631, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142>.
- Belojević G: Effects of polyphenols on human health. *Galenika Medical Journal* 2(7):46–52, 2023. [10.5937/Galmed2307046B](https://doi.org/10.5937/Galmed2307046B).

- Benzie IF, Strain JJ: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239:70–79, 1996. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- Bezerra DP, Militão G, de Moraes MC, de Sousa DP: The dual antioxidant/prooxidant effect of eugenol and its action in cancer development and treatment. *Nutrients* 9(12):1367, 2017. <https://doi.org/10.3390/nu9121367>.
- Bhatta S, Stevanovic Janezic T, Ratti C: Freeze-Drying of Plant-Based Foods. *Foods* 9:87, 2020. DOI: 10.3390/foods9010087.
- Bichara LC, Alvarez PE, Fiori Bimbi MV, Vaca H, Gervasi C, Brandán SA: Structural and spectroscopic study of a pectin isolated from citrus peel by using FTIR and FT-Raman spectra and DFT calculations. *Infrared Physics and Technology* 76:315–327, 2016. doi:10.1016/j.infrared.2016.03.00.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 28:25–30, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Braudo EE, Plashchina IG, Kobak VV, Golovnya RV, Zhuravleva, I.L.; Krikunova, N.I. Interactions of flavor compounds with pectic substances. *Food/Nahrung* 44:173–177, 2000. 10.1002/1521-3803(20000501)44:3<173::AID-FOOD173>3.0.CO;2-X.
- Bräunlich M, Slimestad R, Wangensteen H, Brede C, Malterud KE, Barsett H: Extracts, Anthocyanins and Procyanidins from *Aronia melanocarpa* as Radical Scavengers and Enzyme Inhibitors. *Nutrients* 5(3):663-678, 2013. <https://doi.org/10.3390/nu5030663>
- Buljeta I, Ćorković I, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: Application of Citrus and Apple Fibers for Formulation of Quercetin/Fiber Aggregates: Impact of Quercetin Concentration. *Plants* 11(24):3582, 2022c. <https://doi.org/10.3390/plants11243582>.
- Buljeta I, Gašo-Sokač D, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: Antioxidant activity of eugenol and its application in the food industry. *Advances in Chemistry Research*. Nova Science Publisher, New York, 67-94, 2022a.
- Buljeta I, Pichler A, Ivić I, Šimunović J, Kopjar M: Encapsulation of Fruit Flavor Compounds through Interaction with Polysaccharides. *Molecules* 26:4207, 2021a. <https://doi.org/10.3390/molecules26144207>.
- Buljeta I, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: Polyphenols and Antioxidant Activity of Citrus Fiber/Blackberry Juice Complexes. *Molecules* 26(15):4400, 2021b. <https://doi.org/10.3390/molecules26154400>.
- Buljeta I, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: Polysaccharides as Carriers of Polyphenols: Comparison of Freeze-Drying and Spray-Drying as Encapsulation Techniques. *Molecules*

- 27(16):5069, 2022b. <https://doi.org/10.3390/molecules27165069>.
- Buljeta I, Vukoja J, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: Encapsulation of gallic acid on pectin: antioxidant activity, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of complexes. *Journal of Food and Nutrition Research* 61(3):242-250, 2022d. <https://doi.org/10.3390/plants11243582>.
- Bursać Kovačević D, Gajdoš Kljusurić J, Putnik P, Vukušić T, Herceg Z, Dragović-Uzelac V: Stability of polyphenols in chokeberry juice treated with gas phase plasma. *Food Chemistry* 212:323–331, 2016. doi:10.1016/j.foodchem.2016.05.192.
- Cao H, Saroglu O, Karadag A, Diaconeasa Z, Zoccatelli G, Conte-Junior CA, Gonzalez-Aguilar GA, Ou J, Bai W, Zamarioli CM, de Freitas LAP, Shpigelman A, Campelo PH, Capanoglu E, Hii CL, Jafari SM, Qi Y, Liao P, Wang M, Zou L, Bourke P, Simal-Gandara J, Xiao J: Available technologies on improving the stability of polyphenols in food processing. *Food Frontiers* 2(2):109–139, 2021. doi:10.1002/fft2.65.
- Cichosz S, Masek A: IR study on cellulose with the varied moisture contents: insight into the supramolecular structure. *Materials* 13(20): 4573, 2020. <https://doi.org/10.3390/ma13204573>.
- Clarke MA: Technological value of sucrose in food products. U *Sucrose: Properties and Applications*. Springer, New York, SAD, 223-246, 1995.
- Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE, Riddell MC, Dunstan DW, Dempsey PC, Horton ES, Castorino K, Tate DF: Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 39(11):2065–2079, 2016. doi:10.2337/dc16-1728.
- Costa T dos S, Rogez H, Pena R da S: Adsorption capacity of phenolic compounds onto cellulose and xylan. *Food Science and Technology* 35:314–320, 2015.
- Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN: Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports* 26:1001–10043, 2009. DOI: 10.1039/b802662a.
- Ćorković I, Gašo-Sokač D, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: Dietary Polyphenols as Natural Inhibitors of α -Amylase and α -Glucosidase. *Life* 12(11):1692, 2022. <https://doi.org/10.3390/life12111692>.
- Ćorković I, Pichler A, Buljeta I, Šimunović J, Kopjar M: Carboxymethylcellulose hydrogels: Effect of its different amount on preservation of tart cherry anthocyanins and polyphenols. *Current Plant Biology* 28:100222, 2021b. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100222>.
- Ćorković I, Pichler A, Ivić I, Šimunović J, Kopjar M: Microencapsulation of Chokeberry Polyphenols and Volatiles: Application of Alginate and Pectin as Wall Materials. *Gels* 7(4):231, 2021a. <https://doi.org/10.3390/gels7040231>.

- Ćorković I, Rajchl A, Škorpilová T, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: Evaluation of Chokeberry/Carboxymethylcellulose Hydrogels with the Addition of Disaccharides: DART-TOF/MS and HPLC-DAD Analysis. *International Journal of Molecular Sciences* 24(1):448, 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms24010448>.
- Ćujić Nikolić N, Stanisavljević N, Šavikin K, Kalušević A, Nedović V, Bigović D, Janković T: Application of gum Arabic in the production of spray-dried chokeberry polyphenols, microparticles characterisation and in vitro digestion method. *Lekovite sirovine* 38:9-16, 2018. doi: 10.5937/leksir1838009C.
- Da Rosa CG, Borges CD, Zambiasi RC, Rutz JK, da Luz SR, Krumreich FD, Benvenuti EV, Nunes MR: Encapsulation of the phenolic compounds of the blackberry (*Rubus fruticosus*). *LWT - Food Science and Technology* 58:527–533, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.042>.
- Dangles O, Fargeix G, Dufour C: Antioxidant properties of anthocyanins and tannins: a mechanistic investigation with catechin and 3',4',7-trihydroxy flavylum ion. *Journal of the Chemical Society* 8:1653–1663, 2000. <https://doi.org/10.1039/B003260N>.
- Denev P, Číž M, Kratchanova M, Blazheva D: Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols reveal different antioxidant, antimicrobial and neutrophil-modulating activities. *Food Chemistry* 284:108–117, 2019. doi:10.1016/j.foodchem.2019.01.108.
- Dobson CC, Mottawea W, Rodrigue A, Buzati Pereira LB, Hammami R, Power AK, Bordenave N: Impact of molecular interactions with phenolic compounds on food polysaccharides functionality. *Advances in Food and Nutrition Research* 90:135–181, 2019. DOI: 10.1016/bs.afnr.2019.02.010.
- Dolezal M, Velisek J, Famfulikova PJ: Aroma of less-known wild fruits. *Flavour Research at the Dawn of the Twenty first Century. Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium*, 576-579. Centre de Recherche de Dijon, Beaune, 2003.
- Domínguez Avila JA, Villegas Ochoa MA, Alvarez Parrilla E, Montalvo González E, González Aguilar GA: Interactions between four common plant-derived phenolic acids and pectin, and its effect on antioxidant capacity. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12(2):992–1004, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9714-z>.
- El Hadi MAM, Zhang F-J, Wu F-F, Zhou C-H, Tao J: Advances in fruit aroma volatile research. *Molecules* 18: 8200-8229, 2013. DOI: 10.3390/molecules18078200.
- Ellella MHA, Goda ES, Gab-Allah MA, Hong SE, Pandit B, Lee S, Gamal H, Rehman Au, Yoon KR: Xanthan gum-derived materials for applications in environment and eco-friendly materials: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 9(1): 104702, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104702>.
- El-Messery TM, El-Said MM, Demircan E, Özçelik B: Microencapsulation of natural polyphenolic

- compounds extracted from apple peel and its application in yoghurt. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 18:25–34, 2019. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2019.0597>.
- Elsebaie EM, Essa RY: Microencapsulation of red onion peel polyphenols fractions by freeze drying technicality and its application in cake. *Journal of Food Processing and Preservation* 42(7):e13654, 2018. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13654>.
- Faustino M, Veiga M, Sousa P, Costa EM, Silva S, Pintado M: Agro-food byproducts as a new source of natural food additives. *Molecules* 24:1056, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24061056>.
- Fernandes A, Brás NF, Mateus N, de Freitas V: Understanding the Molecular Mechanism of Anthocyanin Binding to Pectin. *Langmuir* 30(28):8516–8527, 2014. <https://doi.org/10.1021/la501879w>.
- Freitas CMP, Sousa RCS, Dias MMS, Coimbra JSR: Extraction of Pectin from Passion Fruit Peel. *Food Engineering Reviews* 12:460–472, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09254-9>.
- Ghadermazi R, Keramat J, Goli SAH: Antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb), oregano (*Origanum vulgare* L) and sage (*Salvia officinalis* L) essential oils in various model systems. *International Food Research Journal* 24:1628-1635, 2017.
- Giovinazzo G, Carluccio MA, Grieco F: Wine Polyphenols and Health. U *Bioactive Molecules in Food*. Springer: Cham, New York, NY, SAD, 1135–1155, 2019.
- Giusti MM, Wrolstad RE: Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. U *Current Protocols in Food Analytical Chemistry Current Protocols*. JohnWiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 2001.
- Goubet I, Le Quere JL, Voilley AJ: Retention of Aroma Compounds by Carbohydrates: Influence of Their Physicochemical Characteristics and of Their Physical State. A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(5):1981–1990, 1998. doi:10.1021/jf970709y.
- Granados-Guzmán G, Castro-Rios R, de Torres NW, Salazar-Aranda R: Optimization and validation of a microscale in vitro method to assess α -glucosidase inhibition activity. *Current Analytical Chemistry* 14:458–464, 2018. 10.2174/1573411013666170911154755.
- Grgić J, Šelo G, Planinić M, Tišma M, Bucić-Kojić A: Role of the Encapsulation in Bioavailability of Phenolic Compounds. *Antioxidants* 9(10):923, 2020. <https://doi.org/10.3390/antiox9100923>.
- Guichard E: Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. *Food Reviews International* 18:49–70, 2002. <https://doi.org/10.1081/FRI-120003417>.

- Gülçin İ, Elmastaş M, Hassan Y, Aboul-Enein HY: Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source. *Arabian Journal of Chemistry* 5:489-499, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.09.016>.
- Haładyn K, Tkacz K, Wojdyło A, Nowicka P. The Types of Polysaccharide Coatings and Their Mixtures as a Factor Affecting the Stability of Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties Expressed as the Ability to Inhibit the α -Amylase and α -Glucosidase of Chokeberry Extracts in the Microencapsulation Process. *Foods* 10(9):1994, 2021. <https://doi.org/10.3390/foods10091994>.
- Higashiyama T: Novel functions and applications of trehalose. *Pure and Applied Chemistry* 74(7):1263–1269, 2002. doi:10.1351/pac200274071263
- Hirvi T, Honkanen E: Analysis of the volatile constituents of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* Ell). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 36: 808–10, 1985. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740360908>.
- Hochava M, Sampiev A, Oganessian E, Semenenko M, Malyavina V: Development of a technology for obtaining hesperidin from citrus fruit processing waste. *BIO Web of Conferences* 46:010, 2022. DOI: 10.1051/bioconf/20224601013.
- Hong T, Yin J-Y, Nie S-P, Xie MY: Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective. *Food Chemistry: X* 12:100168, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100168>.
- Hraste M, Papić G, Alajbeg A: Dijabetes i tjelovježba. *Edukacija rekreacija sport* 29(42):43-46, 2020.
- Huang L-Z, Ma M-G, Ji X-X, Choi S-E, Si C: Recent Developments and Applications of Hemicellulose From Wheat Straw: A Review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9:690773, 2021. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.690773>.
- Ivić I, Kopjar M, Jakobek L, Jukić V, Korbar S, Marić B, Mesić J, Pichler A: Influence of processing parameters on phenolic compounds and color of Cabernet Sauvignon red wine concentrates obtained by reverse osmosis and nanofiltration. *Process* 9(1):89, 2021. <https://doi.org/10.3390/pr9010089>.
- Jacob JK, Tiwari K, Correa-Betanzo J, Misran A, Chandrasekaran R, Paliyath G: Biochemical Basis for Functional Ingredient Design from Fruits. *Annual Review of Food Science and Technology* 3(1):79–104, 2012. doi:10.1146/annurev-food-022811-101127
- Jakobek L, Matić P, Ištuk J, Barron AR: Study of Interactions Between Individual Phenolics of Aronia with Barley Beta-Glucan. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 71(2):187-196, 2021. doi:10.31883/pjfn/136051.
- Jakobek L, Šeruga M, Medvidović-Kosanović M, Novak I: Antioxidant Activity and Polyphenols

- of Aronia in Comparison to other Berry Species. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 72(4):301-306, 2007b. <https://hrcak.srce.hr/19396>.
- Jakobek L, Šeruga M, Novak I, Medvidović-Kosanović M: Flavonols, phenolic acids and antioxidant activity of some red fruits. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 103:369–378, 2007a.
- Jakobek L: Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry* 175:556–567, 2015. doi:10.1016/j.foodchem.2014.12.013.
- Jirovetz L, Buchbauer G, Stoilova I, Stoyanova A, Krastanov A, Schmidt E: Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(17):6303–6307, 2006. 10.1021/jf060608c.
- Jouquand C, Aguni Y, Malhiac C, Grisel M: Influence of chemical composition of polysaccharides on aroma retention. *Food Hydrocolloids* 22(6):1097–1104, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.06.001>.
- Jurendić T, Ščetar M: *Aronia melanocarpa* Products and By-Products for Health and Nutrition: A Review. *Antioxidants* 10:1052, 2021. <https://doi.org/10.3390/antiox10071052>.
- Jurikova T, Mlcek J, Skrovankova S, Sumczynski D, Sochor J, Hlavacova I, Snopek L, Orsavova J: Fruits of Black Chokeberry *Aronia melanocarpa* in the Prevention of Chronic Diseases. *Molecules* 22:944, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules22060944>.
- Kaloudi T, Tsimogiannis D, Oreopoulou V: *Aronia Melanocarpa*: Identification and Exploitation of Its Phenolic Components. *Molecules* 27:4375, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27144375>.
- Kardum N, Petrović-Oggiano G, Takic M, Glibetić N, Zec M, Debeljak-Martacic J, Konić-Ristić A: Effects of glucomannan-enriched, aronia juice-based supplement on cellular antioxidant enzymes and membrane lipid status in subjects with abdominal obesity. *Scientific World Journal* 2014:86925, 2014. doi: 10.1155/2014/869250.
- Kasprzak-Drozd K, Oniszczyk T, Soja J, Gancarz M, Wojtunik-Kulesza K, Markut-Miotła E, Oniszczyk A: The Efficacy of Black Chokeberry Fruits against Cardiovascular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 22:6541, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22126541>.
- Kellogg J, Grace MH, Lila MA: Phlorotannins from alaskan seaweed inhibit carbolytic enzyme activity. *Marine drugs* 12:5277–5294, 2014. doi: 10.3390/md12105277.
- Klisurova D, Petrova I, Ognyanov M, Georgiev Y, Kratchanova M, Denev P: Co-pigmentation of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) anthocyanins with phenolic co-pigments and herbal extracts. *Food Chemistry* 279:162-170, 2018. doi:10.1016/j.foodchem.2018.11.12.

- Kopjar M, Alilović D, Požrl T, Piližota V, Pichler A: Phenolics content and antioxidant activity of sour cherry extracts with sugar addition. *Acta Alimentaria* 46(4):501–507, 2017. doi:10.1556/066.2017.46.4.13.
- Kopjar M, Buljeta I, Nosić M, Ivić I, Šimunović J, Pichler A: Encapsulation of blackberry phenolics and volatiles using apple fibers and disaccharides. *Polymers* 14:2179, 2022. <https://doi.org/10.3390/polym14112179>.
- Kopjar M, Ivić I, Buljeta I, Ćorković I, Vukoja J, Šimunović J, Pichler A: Volatiles and Antioxidant Activity of Citrus Fiber/Blackberry Gels: Influence of Sucrose and Trehalose. *Plants* 10(8):1640, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10081640>.
- Kopjar M, Ivić I, Vukoja J, Šimunović J, Pichler A: Retention of linalool and eugenol in hydrogels. *International Journal of Food Science and Technology* 55(4):1416–1425, 2020. doi:10.1111/ijfs.14344.
- Kopjar M, Lončarić A, Mikulinjak M, Šrajbek Ž, Šrajbek M, Pichler A: Evaluation of Antioxidant Interactions of Combined Model Systems of Phenolics in the Presence of Sugars. *Natural product communications* 11(10):1445–1448, 2016b.
- Kopjar M, Pichler A, Turi J, Piližota V: Influence of trehalose addition on antioxidant activity, colour and texture of orange jelly during storage. *International Journal of Food Science and Technology* 51:2640–2646, 2016a. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13250>.
- Kopjar M, Piližota V, Hribar J, Simčič M, Zlatič E, Tiban NN: Influence of trehalose addition and storage conditions on the quality of strawberry cream filling. *Journal of Food Engineering* 87(3), 341–350, 2008. doi:10.1016/j.jfoodeng.2007.12.011.
- Kopjar M, Vukoja J, Buljeta I, Ćorković I, Pichler A, Šimunović J: Formulation and Stability of Cellulose Particles Enriched with Phenolic Acids. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 73(4):322-331, 2023. doi:10.31883/pjfn/174434.
- Kulling S, Rawel H: Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A Review on the Characteristic Components and Potential Health Effects. *Planta Medica* 74(13):1625–1634, 2008. doi:10.1055/s-0028-1088306
- Kuzmanović Nedeljković S, Radan M, Ćujić Nikolić N, Mutavski Z, Krgović N, Marković S, Stević T, Živković J, Šavikin K: Microencapsulated Bilberry and Chokeberry Leaf Extracts with Potential Health Benefits. *Plants* 12(23):3979, 2023. <https://doi.org/10.3390/plants12233979>.
- Lehmann H. Die Aroniabeere und ihre verarbeitung. *Flüssiges Obst* 57:746-52, 1990.
- Liu D, Martinez-Sanz M, Lopez-Sanchez P, Gilbert EP, Gidley MJ: Adsorption behavior of polyphenols on cellulose is affected by processing history. *Food Hydrocolloids* 63:496–507, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.012>.

- Liu X, Le Bourvellec C, Renard CMGC: Interactions between cell wall polysaccharides and polyphenols: Effect of molecular internal structure. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 19(6):3574–3617, 2020. doi:10.1111/1541-4337.12632.
- Lo Piparo E, Scheib H, Frei N, Williamson G, Grigorov M, Chou CJ: Flavonoids for Controlling Starch Digestion: Structural Requirements for Inhibiting Human α -Amylase. *Journal of Medicinal Chemistry* 51:3555–3561, 2008. <https://doi.org/10.1021/jm800115x>.
- Lončarić A, Pichler A, Trtinjak I, Piližota V, Kopjar M: Phenolics and antioxidant activity of freeze-dried sour cherry puree with addition of disaccharides. *LWT - Food Science and Technology* 73:391–396, 2016. doi:10.1016/j.lwt.2016.06.040.
- López-Fernández O, Domínguez R, Pateiro M, Munekata PES, Rocchetti G, Lorenzo JM: Determination of Polyphenols Using Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Technique (LC–MS/MS): A Review. *Antioxidants* 9:479, 2020. <https://doi.org/10.3390/antiox9060479>.
- Lundberg B, Pan X, White A, Chau H, Hotchkiss A: Rheology and composition of citrus fiber. *Journal of Food Engineering* 125:97–104, 2014. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.10.021.
- Lundberg B: Using highly expanded citrus fiber to improve the quality and nutritional properties of foods. *Cereal Foods World* 50:248-252, 2005.
- Madene A, Jacquot M, Scher J, Desobry, S: Flavour encapsulation and controlled release—A review. *International Journal of Food Science and Technology* 41:1–21, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x>.
- Magazù S, Migliardo F, Gonzalez M, Mondelli C, Parker S, Vertessy B: Molecular mechanisms of survival strategies in extreme conditions. *Life* 2(4):364-376, 2012. <http://dx.doi.org/10.3390/life2040364>.
- Mahboub R, Memmou F: Antioxidant activity and kinetics studies of eugenol and 6-bromoeugenol. *Natural Product Research* 29(10):966-971, 2015. 10.1080/14786419.2014.958738.
- Malapert A, Reboul E, Tourbin M, Dangles O, Thiéry A, Ziarelli F, Tomao V: Characterization of hydroxytyrosol-cyclodextrin complexes in solution and in the solid state, a potential bioactive ingredient. *LWT - Food Science and Technology* 102:317–323, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.052>.
- Mandić M: *Dijetoterapija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2014.
- Mansour M, Salah M, Xu X: Effect of microencapsulation using soy protein isolate and gum arabic as wall material on red raspberry anthocyanin stability, characterization, and simulated gastrointestinal conditions. *Ultrasonics Sonochemistry* 104927, 2019. doi:10.1016/j.ultsonch.2019.10492.

- Maphosa Y, Jideani VA: Dietary fiber extraction for human nutrition—A review. *Food Reviews International* 32:98–115, 2015. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1057840>.
- Marić M, Grassino AN, Zhu Z, Barba FJ, Brnčić M, Rimac Brnčić S: An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science and Technology* 76:28–37, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022>.
- Mayer MN, Espino M, Fernandez MA, Silva MF: NADES for food industry innovation: novel bioadditives based on olive oil byproducts. *Food and Bioproducts Processing* 134:193-201, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.05.007>.
- McClements DJ: Delivery by Design (DbD): A Standardized Approach to the Development of Efficacious Nanoparticle- and Microparticle-Based Delivery Systems. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17(1):200-219, 2017. doi: 10.1111/1541-4337.12313.
- Mercado-Mercado G, de la Rosa LA, Alvarez-Parrilla E: Effect of pectin on the interactions among phenolic compounds determined by antioxidant capacity. *Journal of Molecular Structure* 1199:126967, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.126967>.
- Milea ŞA, Aprodu I, Vasile AM, Barbu V, Râpeanu G, Bahrim GE, Stănciuc N: Widen the functionality of flavonoids from yellow onion skins through extraction and microencapsulation in whey proteins hydrolysates and different polymers. *Journal of Food Engineering* 251:29–35, 2019. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2019.02.003.
- Mohnen D: Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology* 11(3):266–277, 2008. doi: 10.1016/j.pbi.2008.03.006.
- Movasaghi Z, Rehman S, Rehman I: Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews* 43(2):134-179, 2008. DOI:10.1080/05704920701829043.
- Mudgil D, Barak S, Khatkar BS: Guar gum: processing, properties and food applications—A Review. *Journal of Food Science and Technology* 51(3):409–418, 2011. doi:10.1007/s13197-011-0522-x.
- Naknean P, Meenune M: Factors affecting retention and release of flavor compounds in food carbohydrates. Review article. *International Food Research Journal* 17:23–34, 2010.
- Nguyen QD, Dang TT, Nguyen TVL, Dung Nguyen TT, Nguyen NN: Microencapsulation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) anthocyanins: Effects of different carriers on selected physicochemical properties and antioxidant activities of spray-dried and freeze-dried powder. *International Journal of Food Properties* 25:359–374, 2022. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2044846>.

- Nosić M: Vlakna jabuke kao nositelji fenolnih i hlapljivih komponenata soka kupine. *Završni specijalistički*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2021.
- Nowak D, Grąbczewska Z, Gośliński M, Obońska K, Dąbrowska A, Kubica J: Effect of chokeberry juice consumption on antioxidant capacity, lipids profile and endothelial function in healthy people: A pilot study. *Czech Journal of Food Sciences* 34(1):39–46, 2016. doi: 10.17221/258/2015-CJFS.
- Nyambe-Silavwe H, Villa-Rodriguez JA, Ifie I, Holmes M, Aydin E, Jensen JM, Williamson G: Inhibition of human α -amylase by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods* 19, 723–732, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.003>.
- Olsson C, Swenson J: Structural Comparison between Sucrose and Trehalose in Aqueous Solution. *The Journal of Physical Chemistry B* 124(15):3074–3082, 2020. doi:10.1021/acs.jpcc.9b09701
- Ossman T, Fabre G, Trouillas P: Interaction of wine anthocyanin derivatives with lipid bilayer membranes. *Computational and Theoretical Chemistry* 1077:80–86, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2015.10.034>.
- Oszmiański J, Lachowicz S: Effect of the Production of Dried Fruits and Juice from Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) on the Content and Antioxidative Activity of Bioactive Compounds. *Molecules* 21(8), 2016. doi:10.3390/molecules21081098.
- Oszmiański J, Wojdyło A: *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology* 221:809–813, 2005. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0002-5>.
- Papoutsis K, Golding J, Vuong Q, Pristijono P, Stathopoulos C, Scarlett C, Bowyer M: Encapsulation of Citrus By-Product Extracts by Spray-Drying and Freeze-Drying Using Combinations of Maltodextrin with Soybean Protein and -Carrageenan. *Foods* 7:115, 2018. 10.1016/j.ijbiomac.2023.126969.
- Pasrija, D.; Ezhilarasi, P.N.; Indrani, D.; Anandharamkrishnan, C. Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. *LWT - Food Science and Technology* 64:289–296, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.054>.
- Pereira Souza AC, Deyse Gurak P, Damasceno Ferreira Marczak L: Maltodextrin, pectin and soy protein isolate as carrier agents in the encapsulation of anthocyanins-rich extract from jaboticaba pomace. *Food and Bioprocess Processing* 102:186–194, 2017. doi:10.1016/j.fbp.2016.12.012.
- Phan ADT, Netzel G, Wang D, Flanagan BM, D'Arcy BR, Gidley MJ: Binding of dietary polyphenols to cellulose: Structural and nutritional aspects. *Food Chemistry* 171:388–396, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.118>.

- Pieczykolan E, Kurek MA: Use of guar gum, gum arabic, pectin, beta-glucan and inulin for microencapsulation of anthocyanins from chokeberry. *International Journal of Biological Macromolecules* 129:665–671, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.073>.
- Preininger M. Interactions of flavor components in Foods. U *Ingredient Interactions: Effects on Food Quality*. CRC Press: Boca Raton, FL, SAD, 477–542, 2005.
- Prior RL, Fan E, Ji H, Howell A, Nio C, Payne MJ, Reed J: Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90:1473–1478, 2010. DOI: 10.1002/jsfa.3966.
- Prior RL, Wu X, Schaich K: Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10):4290–4302, 2005. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>.
- Pyrzynska K, Sentkowska A: Chromatographic Analysis of Polyphenols. U *Polyphenols in Plants (Second Edition)*. Academic Press, Elsevier, Amsterdam, Nizozemska, 353–364, 2019. doi:10.1016/b978-0-12-813768-0.00021-9.
- Qi J, Song L, Zeng W, Liao J: Citrus fiber for the stabilization of O/W emulsion through combination of Pickering effect and fiber-based network. *Food Chemistry* 343:128523, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128523>.
- Quirós-Sauceda AE, Palafox-Carlos H, Sáyago-Ayerdi SG, Ayala-Zavala JF, Bello-Perez LA, Álvarez-Parrilla E, de la Rosa LA, González-Córdova AF, González-Aguilar GA: Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: Interaction and possible effect after ingestion. *Food Function* 5:1063–1072, 2014. <https://doi.org/10.1039/C4FO00073K>.
- Ramírez MJ, Giraldo GI, Orrego CE: Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates. *Powder Technology* 277:89–96, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.02.060>.
- Reineccius G: Flavor chemistry and technology. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2006.
- Reineccius GA: Carbohydrates for flavor encapsulation. *Food Technology* 45:144–147, 1991.
- Renard CMG, Baron A, Guyot S, Drilleau JF: Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: quantification and some consequences. *International Journal of Biological Macromolecules* 29(2):115–125, 2001. doi:10.1016/s0141-8130(01)00155-6.
- Renard CMGC, Watrelot AA, Le Bourvellec C: Interactions between polyphenols and polysaccharides: Mechanisms and consequences in food processing and digestion. *Trends in Food Science and Technology* 60:43–51, 2017. doi:10.1016/j.tifs.2016.10.022
- Richards AB, Krakowkab S, Dexter LB, Schmid H, Wolterbeeke APM, Waalkens-Berendsene DH, Shigoyukif A, Kurimotof M: Trehalose: a review of properties, history of use and human

- tolerance, and results of multiple safety studies. *Food and Chemical Toxicology* 40:871–898, 2002. DOI: 10.1016/s0278-6915(02)00011-x.
- Riseh RS, Vazvani MG, Hassanisaadi M, Thakur VK: Agricultural wastes: A practical and potential source for the isolation and preparation of cellulose and application in agriculture and different industries. *Industrial Crops and Products* 208: 117904, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117904>.
- Robert P, Gorena T, Romero N, Sepulveda E, Chavez J, Saenz C: Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International Journal of Food Science & Technology* 45(7):1386–1394, 2010. doi:10.1111/j.1365-2621.2010.02270.x
- Robledo R, Castro Vázquez LI: Pectin-Extraction, Purification, Characterization and Applications. *U Pectins-Extraction, Purification, Characterization and Applications*. IntechOpen, London, UK, 2020. DOI: 10.5772/intechopen.85588.
- Rodsamran P, Sothornvit R: Lime peel pectin integrated with coconut water and lime peel extract as a new bioactive film sachet to retard soybean oil oxidation. *Food Hydrocolloids* 97:105173, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105173>.
- Roginsky V, Lissi EA: Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry* 92:235–254, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.004>.
- Romani A, Vignolini P, Ieri F, Heimler D: Polyphenols and Volatile Compounds in Commercial Chokeberry (*Aronia Melanocarpa*) Products. *Natural product communications* 11(1):99–102, 2016. doi:10.1177/1934578x1601100129.
- Romero-Lopez MR, Osorio-Diaz P, Bello-Perez LA, Tovar J, Bernardino Nicanor A: Fiber concentrate from orange (*Citrus sinensis* L.) bagase: Characterization and application as bakery product ingredient. *International Journal of Molecular Sciences* 12(4):2174–2186, 2011. 10.3390/ijms12042174.
- Sahiner M, Blake DA, Fullerton ML, Suner SS, Sunol AK, Sahiner N: Enhancement of biocompatibility and carbohydrate absorption control potential of rosmarinic acid through crosslinking into microparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 137:836–843, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.032>.
- Saifullah M, Islam Shishir MR, Ferdowsi R, Tanver Rahman MR, Van Vuong Q: Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review. *Trends in Food Science and Technology* 86:230–251, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.030>.
- Saikia S, Mahnot NK, Mahanta CL: Optimisation of phenolic extraction from *Averrhoa carambola* pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray

- and freeze drying. *Food Chemistry* 171:144–152, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.064>.
- Sajilata MG, Savitha K, Singhal RS, Kanetkar VR: Scalping of flavors in packaged foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 6 (1):17-35, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00014.x>.
- Sarry JE, Gunata Z: Plant and microbial glycoside hydrolases: Volatile release from glycosidic aroma precursors. *Food Chemistry*, 87: 509–521, 2004.
- Scheller HV, Ulvskov P: Hemicelluloses. *Annual Review of Plant Biology* 61:263–289, 2010. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042809-112315.
- Seddiqi H, Oliaei E, Honarkar H, Jin J, Geonzon LC, Bacabac RG, Klein-Nulend J: Cellulose and its derivatives: Towards biomedical applications. *Cellulose* 28:1893–1931, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03674-w>.
- Sidor A, Drożdżyńska A, Gramza-Michałowska A: Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and its products as potential health-promoting factors - An overview. *Trends in Food Science and Technology* 89:45–60, 2019. doi:10.1016/j.tifs.2019.05.006.
- Sidor A, Gramza-Michałowska A: Black Chokeberry *Aronia Melanocarpa* L.—A Qualitative Composition, Phenolic Profile and Antioxidant Potential. *Molecules* 24:3710, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24203710>.
- Silva PI, Stringheta PC, Teófilo RF, de Oliveira IRN: Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering* 117(4):538–544, 2013. doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.08.039.
- Singleton VL, Rossi JA: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144–158, 1965.
- Slimestad R, Torskangerpoll K, Nateland HS, Johannessen T, Giske NH: Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *Journal of Food Composition and Analysis* 18(1):61-68, 2005. doi:10.1016/j.jfca.2003.12.003.
- Soliman GA: Dietary Fiber, Atherosclerosis, and Cardiovascular Disease. *Nutrients* 11(5):1155, 2019. <https://doi.org/10.3390/nu11051155>.
- Spiridon I, Popa VI: Hemicelluloses: Major Sources, Properties and Applications. U *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*. Elsevier Ltd., Amsterdam, Nizozemska, 289–304, 2008. doi:10.1016/b978-0-08-045316-3.00013-2.
- Stick RV: *Carbohydrates: The Sweet Molecules of Life*. London UK, 2001.

- Stoica F, Condurache NN, Horincar G, Constantin OE, Turturică M, Stănciuc N, Aprodu I, Croitoru C, Râpeanu G: Value-Added Crackers Enriched with Red Onion Skin Anthocyanins Entrapped in Different Combinations of Wall Materials. *Antioxidants* 11(6):1048, 2022. <https://doi.org/10.3390/antiox11061048>.
- Stylianopoulos C: Carbohydrates: Chemistry and Classification. U *Encyclopedia of Human Nutrition*. Elsevier Ltd, Amsterdam, Nizozemska, 265–271, 2013. doi:10.1016/b978-0-12-375083-9.00041-6.
- Sun L, Miao M: Dietary polyphenols modulate starch digestion and glycaemic level: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60:541–555, 2020. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1544883>.
- Suner SS, Sahiner M, Mohapatra S, Ayyala RS, Bhethanabotla VR, Sahiner N: Degradable poly(catechin) nanoparticles as a versatile therapeutic agent. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* 71:1–12, 2021. <https://doi.org/10.1080/00914037.2021.1941957>.
- Suri S, Singh A, Nema PK: Current applications of citrus fruit processing waste: A scientific outlook. *Applied Food Research* 2(1):100050, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100050>.
- Syamaladevi RM, Insan SK, Dhawan S, Andrews P, Sablani SS: Physicochemical Properties of Encapsulated Red Raspberry (*Rubus idaeus*) Powder: Influence of High-Pressure Homogenization. *Drying Technology* 30(5):484–493, 2012. doi:10.1080/07373937.2011.647369.
- Tian Y, Deng Y, Zhang W, Mu W: Sucrose isomers as alternative sweeteners: properties, production, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103:8677–8687, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10132-6>.
- Tolić MT, Jurčević IL, Krbavčić IP, Marković K, Vahčić N: Phenolic Content, Antioxidant Capacity and Quality of Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Products. *Food Technology and Biotechnology* 53(2):171-179, 2015. doi: 10.17113/ftb.53.02.15.3833.
- Tromelin A, Merabtine Y, Andriot I: Retention-release equilibrium of aroma compounds in polysaccharide gels: Study by quantitative structure-activity/property relationships approach. *Flavour and Fragrance Journal* 25:431–442, 2010. <https://doi.org/10.1002/ffj.2000>.
- Vladimir-Knežević S, Blažeković B, Bival Štefan M, Babac M: Plant Polyphenols as Antioxidants Influencing the Human Health. U *Phytochemicals as Nutraceuticals - Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health*. IntechOpen, London, Ujedinjeno Kraljevstvo, 155-180, 2012. doi:10.5772/27843.
- Vukoja J, Buljeta I, Ivić I, Šimunović J, Pichler A, Kopjar M: Disaccharide Type Affected Phenolic

- and Volatile Compounds of Citrus Fiber-Blackberry Cream Fillings. *Foods* 10(2):243, 2021b. <https://doi.org/10.3390/foods10020243>.
- Vukoja J, Buljeta I, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: Formulation and Stability of Cellulose-Based Delivery Systems of Raspberry Phenolics. *Processes* 9(1):90, 2021a. <https://doi.org/10.3390/pr9010090>.
- Vukoja J, Pichler A, Ivić I, Šimunović J, Kopjar M: Cellulose as a Delivery System of Raspberry Juice Volatiles and Their Stability. *Molecules* 25(11):2624, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25112624>.
- Wang R, Zhou W, Jiang X: Reaction kinetics of degradation and epimerization of epigallocatechin gallate (EGCG) in aqueous system over a wide temperature range. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(8):2694–2701, 2008. <https://doi.org/10.1021/jf0730338>.
- Wilkowska A, Ambroziak W, Adamiec J, Czyżowska A: Preservation of Antioxidant Activity and Polyphenols in Chokeberry Juice and Wine with the Use of Microencapsulation. *Journal of Food Processing and Preservation* 41:e12924, 2016b. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12924>.
- Wilkowska A, Ambroziak W, Czyżowska A, Adamiec J: Effect of Microencapsulation by Spray-drying and Freeze Drying Technique on the Antioxidant Properties of Blueberry (*Vaccinium myrtillus*) Juice Polyphenolic Compounds. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 66:11–16, 2016a. DOI: 10.1515/pjfn-2015-0015.
- Willemsse CM, Stander MA, de Villiers A: Hydrophilic interaction chromatographic analysis of anthocyanins. *Journal of Chromatography A* 1319:127–140, 2013. doi:10.1016/j.chroma.2013.10.045.
- Wojdyło A, Lech K, Nowicka P, Hernandez F, Figiel A, Carbonell-Barrachina AA: Influence of Different Drying Techniques on Phenolic Compounds, Antioxidant Capacity and Colour of *Ziziphus jujube* Mill. Fruits. *Molecules* 24:2361, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24132361>.
- Worsztynowicz P, Napierała M, Białas W, Grajek W, Olkowicz M: Pancreatic α -amylase and lipase inhibitory activity of polyphenolic compounds present in the extract of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.). *Process Biochemistry* 49(9), 1457–1463, 2014. doi:10.1016/j.procbio.2014.06.00.
- Wu G, Hui X, Stipkovits L, Rachman A, Tu J, Brennan MA, Brennan CS: Whey protein-blackcurrant concentrate particles obtained by spray-drying and freeze-drying for delivering structural and health benefits of cookies. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 68:102606, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102606>.
- Yamane T, Imai M, Handa S, Ihara H, Sakamoto T, Ishida T, Nakagaki T, Uchiyama S: Aronia juice improves working memory and suppresses δ -secretase activity in 5XFAD mice. *NFS Journal* 32:100146, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2023.100146>.

- Yang X, Yang F, Liu Y, Li J, Song H: Off-flavor removal from thermal-treated watermelon juice by adsorbent treatment with β -cyclodextrin, xanthan gum, carboxymethyl cellulose sodium, and sugar/acid. *LWT – Food Science and Technology* 131:109775–409784, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109775>.
- Yang ZY, Fan YG, Xu M, Ren JN, Liu YL, Zhang LL, Fan G: Effects of xanthan and sugar on the release of aroma compounds in model solution. *Flavour and Fragrance Journal* 32:112–118, 2016. <https://doi.org/10.1002/ffj.3360>.
- Yang, N: Flavour reformulation and flavour stability. *Disertacija*. University of Nottingham, Nottingham, 2012.
- Zhang H, Chen Y, Wang S, Ma L, Yu Y, Dai H, Zhang Y: Extraction and comparison of cellulose nanocrystals from lemon (*Citrus limon*) seeds using sulfuric acid hydrolysis and oxidation methods. *Carbohydrate Polymers* 238:116180, 2020. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116180.
- Zhang Y, Zhao Y, Liu X, Chen X, Ding C, Dong L, Zhang J, Sun S, Ding Q, Khatoom S, Cheng Z, Liu W, Shen L, Xiao F: Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) as a new functional food relationship with health: an overview. *Journal of Future Foods* 1:(2), 168-178, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.01.006>.
- Zhang Y, Zhou Y, Cao S, Li S, Jin S, Zhang S: Preparation, release and physicochemical characterisation of ethyl butyrate and hexanal inclusion complexes with β - and γ -cyclodextrin. *Journal of Microencapsulation* 32:711–718, 2015. <https://doi.org/10.3109/02652048.2015.1073391>.
- Zhao Y: Berry fruit: value-added products for health promotion. CRC Press, Boca Raton, USA, 2007.
- Zheng W, Wang SY: Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:502–9, 2003. <https://doi.org/10.1021/jf020728u>.
- Zhu F: Interactions between cell wall polysaccharides and polyphenols. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 58(11):1808–1831, 2017. 10.1080/10408398.2017.1287659.
- Zhu P, Miao XL, Chen Y: Degradation kinetics of chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, and neochlorogenic acid at neutral and alkaline pH values. *Acta Pharmaceutica Sinica* 51(1):122-126, 2016.
- Zielińska A, Siudem P, Paradowska K, Gralec M, Kaźmierski S, Wawer I: *Aronia melanocarpa* Fruits as a Rich Dietary Source of Chlorogenic Acids and Anthocyanins: 1H-NMR, HPLC-DAD, and Chemometric Studies. *Molecules* 25:3234, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25143234>.