

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Snežana J. Zlatanović

**TERMALNA, HEMIJSKA I FUNKCIONALNA
SVOJSTVA TROPA OD JABUKE I MOGUĆNOSTI
PRIMENE U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI**

Doktorska disertacija

Beograd 2019

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Snežana J. Zlatanović

**THERMAL, CHEMICAL AND FUNCTIONAL
PROPERTIES OF APPLE POMACE AND ITS
POTENTIAL USE IN FOOD INDUSTRY**

Doctoral Dissertation

Belgrade 2019

UNIVERZITET U BEOGRADU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Mentor:

Dr Predrag Vukosavljević, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije:

Dr Mališa Antić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu Poljoprivredni fakultet

Dr Jovanka Laličić - Petronijević, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu Poljoprivredni fakultet

Dr Stanislava Gorjanović, naučni savetnik
Institut za opštu i fizičku hemiju, Beograd

Dr Sanja Ostojić, naučni saradnik
Institut za opštu i fizičku hemiju, Beograd

Dr Tomislav Tosti, naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu Hemijski fakultet

Datum odbrane:

TERMALNA, HEMIJSKA I FUNKCIONALNA SVOJSTVA TROPA OD JABUKE I MOGUĆNOSTI PRIMENE U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI

REZIME

Predmet doktorske disertacije je analiza termalnih, hemijskih i funkcionalnih svojstava brašna od tropa jabuke (eng. Apple pomace flour - APF) proizvedenog u industrijskim uslovima, *in vivo* studija antidijabetogenog i antilipemičnog efekta APF i ispitivanje mogućnosti njegove primene u konditorskoj industriji.

Trop od jabuke koji predstavlja ostatak posle ceđenja pri industrijskoj proizvodnji soka od jabuke sušen je u industrijskim uslovima. Korišćen je trop različitih sorti konvencionalno i organski gajenih jabuka. Trop je dehidratisan neposredno nakon odvajanja soka jabuke ceđenjem. Na temperaturi koja nije prelazila 55 °C, sadržaj vlage je sa 75 - 80 % za 4 - 6 sati snižen na vrednost od 4 - 8 %. Mlevenjem dehidratisanog tropa dobijeno je stabilno i trajno brašno čija je aktivnost vode u rasponu od 0,2 - 0,4. Zdravstvena, hemijska i mikrobiološka ispravnost proizvedenog brašna je potvrđena u skladu sa važećim pravilnicima.

Uporedno su analizirana termalna, hemijska i funkcionalna svojstva pet uzoraka brašna od tropa jabuke i najbližijeg komercijalno dostupnog proizvoda koji je na tržištu Sjedinjenih Američkih Država poznat kao Apple Egg (AE).

U svim uzorcima APF i AE određen je sadržaj ukupnih ugljenih hidrata, dijetnih vlakana (DV), pektina i celuloze, mono- i disaharida (fruktoza, glukoza i saharoza), lipida, proteina i minerala. FT-IR spektri potvrdili su pretežno prisustvo lignoceluloznih vlakana u APF uzorcima. Sadržaj kalijuma, DV, ukupnih polifenolnih jedinjenja i flavonoida je mnogostruko viši nego u pšeničnom brašnu i brašnu najčešće korišćenih žita bez glutena kao što su kukuruzno, ovseno, pirinčano i heljdino. Antioksidativna aktivnost (AO) određena standardnim spektrofotometrijskim metodama (DPPH, ABTS) i elektrohemijskom metodom (HPMC) je takođe značajno viša. Identifikovana su i kvantifikovana pojedinačna polifenolna jedinjenja od kojih su najzastupljeniji hlorogena kiselina i dihidrokalkon florizin čiji je kardioprotektivni efekat poznat. Visok sadržaj DV i

polifenolnih jedinjenja kao nosilaca AO aktivnosti omogućava da se konzumiranjem APF-a, bilo kao posebnog dijetetskog preparata, bilo sadržanog u nekom prehrambenom proizvodu, nadoknadi njihov nedostatak u modernoj ishrani.

Termalne osobine i kinetički parametri degradacije uzoraka APF-a i AE određeni su metodama diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC) i termogravimetrijske analize (TGA). Temperatura staklastog prelaza (T_g) (28 - 38 °C) APF uzoraka je značajno iznad uobičajene temperature skladištenja što obezbeđuje njihovu produženu stabilnost, dok je T_g komercijalno dostupnog uzorka AE svega 21 °C. Kinetički parametri procesa termalne razgradnje, energija aktivacije (E) (82 do 115 KJ mol⁻¹), preeksponencijalni faktor (lnA) (24 do 19) i konstanta brzine termalne razgradnje pri temperaturi 200 °C (k200) (0,14 do 0,27) daju dodatni uvid u termalno ponašanje na povišenim temperaturama. Stabilnost svih uzoraka APF na temperaturi pečenja omogućava primenu proizvedenog brašna u konditorskoj i pekarskoj industriji. Uzorci APF-a su grupisani prema konstanti brzine (k200) pri čemu je primećeno da je brašno od tropa organski gajene jabuke termalno najstabilnije.

In vivo studija na laboratorijskim životinjama (CL57/6J) je nedvosmisleno potvrdila antidijabetogeni i antilipemični efekat brašna i ukazala na opravdanost njegove primene kao dijetetskog preparata i komponente funkcionalne hrane. Dokazano je da dodatak APF-a u masnu hranu sprečava povećanje nivoa triacilglicerola i glukoze, tj. poremećaj metabolizma, do kog dolazi usled konzumiranja masne hrane. Na osnovu rezultata *in vivo* studije određena je optimalna dnevna doza APF-a čijim bi se redovnim konzumiranjem regulisao metabolizam ugljenih hidrata i masti, tj. sprečila pojava metaboličkih poremećaja, pre svega dijabetesa i arterioskleroze, a posledično i kardiovaskularnih bolesti.

Takođe su analizirane tehno - funkcionalne karakteristike, bitne sa aspekta fiziološke funkcije i primene u prehrambenoj industriji. Brašno od tropa jabuke poseduju veći kapacitet vezivanja ulja i značajno veći kapacitet vezivanja vode u odnosu na pšenično i navedena brašna bezglutenskih žita. Uvid u tehnološke karakteristike ukazuje na široku primenljivost APF brašna u prehrambenoj industriji.

U ovom radu je ispitana mogućnost primene APF-a u konditorskoj industriji. U industrijskim uslovima je proizvedeno čajno pecivo sa APF-om fine ($< 300 \mu\text{m}$) i krupne ($< 1 \text{ mm}$) granulacije u udelu 25, 50 i 75 % u odnosu na pšenično brašno. Senzornom analizom je utvrđeno da je prihvatljivo zameniti do 50 % standardnog brašna APF-om. Krupnija granulacija brašna se pokazala boljom od fine, kako u smislu senzornih svojstava, tako i u smislu funkcionalnih karakteristika i stabilnosti. Tokom skladištenja od 12 meseci ukupni sadržaj polifenolnih supstanci i flavonoida se nije značajno promenio, a antioksidativna aktivnost je ostala na približno istom nivou. Čajno pecivo sa 50 % krupno mlevenog APF-a je imalo značajno poboljšana senzorna svojstva (ukus i miris jabuke, prhkost) i produženu stabilnost u odnosu na čajno pecivo sa fino mlevenim APF-om. Testom prihvatljivosti od strane potrošača u kome je učestvovalo 115 ispitanika, „ukupna prihvatljivost proizvoda“, „prihvatljivost teksture“ i „prihvatljivost ukusa“ su bodovani prosečnim ocenama iznad 6 ($6,2 \pm 1,8$) na hedonskoj skali (1 – 9), što ukazuje da se proizvod dopao ispitivanim potrošačima.

Čajno pecivo sa 50 % brašna od tropa jabuke ima visok sadržaj DV (oko 20 g DV u 100 grama), što ga svrstava u kategoriju funkcionalnih proizvoda, kao i dvostruko viši sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja, skoro sedam puta viši sadržaj flavonoida i četiri, odnosno sedam puta višu AO aktivnost određenu ABTS i DPPH testom u odnosu na standardno čajno pecivo proizvedeno bez dodatka APF-a.

Rezultati ove disertacije predstavljaju platformu za realizaciju projekta Fonda za inovacionu delatnost br. 1076 pod nazivom „Tehnološki postupak za industrijsko dobijanje višenamenskog bezglutenskog brašna od tropa jabuke sa visokim sadržajem dijetnih vlakna, antioksidativnim i antidijabetogenim dejstvom“ čiji je cilj komercijalizacija brašna od tropa jabuke kao samostalnog proizvoda i sirovine za proizvodnju funkcionalnih i dijetetskih proizvoda. Sredstvima ostvarenim u okviru ovog projekta je podneta međunarodna patentna prijava (PCT/RS2019/000019) čiji se zahtevi odnose na postupak dobijanja i primenu brašna od tropa jabuke u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji (Institut za opštu i fizičku hemiju, Beograd u kome radi doktorand je podneo patenu prijavu).

Ključne reči: trop od jabuke, dehidracija, termalna analiza, bezglutensko brašno, antioksidativna aktivnost, andijabetogeni efekat, dijetna vlakna, polifenolna jedinjenja, čajno pecivo

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Nauka o konzervisanju

UDK: 634.11+664.641.2(043.3)

THERMAL, CHEMICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF APPLE POMACE AND ITS POTENTIAL USE IN FOOD INDUSTRY

Abstract

The subject of this doctoral dissertation is an analysis of thermal, chemical and functional properties of the apple pomace flour - APF, produced in industrial conditions, as well as *in vivo* study of the APF's antidiabetogenic and antilipemic effects and examining the opportunities for its application in the confectionery industry.

Apple pomace, which remains as waste after the apples are squeezed during industrial juice production, was dried in industrial conditions. Pomace of different varieties of conventionally and organically grown apples was used. The pomace was dehydrated, immediately after the juice had been removed by squeezing. At a temperature not exceeding 55 °C, moisture content was decreased from 75 - 80 % to 4 - 8 % in 4 to 6 hours. The dehydrated pomace was milled, yielding stable and durable flour, with water activity of 0.2-0.4. Health, chemical and microbiological safety criteria for the produced flour were verified in line with the rulebooks in force.

Thermal, chemical and functional properties of five apple pomace flours and the most similar commercially available product, known in the US market under the name Apple Egg (AE), were analysed and compared.

Total hydrocarbon content, dietary fibres (DF), pectin and cellulose, mono- and disaccharides (fructose, glucose and sucrose), lipid, protein and mineral content were determined in all APF and AE samples. FT-IR spectra confirmed the predominant presence of lignocellulosic fibres in APF samples. Potassium, DF, total polyphenolic and flavonoid content were several times higher than those of wheat flour and the flour from the most commonly used gluten-free grains, such as corn, oats, rice and buckwheat flour. Antioxidative activity determined using standard spectrophotometric methods (DPPH, ABTS) and electrochemical methods (HPMC) was also significantly higher. Individual polyphenolics were identified and quantified, of which chlorogenic acid and hydrochalcones phloretin, with their well-known cardioprotective effects, were the

most predominant. High content of DFs and polyphenolics, as carriers of AO activity, allows the APF to be used to compensate for the lack of these components in the modern diet, whether alone or incorporated in a food product.

Thermal properties and kinetic parameters of APF and AE samples degradation were determined using differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA). The glass transition temperature (T_g) (28 – 38 °C) of the APF samples was considerably higher than the common storage temperature, ensuring their prolonged shelf-life, whereas the T_g of the commercially available sample AE was at a mere 21 °C. The kinetic parameters of thermal degradation, activation energy (E) (82 to 115 KJ mol⁻¹), pre-exponential factor (lnA) (24 to 19) and thermal degradation rate constant at 200 °C (k_{200}) (0.14 to 0.27) provide an additional insight into the thermal behaviour at higher temperatures. Stability of all APF samples at baking temperature allows for the use of the produced flour in confectionery and baking industry. APF samples were grouped according to the rate constant (k_{200}), with APF from organically grown apples being the most thermally stable.

An *in vivo* study on laboratory animals (CL57/6J) unequivocally confirmed the antidiabetogenic and antilipemic effect of the flour, indicating that its use as a dietary supplement and component in functional food would be justified. Adding APF to fat-rich foods prevented the increase of triacylglycerols and glucose levels, i.e. the metabolic disorder caused by the consumption of such food. Results of the *in vivo* study were used to determine the optimal daily dosage of APF; the regular consumption of this dose would regulate the carbohydrate and lipid metabolism, preventing metabolic disorders, primarily diabetes and atherosclerosis, and, consequentially, cardiovascular diseases.

Technical and functional characteristics important for the physiological function and use in the food industry were also analysed. Apple pomace flour had a higher oil absorption capacity and a significantly higher water absorption capacity compared to wheat and the aforementioned gluten-free flours. These technological properties indicated that APF could find a wide and diverse use in the food industry.

Within this dissertation, the possibility of using APF in the confectionery industry was examined. Tea biscuits were produced, in industrial conditions, using fine ($< 300 \mu\text{m}$) and coarse ($< 1 \text{ mm}$) granulated APF, in the share of 25, 50 and 75 % compared to wheat flour. Sensory analysis ascertained that it was acceptable to substitute up to 50 % of the standard flour with APF. Coarse flour granulation turned out to be better than fine granulation, both in sensory terms and in terms of functional properties and stability. During a 12-month storing period, the total polyphenolics and total flavonoid content had not undergone any significant changes, while AO activity remained at approximately the same level. Tea biscuits with up to 50 % of coarse-ground APF had significantly improved sensory properties (apple flavour and odor, crunchiness) and prolonged shelf-life. Using test for consumer acceptance, which included 115 persons who assessed the product, parameters such as “overall acceptability of the product”, “texture acceptability” and “flavour acceptability” scored average marks above 6 (6.2 ± 1.8) on a hedonic scale (1-9), indicating that the participating consumers liked the product.

Tea biscuits with 50 % of apple pomace flour have a high DF content ($\sim 20 \text{ g DF in } 100 \text{ g}$), which classifies them as a functional product, as well as double the content of total polyphenolic compounds, almost seven times higher content of flavonoids, and four or seven times higher AO activity determined by ABTS and DPPH tests, respectively, compared to the standard tea biscuits produced without added APF.

While working on this dissertation, a patent application has been submitted (at both national and international level), aimed at the method for production and use of apple pomace flour in pharmaceutical and food industry (Applicant: Institute for General and Physical Chemistry, Belgrade).

The results of this dissertation represent a platform to implement the project of the Innovation Fund no. 1076, entitled “Technological process for industrial production of a multi-purpose gluten-free fruit flour from apple pomace, with a high content of dietary fibres, antioxidative and antidiabetogenic effects”, the purpose of which is to commercialize apple pomace flour as a stand-alone product and as a raw material incorporated in the production of functional and dietetic food products.

Keywords: Apple pomace, dehydration, thermal analysis, gluten-free flour, antioxidative activity, antidiabetogenic effect, dietary fibre, polyphenolic compounds, tea biscuits

Scientific field: Biotechnical sciences

Close scientific field: The science of food preservation

UDK: 634.11+664.641.2(043.3)

Izjave zahvalnosti

Izražavam zahvalnost svom mentoru dr Predragu Vukosavljeviću, redovnom profesoru, na ukazanom poverenju i podršci.

Zahvaljujem se takođe svim članovima komisije na korisnim savetima i sugestijama.

Veliku zahvalnost dugujem dr Stanislavi Gorjanović, naučnom savetniku, jer je svojim nesebičnim savetima i znanjem učinila ovaj rad boljim.

Zahvaljujem se kolegama iz laboratorije za termalnu analizu, Instituta za opštu i fizičku hemiju, dr Sanji Ostojić, naučnom saradniku i dr Darku Miciću, naučnom saradniku, na nesebičnoj pomoći tokom izrade ove disertacije.

Zahvaljujem se dr Jovanki Laličić-Petronijević, vanrednom profesoru, na strpljenju i pomoći oko izvođenja senzorne analize.

Zahvaljujem se dr Tomislavu Tostiju, naučnom saradniku, na ukazanoj mogućnosti da se deo eksperimenata obavi na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Zahvaljujem se dr Ani Kalušević, naučnom saradniku Instituta za higijenu i tehnologiju mesa, na pomoći i savetima pri izradi dela eksperimenata.

Zahvaljujem se dr Slavici Ristić, naučnom saradniku, za sve sugestije i pomoć oko izvođenja in vivo studije.

Zahvaljujem se kompanijama:

„Fruvita“ iz Smedereva na donaciji sirovine za ovo istraživanje, a posebno hvala upućujem tehničkom direktoru Nebojši Stanojeviću,

“Drayer” iz Beograda, koja je omogućila sušenje tropa od jabuke u njihovim dehidratorima,

“Gold” iz Mladenovca u čijim pogonima je napravljeno čajno pecivo.

Zahvaljujem se svim kolegama iz Instituta za opštu i fizičku hemiju, gde je najveći deo eksperimentalnog dela rada obavljen, na razumevanju i podršci.

Ova disertacija je deo istraživanja u okviru projekta TR 31055, Ministarstava za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj, Republike Srbije.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DEO	6
2.1 TROP – SPOREDNI PROIZVOD IZ PROIZVODNJE SOKA OD JABUKA	6
2.1.1 <i>Struktura ploda jabuke</i>	6
2.1.2 <i>Dobijanje tropa iz proizvodnje soka od jabuka.....</i>	7
2.1.3 <i>Mogućnosti iskorišćenje tropa od jabuke.....</i>	11
2.2 BIOAKTIVNE KOMPONENTE TROPA OD JABUKE.....	14
2.2.1 <i>Polifenolna jedinjenja</i>	14
2.2.2 <i>Dijetna vlakna.....</i>	19
2.2.3 <i>Minerali.....</i>	22
2.3 TROP OD JABUKE KAO SIROVINA U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI	24
2.3.1 <i>Bezbednost tropa od jabuke</i>	24
2.3.2 <i>Sušenje tropa - priprema za upotrebu u prehrambenoj industriji.....</i>	25
2.3.3 <i>Primena tropa od jabuke u prehrambenoj industriji</i>	29
2.4 PRIMENA TERMALNE ANALIZE U ISPITIVANJU HRANE	32
2.4.1 <i>Termalna analize dehidrirane hrane</i>	34
2.4.2 <i>Staklasti prelaz i stabilnost dehidriranih materijala.....</i>	36
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	39
4. MATERIJALI I METODE	41
4.1 POLAZNI MATERIJAL.....	41
4.1.1 <i>Hemikalije</i>	41
4.1.2 <i>Dobijanje brašna od tropa jabuke</i>	41
4.1.3 <i>Uzimanje uzorka</i>	42
4.1.4 <i>Analiza zdravstvene ispravnosti</i>	43
4.2 HEMIJSKA I FIZIČKO-HEMIJSKA ANALIZA BRAŠNA OD TROPA JABUKE.....	43
4.2.1 <i>Određivanje hemijskog sastava i aktivnosti vode</i>	43
4.2.2 <i>Određivanje sadržaja ukupnih ugljenih hidrata, glukoze, fruktoze i saharoze</i>	43

4.2.3	Određivanje sadržaja ukupnih dijetnih vlakna	44
4.2.4	Određivanje sadržaja celuloze.....	44
4.2.5	Određivanje sadržaja pektina.....	44
4.2.6	Određivanje sadržaja makro i mikroelemenata.....	44
4.2.7	Određivanje sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja.....	45
4.2.8	Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida.....	45
4.2.9	Određivanje sposobnosti neutralizacije DPPH radikala	46
4.2.10	Određivanje sposobnosti neutralizacije ABTS radikala	46
4.2.11	Određivanje antioksidativne aktivnosti HPMC metodom	46
4.2.12	Identifikacija i određivanje sadržaja pojedinačnih polifenolnih jedinjenja HPLC metodom	47
4.2.13	Kvalitativna analiza Infracrvenom spektroskopijom sa Furijeovom transformacijom (FT-IR)	48
4.2.14	Ispitivanje termalnog ponašanja brašna od tropa jabuke diferencijalno skenirajućom kalorimetrijom (DSC).....	48
4.2.15	Ispitivanje termalnog ponašanja brašna od tropa jabuke termogravimetrijskom analizom (TGA).....	48
4.2.16	Određivanje kinetike degradacije brašna od tropa jabuke	49
4.3	ISPITIVANJE UTICAJA BRAŠNA OD TROPA JABUKE NA METABOLIZAM GLUKOZE I LIPIDA - <i>IN VIVO</i> ..	50
4.3.1	Opis eksperimenta	50
4.3.2	Ispitivanje akutne oralne toksičnosti.....	51
4.3.3	Biohemijska analiza seruma	51
4.4	ODREĐIVANJE TEHNO-FUNKCIONALNIH KARAKTERISTIKA BRAŠNA OD TROPA JABUKE	51
4.4.1	Određivanje veličina čestica	51
4.4.2	Određivanje nasipne i tapkane gustine	52
4.4.3	Određivanje kapaciteta vezivanja vode.....	52
4.4.4	Određivanje kapaciteta vezivanja ulja	52
4.4.5	Određivanje kapaciteta bubrenja.....	52
4.4.6	Određivanje kapaciteta hidriranja	53
4.5	PROIZVODNJA I ANALIZA ČAJNOG PECIVA.....	53
4.5.1	Proizvodnja čajnog peciva sa različitim udelima brašna od tropa jabuke.....	53
4.5.2	Određivanje ukupnog sadržaja polifenolnih jedinjenja i antioksidativna aktivnost čajnog peciva.....	54
4.6	SENZORNA ANALIZA OBOGAĆENOG ČAJNOG PECIVA.....	54
4.6.1	Ispitivanje senzornog kvaliteta metodom bodovanja	54
4.6.2	Ispitivanje prihvatljivosti od strane potrošača hedonskim testom.....	54

4.7 STATISTIČKA ANALIZA	55
5. REZULTATI I DISKUSIJA.....	56
5.1 DOBIJANJE BRAŠNA OD TROPA JABUKE	56
5.1.1 Prelimarno određivanje vremena dehidracije na osnovu temperature staklastog prelaza, sadržaja vlage i aktivnosti vode	56
5.1.2 Postupak dobijanja brašna od tropa jabuke	57
5.2 HEMIJSKE I FIZIČKO-HEMIJSKE KARAKTERISTIKE BRAŠNA TROPA OD JABUKE	61
5.2.1 Hemijski sastav i aktivnost vode.....	61
5.2.2 Sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja i antioksidativna aktivnost	65
5.2.3 Sadržaj pojedinačnih polifenolnih jedinjenja.....	67
5.2.4 Korelacija između sadržaja ukupnih i pojedinačnih polifenala i antioksidativne aktivnosti	71
5.2.5 FT-IR spektroskopska analiza	74
5.2.6 Termalna karakterizacija DSC metodom	76
5.2.7 Termogravimetrijska analiza.....	78
5.2.8 Kinetika termalne degradacije	81
5.3 EFEKAT ISHRANE OBOGAĆENE BRAŠNOM OD TROPA JABUKE NA REGULACIJU METABOLIZMA	81
5.3.1 Potvrda netoksičnosti brašna od tropa jabuke.....	87
5.3.2 Efikasnost brašna tropa od jabuke kao dijetetskog preparata	87
5.4 TEHNOLOŠKA SVOJSTVA BRAŠNA OD TROPA JABUKE.....	90
5.4.1 Raspodela veličine čestica, nasipna i tapkana gustina.....	90
5.4.2 Sposobnost vezivanja vode i ulja, kapacitet bubrenja i hidratacije.....	91
5.5 KARAKTERIZACIJA ČAJNOG PECIVA OBOGAĆENOG BRAŠNOM OD TROPA JABUKE.....	94
5.5.1 Sadržaj i aktivnosti polifenolnih jedinjenja čajnog peciva neposredno nakon proizvodnje	94
5.5.2 Sadržaj i aktivnosti polifenolnih jedinjenja čajnog peciva nakon skladištenja od godinu dana	96
5.6 SENZORNA OCENA ČAJNOG PECIVA SA DODATKOM BRAŠNA OD TROPA JABUKE	97
5.6.1 Senzorna analiza čajnog peciva nakon proizvodnje	97
5.6.2 Senzorna analiza čajnog peciva nakon skladištenja od godinu dana	99
5.6.3 Rezultati ispitivanja prihvatljivosti od strane potrošača	102
5.7 MOGUĆNOSTI KOMERCIJALIZACIJE BRAŠNA OD TROPA JABUKE	105

6. ZAKLJUČAK	106
7. LITERATURA	110
BIOGRAFIJA.....	131
PRILOZI	132

1. UVOD

Jabuke su najzastupljenije voće na globalnom nivou. Svetska proizvodnja je u 2017 i 2018. godini iznosila 77 miliona tona (United States Department of Agriculture, 2018). Prema podacima Republičkog zavoda za statistiku godišnja proizvodnja jabuka u Srbiji je u 2018. godini iznosila oko 460 hiljada tona (Republički zavod za Stat. Srb., 2018). Oko 15 % ukupno proizvedene količine jabuka se koristi za proizvodnju pića, uglavnom soka i fermentisanih napitaka. Otpad iz ovih procesa poznat kao trop od jabuke čini između 20 i 30 % početne težine jabuke, a sastoji se od pokožice, pulpe, semenki i peteljke.

Bezbednost tropa od jabuke (eng. Apple pomace - AP) i njegov pozitivan uticaj na zdravlje su pokazani, a sastav je detaljno analiziran (Skinner et al., 2018). U AP ostaje najveći deo dijetnih vlakana (DV) i polifenolnih jedinjenja jabuke. Dijetna vlakna jabuke (rastvorljivi pektini, β -glukani, galaktomananske gume i veliki raspon nesvarljivih oligosaharida uključujući inulin, kao i nerastvorni lignin, celulozu i hemiceluloze) imaju antioksidativnu, antitumorsku i hepatoprotektivnu aktivnost (Sun et al., 2017; Yangilar, 2013). Zbog vezanih bioaktivnih jedinjenja (Wolfe & Liu, 2003) i odsustva anti-nutritivnih faktora kao što je fitinska kiselina (Masoodi & Chauman, 2002) DV pokožice jabuke se smatraju nutritivno vrednijim od DV cerealijskih. Sadržaj polifenolnih jedinjenja je visok. Zastupljeni su katehini, procijanidini, floridin, floretinski glikozidi, kafeična i hlorogena kiselina, kvercetin i cijanidin glikozidi (Cao et al., 2009; Četković et al., 2008; Rana et al., 2014; Sánchez-Rabaneda et al., 2004). Potvrđen je njihov antioksidativni, antiproliferativni, antiinflamatorni, antidijabetogeni i kardioprotektivni efekat (Rana & Bhushan, 2016). S obzirom na visok sadržaj DV i antioksidanasa i odsustvo glutena AP se može koristiti kao sastojak standardnih i bezglutenskih prehrambenih proizvoda sa dodatnom hranljivom vrednošću (Reis et al., 2014). Važno je istaći i da prisustvo optimalnog udela AP pozitivno utiče na senzorna svojstva obogaćenih proizvoda.

Bez obzira na visoku nutritivnu vrednost i neosporne zdravstvene efekte ovaj sporedni proizvod se još uvek tretira kao otpad i vrlo često završava na deponijama. U našoj zemlji se trop najčešće koristi kao stočna hrana, dok se u svetu upotrebljava za proizvodnju pektina, kao komponenta stočne hrane i hrane za kućne ljubimce, energent u

kotlarnicama (posle sušenja i peletiranja), biološko đubrivo, supstrat za mikrobiološke sinteze, proizvodnju alkohola, energije (biogas) itd.

Zbog visokog sadržaja šećera i vode AP je podložan kvarenju i mikrobiološkoj kontaminaciji. Da bi se trop učinio stabilnim i trajnim proizvodom, a troškovi transporta i skladištenja smanjili najčešće se primenjuje sušenje.

Od postupka sušenja zavise sadržaj i aktivnost polifenola, struktura DV a posledično i funkcionalna svojstva suvog tropa, kapacitet bubrenja, vezivanje vode i ulja kao i senzorne osobine. Do sada su na laboratorijskom nivou korišćene različite tehnike uklanjanje vlage iz tropa od jabuke. Karakteristike tropa od jabuke su proučavane upravo u cilju razvoja efikasnog sistema sušenja i dehidratacije (Shalini, 2010). Sušenje u struji usmerenog pregrejanog vazduha (~ 110 °C) koji velikom brzinom prelazi preko materijala smanjuje sadržaj vlage AP sa 80 % na 4,5 % za 3 h, sušenje pri ubrzanoj cirkulaciji vazduha (40 °C) na 2,2 % za 24 časa, a sušenje liofilizacijom na 2,3 % za ~ 60 h (Jung et al., 2015). Najviši sadržaj ukupnih polifenola zabeležen je u liofilizovanom AP (Rana & Bhushan, 2016). U smislu očuvanja sadržaja i aktivnosti bioaktivnih jedinjenja sušenje liofilizacijom svakako ima prednost u odnosu na konvencionalno i vakuum sušenje, kao i sušenje ambijentalnim vazduhom (Tambunan et al., 2001; Tseng & Zhao, 2012). Međutim, zbog dugotrajnosti i visokih troškova (Ratti, 2001) liofilizacija se retko koristi za sušenje tropa na industrijskom nivou. Trop jabuke se u industriji uglavnom suši na povišenim temperaturama na kojima dolazi do smanjenja njegove nutritivne vrednosti. Prema tome, interes za razvoj ekonomski isplative tehnologije sušenja kojom bi se očuvala nutritivna i funkcionalna svojstva AP još uvek postoji. Trop osušen primenom ovakve tehnologije neophodno je okarakterisati u smislu sadržaja i aktivnosti bioaktivnih komponenti, efekta na metabolizam i tehnoloških osobina.

Ispitivanje termalnih svojstva osušenog tropa je posebno važno jer daje uvid u njegovo ponašanje na temperaturama skladištenja i termalnog tretmana u prehrambenoj industriji. Termalna analiza pruža korisne informacije o stabilnosti proizvoda, optimalnoj temperaturi skladištenja i trajnosti, kao i uvid u promene do kojih dolazi tokom obrade na povišenim temperaturama (Parniakov et al., 2017). Trajnost i stabilnost suvih

proizvoda se može povezati sa temperaturom staklastog prelaza (T_g) na kojoj usled promene molekularne pokretljivosti dolazi do prelaska iz staklastog u žilavo tj. gumasto stanje (Balasubramanian et al., 2016; Roos, 2008). Tehnološke operacije kao što su sušenje, zamrzavanje i ekstruzija utiču na T_g procesirane hrane. Parametri kvaliteta poput teksture, ukusa i aktivnosti enzima u namirnicama sa niskom vlagom, a samim tim i rok trajanja, se mogu dovesti u vezu sa T_g (Bhandari & Howes, 1999; Wang & Truong, 2016). Termogravimetrijska analiza (TGA) je koristan alat za karakterizaciju termalne razgradnje (količina i brzina gubitka mase) i praćenje stabilnosti materijala tokom vremena (Hillier et al., 2010; Liu et al., 2010).

Suvi AP čija su nutritivna i funkcionalna svojstva očuvana može se koristiti kako u dijetetici, tako i u prehrambenoj industriji. U naučnoj literaturi je pokazana mogućnost zamene dela brašna tropom u pekarskim i konditorskim proizvodima (Carson et al., 1994; Jung et al., 2015; Masoodi & Chauhan, 1998; Mir et al., 2017; Reis et al., 2014; Saeed et al., 2015), ali su ovakvi proizvodi na tržištu retki. Pokazana je takođe i primena tropa u mlečnim i mesnim proizvodima. Međutim, većina do sada sprovedenih naučnih studija bila je usmerena na sastav, *in vitro* i *in vivo* efekat i primenu svežeg AP ili AP osušenog na laboratorijskom nivou, dok su istraživanja industrijski osušenog AP znato ređa (Sudha et al., 2007).

Postoji više razloga za korišćenje suvog tropa kao sastojka obogaćene hrane. Pre svega, prisustvo tropa omogućava povećanje sadržaja hranljivih materija u namirnicama, posebno DV i polifenolnih jedinjenja čiji nedostatak u savremenoj ishrani dovodi do pojave gojaznosti, dijabetesa i drugih metaboličkih poremećaja. Smanjenjem ili potpunom eliminacijom prisustva glutena bi se obezbedilo proširenje palete proizvoda namenjenih osobama intolerantnim na gluten ili obolelim od celijakije. Takođe bi se omogućilo produženje roka trajnosti, kao i poboljšanje senzornih osobina obogaćenih proizvoda. Pozitivan uticaj na senzorna svojstva je naročito bitan kad su u pitanju bezglutenski proizvodi. Najzad, ukoliko bi se tehnologija proizvodnje soka od jabuka učinila bezotpadnom smanjio bi se pritisak na životnu sredinu i ostvario dodatni prihod.

Povećana svest o značaju zaštite životne sredine poslednjih godina dovela je do promene zakonodavstva i uvođenja novih propisa, kao i taksu za nepropisno upravljanje različitim vrstama otpada. Akcioni plan Evropske unije (EU) za cirkularnu ekonomiju predviđa smanjenje, ponovnu upotrebu i recikliranje materijala i energije, što ima za cilj povećanje vrednosti i posledično, veka trajanja proizvoda, materijala i resursa (European Commission, 2019). U svetlu koncepta cirkularne ekonomije i proizvodnje bez otpada, jedna od smernica razvoja prehrambene industrije je iskorišćenje otpadnih sirovina kao izvora funkcionalnih sastojaka. Sporedni proizvodi sadrže polisaharide, organske kiseline, proteine, polifenolna i druga jedinjenja, koja bi se bez velikih dodatnih troškova proizvodnje mogla iskoristiti u prehrambenoj industriji kao prirodni aditivi. Ovakav pristup bi omogućio razvoj proizvoda sa povećanom hranljivom vrednošću, pozitivnim efektima na zdravlje, dužim rokom trajanja i povoljnim senzornim osobinama (Varzakas et al., 2016; Younas et al., 2015).

Glavni cilj ove doktorske disertacije je da se na industrijskom nivou primenom prilagođenog postupka dehidriše trop i dobije stabilno i trajno brašno od tropa jabuke (eng. Apple pomace flour - APF). Niska aktivnost vode kao i niži sadržaj šećera nego u celoj jabuci omogućio je mlevenje suvog tropa bez slepljivanja tj. dobijanje stabilnog i trajnog brašna jabuke koje nije higroskopno, ne zgrudva se tokom stajanja i ima dobre senzorne osobine, visoku nutritivnu vrednost, antioksidativna, antidijabetogena i antilipemična svojstva.

Dobijeno APF brašno je okarakterisano u smislu:

- hemijskog sastava, fizičko-hemijskih i tehnoloških svojstava
- termalnih karakteristika, odnosno ponašanja na temperaturi skladištenja kao i temperaturama koje se uobičajeno primenjuju u konditorskoj i pekarskoj industriji
- efekta na metabolizam glukoze i ugljenih hidrata
- preporučene dnevne doze APF-a kao dijetetskog preparata (*in vivo* studija).

Izvršeno je poređenje termalnih karakteristika, sastava, fizičko-hemijskih i tehnoloških parametara APF-a i najsličnijeg komercijalno dostupnog proizvoda na bazi tropa.

Komercijalno dostupna brašna dobijena sušenjem cele jabuke, prah pokožice jabuke i dijetna vlakna izolovana iz tropa jabuke nisu uzeti u obzir za poređenje jer su bitno drugačijeg sastava.

Takođe, poseban cilj je bio da se na industrijskom nivou krupnim i finim APF-om zameni što veći udeo pšeničnog brašna (do 75 %) u standardnom proizvodu u tipu čajnog peciva. Dobijeno čajno pecivo sa 25, 50 i 75 % APF-a krupne (< 1mm) i fine (< 300 µm) granulacije je okarakterisano u smislu:

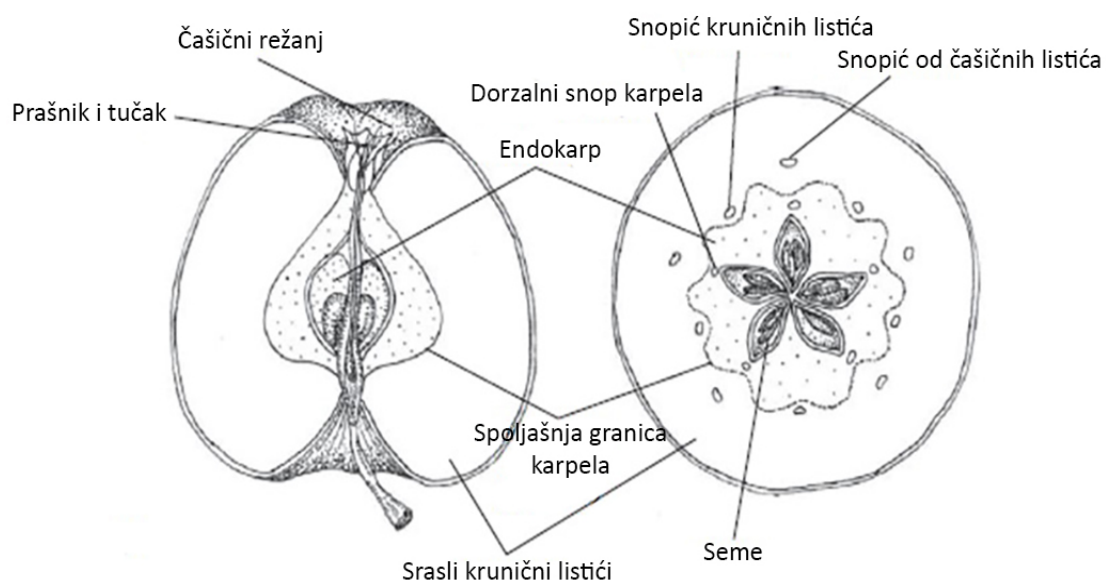
- sadržaja fenola i flavonoida i AO aktivnosti, odnosno povećanja istih u odnosu na kontrolni uzorak, neposredno nakon proizvodnje i nakon stajanja od 12 meseci
- senzornih svojstva, neposredno nakon proizvodnje i nakon stajanja od 12 meseci
- prihvatljivosti od strane potrošača (hedonski test).

2. TEORIJSKI DEO

2.1 TROP – SPOREDNI PROIZVOD IZ PROIZVODNJE SOKA OD JABUKA

2.1.1 Struktura ploda jabuke

Jabuka (*Malus sp.*) spada u voće koje se najčešće koristi u industriji za preradu voća i povrća. Jabuka pripada familiji jabučastog voća, sa jestivim korteksom koji se razvija iz tkiva cvetne cevi (fuzionirane baze čašice, korola i prašnika). Deoba ćelija se završava početkom vegetacije i dalji rast je posledica proširenja parenhimskih ćelija i povećanja veličine međućelijskih prostora. Ćelije parenhima i međućelijski prostori su labavo raspoređeni u strukturu sličnu mreži koja je nehomogena i anizotropna. Zrele ćelije mogu biti 50 - 500 μm u prečniku i međusobno su povezane vazдушnim prostorima od 210 - 350 μm što obuhvata 20 - 30 % zapremine tkiva. Ćelijski zid jabuke sastoji se od celuloznih mikrofibrila labavo povezanih i ugrađenih u amorfnu matricu polisaharida uključujući pektinske materije. Ćelijski zidovi i interlamelarni sloj čini 1 - 3 % težine sveže jabuke i strukturi daju čvrstinu. Hemijske promene u pektinskim materijama su usko povezane s omekšavanjem i promenama u strukturi jabuke (Lapsley et al., 1992).

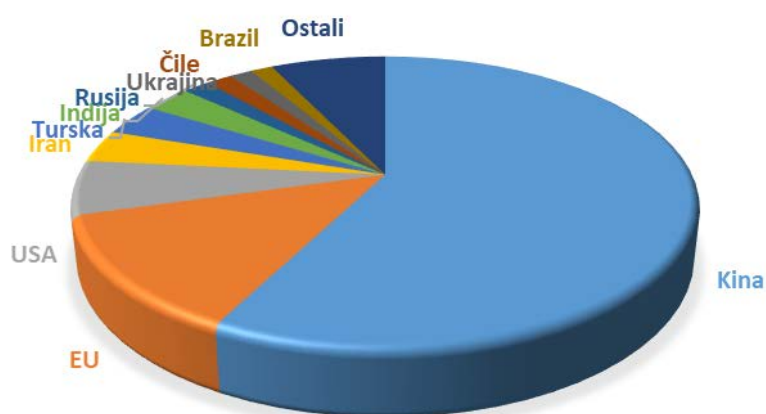


Slika 1. Struktura ploda jabuke (Barclay, 2015)

Na slici 1. je prikazana struktura ploda jabuke (Barclay, 2015). Postoji na stotine sorti jabuka, ali samo 20 sorti ima komercijalni značaj. Više od 90 % svetske proizvodnje zastupljeno je sa 14 sorti i samo pet od njih čine najveći deo svetske proizvodnje jabuka: *Delicious, Golden Delicious, McIntosh, Rome Beauti i Granny Smith*. Novije sorte postaju sve prisutnije na tržištu. Mnoge nove komercijalne sorte su crveni sojevi primarnih kultivara. Postoji široka raznolikost njihova karakteristika. Na primer, *Gala* sazreva za 100 dana ili manje dok sorti *Ladi Williams* treba više od 200 dana bez mraza da sazri (Bates et al., 2001).

2.1.2 Dobijanje tropa iz proizvodnje soka od jabuka

U sezoni 2017/2018. godina svetska proizvodnja jabuka je iznosila oko 77 miliona tona (United States Department of Agriculture, 2018). Najveći proizvođač bila je Kina sa 44,5, EU 10,021, USA 4,653, Iran 2,8, Turska 2,75, Indija 2,3, Rusija 1,277, Čile 1,27, Ukrajina 1,099, Brazil 1,049, ostali 5,630 mil.tona (slika 2.)



Slika 2. Proizvodnja jabuka u svetu u sezoni 2017/2018 godina

Od ukupne svetske proizvodnje jabuka oko 15 % se iskoristi za proizvodnju soka i fermentisanih napitaka, a najveći proizvođači su Kina i Poljska.

Sokovi su po fizičkim karakteristikama specifična vrsta proizvoda, a po hemijskom sastavu se za njih kaže da su „ceđeno voće“. Smatra se da je prva industrijska proizvodnja soka počela u Švajcarskoj sa sokom od jabuke u devetnaestom veku (Tressler & Maynard, 1954). Interesovanje za sporedni proizvod koji nastaje tokom proizvodnje soka

od jabuka (trop) se javlja još početkom dvadesetog veka (Bell, 1920) i ne prestaje do danas (Skinner et al., 2018).

Sok je u najopštijem smislu definisan kao sadržaj tečnosti koja se može ekstrahovati iz ćelija ili tkiva neke biljke. Iako se većina sokova dobija ceđenjem celog ili usitnjenog voća, postoje neki plodovi gde to nije slučaj. Na primer, presovanje ljuštenog manga daje malo soka, čak iako je pulpa usitnjena. Nastaje gusti pire krajnji rezultat koji se ne može razrediti vodom da bi se dobio sok. Nasuprot tome, iz usitnjenih jabuka se lako oslobađa sok (Bates et al., 2001).



(a)

(b)



(c)

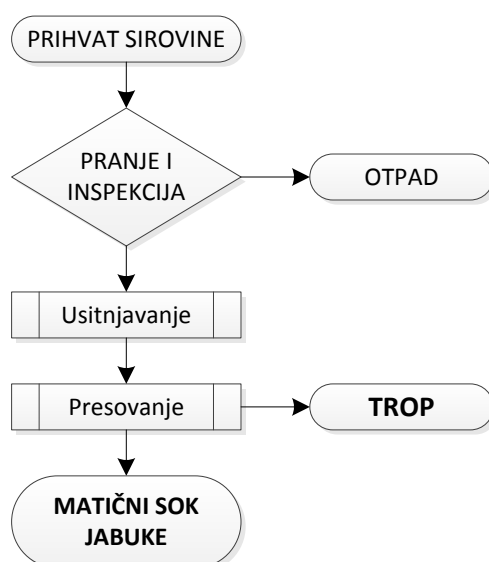
(d)

Slika 3. Inspekcija i pranje jabuka za proizvodnju soka (a), presovanje (b), dobijeni matični sok (c) i trop jabuka (d) u fabrici „Fruvita d.o.o.“, Lunjevac, Smederevo

Prema Pravilniku o voćnim sokovima i određenim srodnim proizvodima namenjenim za ljudsku upotrebu („Službeni glasnik RS“, br 103/2018), voćni sok se definiše kao proizvod

koji nije fermentisao, ali može da fermentiše, a koji se dobija od jestivih delova jedne ili više vrsta voća pomešanih zajedno, koje je zdravo, zrelo, sveže ili ohlađeno, odnosno zamrznuto. Boja, aroma i ukus voćnog soka treba da bude karakterističan za vrstu voća od koga je voćni sok proizveden. Sok može biti kašast, mutan ili bistar. Koncentrovan sok može kasnije biti rekonstituisan sa vodom koja je pogodna za održavanje osnovnog sastava i faktora kvaliteta soka. Dodavanje šećera ili kiselina može biti dozvoljeno, ali mora biti usvojeno u lokalnom standardu.

Najviše korišćeni proizvodi od jabuka su sok od jabuke (bistri, mutni i kašasti), fermentisani sokovi (cideri) i sirće. Mutni sok od jabuke ima viši sadržaj pektina i polifenola od bistrog soka od jabuke, ali mnogo niži sadržaj pektina i polifenola u poređenju sa celim jabukama (Ravn-Haren et al., 2013).



Slika 4. Šema dobijanja tropa od jabuka u pogonu fabrike za proizvodnju sokova „Fruvita d.o.o.“, Lunjevac, Smederevo

Tokom tehnološkog procesa ekstrakcije soka iz jabuka (ceđenje, presovanje), do 35 % polazne sirovine predstavlja otpadni produkt koji se naziva jabučni trop (eng. Apple Pomace – AP) (Kumar & Sharma, 2017). Jabučni trop je heterogena mešavina koja se sastoji od pokožice i delova pulpe (70 - 76 %), semenke (2,2 - 3,3 %), peteljke (0,4 - 0,9 %) (Carson et al., 1994). Na slici 3 prikazane su fotografije nekih od postupaka, a na slici

4 šema proizvodnje mutnog soka i dobijanje sporednog proizvoda tropa u fabrici za proizvodnju sokova „Fruvita d.o.o.“, Lunjevac, Smederevo.

Tabela 1. Poređenje sastava celih jabuka i tropa od jabuke (Bhushan et al., 2008; Skinner et al., 2018))

<i>Komponente</i>	<i>Cela jabuka</i>	<i>Trop od jabuke</i>
<i>Ukupna DV (%)</i>	2,1-2,6	4,4-47,3
<i>Nerastvorana DV (%)</i>	1,54	33,8-60,0
<i>Rastvorana DV (%)</i>	0,67	13,5-14,6
<i>Celuloza (%)</i>	no	43,6
<i>Hemiceluloza (%)</i>	no	24,4
<i>Lignin (%)</i>	no	20,4
<i>Pektin (%)</i>	0,71-0,93	3,3-13,3
<i>Ukupni ugljeni hidrati (%)</i>	13,81	44,5-57,4
<i>Fruktoza (%)</i>	5,8-6,0	44,7
<i>Glukoza (%)</i>	2,4-2,5	18,1-18,3
<i>Proteini (%)</i>	0,24-0,28	2,7-5,3
<i>Lipidi (%)</i>	0,16-0,18	1,1-3,6
<i>Natrijum (mg/100g)</i>	0,9-1,1	185,3
<i>Kalijum (mg/100g)</i>	104,8-109,2	398,4-880,2
<i>Kalcijum (mg/100g)</i>	5,7-6,3	55,6-92,7
<i>Fosfor (mg/100g)</i>	10,7-11,3	64,9-70,4
<i>Magnezijum (mg/100g)</i>	4,9-5,1	18,5-333,5
<i>Gvožđe (mg/100g)</i>	0,11-0,13	2,9-3,5
<i>Cink (mg/100g)</i>	0,0036-0,0044	1,4
<i>Bakar (mg/100g)</i>	0,026-0,028	0,1
<i>Mangan (mg/100g)</i>	0,033-0,037	0,4-0,8

no-nije određeno

Jabučni trop čine ugljeni hidrati, pektin, dijetna vlakna (DV), prosti šećeri (glukoza, fruktoza i saharoza), minerali, proteini, vitamini i polifenoli i kao takav je dobar izvor dragocenih nutrijenata vrednih da budu iskorišćeni (Mirabella et al., 2014).

Sastav jabučnog tropa varira u zavisnosti od sorte jabuka i od vrste tehnološkog procesa koji se koristi prilikom ekstrakcije soka (Vendruscolo et al., 2008). Uporedni pregled makro- i mikronutritijenata u svežoj jabuci i u tropu od jabuke prikazan je u tabeli 1.

Upotreba ovog nutritivno vrednog sporednog proizvoda predstavlja imperativ održivog upravljanja sa aspekta maksimalnog iskorišćenja procesa proizvodnje soka od jabuka.

2.1.3 Mogućnosti iskorišćenje tropa od jabuke

Mnogi načini za iskorišćenje tropa od jabuka su prikazani u literaturi (Bhushan et al., 2008; Dhillon et al., 2013; Haghighi & Rezaei, 2013; May, 1990; Nawirska & Kwaśniewska, 2005; Shalini & Gupta, 2010). Trop od jabuke se može koristiti direktno kao komponenta hrane za životinje, kompost, izvor DV u prehrambenoj industriji, kao supstrat za mikrobiološku proizvodnju karboksilnih kiselina, enzima, biogoriva, biopolimera, za direktnu ekstrakciju bioaktivnih jedinjenja, kao što su antioksidansi, i za dobijanje pektina (tabela 2).

Tabela 2. Upotreba tropa od jabuke

<i>Primena</i>	<i>Primer</i>	<i>Literatura</i>
<i>Direktna upotreba¹</i>	Hrana za životinje, izvor dijetnih vlakana u prehrambenim proizvodima	(Ajila et al., 2012; Ferreira et al., 2013; Masoodi & Chauman, 2002)
<i>Ekstrakcija bioaktivnih jedinjenja</i>	Dijetna vlakna, antioksidanti, pektini	(Dhillon et al., 2013; Figuerola et al., 2005; Schieber et al., 2003)
<i>Proizvodi dobijeni fermentacijom</i>	Organske kiseline, etanol, arome, pigmenti, enzimi, polisaharidi	(Bhushan et al., 2008; Dhillon et al., 2011; Sun et al., 2009)
<i>Proizvodnja goriva</i>	Biogas, etanol	(Pham et al., 2015)
<i>Substrat za gajenje jestivih gljiva</i>	Šitake i bukovača	(Worrall & Yang, 1992)

¹AP se za direktnu upotrebu mora osušiti prethodno, osim za kompostiranje

Fermentacija (solid state fermentation) je široko primenjena za proizvodnju organskih kiselina, enzima i drugih biotehnoloških proizvoda (Brijwani et al., 2010). Agroindustrijski otpad se generalno smatra najboljim supstratom za procese fermentacije, posebno za proizvodnju enzima. Prisustvo lignina i celuloze/hemiceluloze deluje kao prirodni induktor, a većina ovog otpada je bogata šećerima te promoviše rast mikroorganizama zbog čega je proces ekonomičniji posebno za celulo- i lignolitičke enzime (Oberoi et al., 2010). Prednosti tropa jabuke kao supstrata su: visoki sadržaj polifenola i polisaharida (posebno celuloze, skroba i hemiceluloze), prisustvo mono-, di- i oligosaharida, limunske i maleične kiseline koje metabolišu mikroorganizmi, bogatstvo vitaminima i jonima minerala koji bi mogli smanjiti cenu hranjive suplementacije za fermentacione medije.

Na tržištu postoji niz proizvoda sa dodatkom tropa od jabuke za kućne ljubimce, uglavnom u obliku različitih vrsta krepera, dok su komercijalno dostupni proizvodi namenjeni ljudima retki. Trop se koristi kao dodatak čajevima. Na slici 5 prikazano je pakovanje čaja proizvođača „Heath and Heather“ (Velika Britanija) koji sadrži 35 % organskog tropa od jabuke (<https://www.heathandheather.co.uk/about/>).



Slika 5. Čaj sa dodatkom tropa od jabuke, (Izvor: <https://cdn.shopify.com/s/files/1/0863/6984/products/6f678db3-e6d8-4c25-b1db-dc80e55ff662.jpg?v=1537208172>, preuzeto 10.05.2019.)

Postoje takođe i komercijalno dostupni prahovi na bazi tropa ali su i ovakvi proizvodi retki u odnosu na prahove ili brašna od celog ploda jabuke. U svetu se brašno od jabuke (Apple flour – proizvođač Natures Earthly choice USA, Apple flour - Hearthy food USA,

Apple flour - Anti grain USA) najčešće dobija postupkom koji podrazumeva drobljenje (dezintegraciju) ploda, sušenje u bubanj sušarama na visokim temperaturama i mlevenje. Komercijalno su dostupni i prahovi pokožice (Apple peel powder, Naturevibe Botanicals, Indija) i dijetna vlakana u prahu, izolovana iz jabuke ili tropa (Apple fibre, proizvođač Nature's Goodness, Australija), slika 6.



Slika 6. Proizvodi na svetskom tržištu, brašna od jabuke, DV jabuke, prah od pokožice jabuke i prah od tropa jabuke koji se reklamira kao zamena za jaja

(https://images-na.ssl-images-amazon.com/images/I/81iQmQ61BEL_SX522.jpg,

<https://images-na.ssl-images-amazon.com/images/I/41Avfvj889L.jpg>)

https://images-na.ssl-images-amazon.com/images/I/81D0mPrlqkL_SY679.jpg,

https://gd.image-gmkt.com/NATURE-S-GOODNESS-APPLE-FIBRE-POWDER-100G/li/045/871/837871045.g_400-w_g.jpg,

<https://images-na.ssl-images-amazon.com/images/I/51%2BpZswKLBL.jpg>

https://images-na.ssl-images-amazon.com/images/I/61MXcnnx2hL_SX522.jpg), preuzeto 10.05.2019.

Proizvod dobijen od tropa jabuka koji se prodaje na američkom tržištu i reklamira se kao zamena za jaja deklarisan je sa dodatkom pektina (Apple egg-Anti grain). Nedavno je u Australiji patentiran postupak za dobijanje visokoproteinskog brašna od različitog agroindustrijskog otpada, između ostalog i od tropa jabuke (Patent No. 20180146688,

2018). Postupak se zasniva na fermentaciji. Dobijeno brašno se u nutritivnom i senzornom smislu drastično razlikuje od polazne sirovine.

2.2 BIOAKTIVNE KOMPONENTE TROPA OD JABUKE

2.2.1 Polifenolna jedinjenja

Polifenoli su najzastupljenija grupa prirodnih antioksidanasa koji se intenzivno istražuju u novijoj naučnoj literaturi. Ova jedinjenja sadrže bar jedan aromatični prsten sa jednom ili više vezanih hidroksilnih grupa. Postojanje velikog broja struktura polifenola sa promenljivom stehiometrijom omogućava stvaranje različitih kompleksnih glikozida i polimera (više od 10000 različitih jedinjenja). Većina polifenola je rastvorljiva u vodi i u glikozidnom obliku se nalazi u vakuolama, dok je manji deo lipofilan (flavoni, flavonoli, metil estri) i nalaze se u epidermisu biljaka (Saltveit, 2017).

Kao prirodni izvori polifenolnih jedinjenja u literaturi se najčešće pominje aromatično, začinsko i lekovito bilje, ali i voće, povrće, seme uljarica, žita, brojni životinjski i mikrobiološki proizvodi (Nacz & Shahidi, 2004). Pozitivni efekti hrane i pića na zdravlje zavise i od prisustva antioksidanasa (Abuajah et al., 2015; Gazalli, 2014; Le Bourvellec et al., 2011; Parisi et al., 2013; Saura-Calixto, 2011).

Polifenolna jedinjenja deluju kao redukujući agensi, hvatači atomskog nascentnog kiseonika, donori vodonika, a imaju i osobine heliranja metala (Rice-Evans et al., 1996). Smatra se da je antioksidativna aktivnost polifenolnih jedinjenja prvenstveno rezultat njihove sposobnosti da budu donori vodonika slobodnim radikalima, nakon čega nastaju manje reaktivni fenoksil radikali: $\text{Ph-OH} + \text{ROO}^\cdot \rightarrow \text{Ph-O}^\cdot + \text{ROOH}$. Iako prisutni u malim koncentracijama u substratu, antioksidansi mogu da odlože, uspori ili spreče delovanje nestabilnih slobodnih radikala.

U neoštećenim biljnim tkivima polifenoli su uglavnom vezani za ćelijski zid dok su polifenoloksidaze (PPO) smeštene unutar vakuola. Usled narušavanja ćelijske strukture tokom primenjenih procesa prerade kao što su mlevenje, ceđenje, ili termalni tretman, PPO i polifenoli dolaze u kontakt (González-Aguilar et al., 2017). Interakcije između intracelularnih polifenola i zidova biljnih ćelija su predmet intenzivnih istraživanja jer od

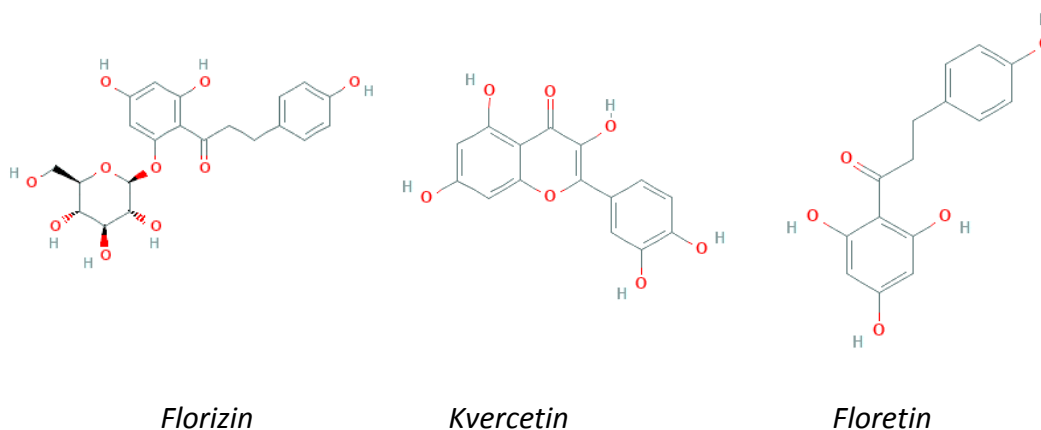
njih zavisi bioraspoloživost polifenola, njihov funkcionalni i zdravstveni efekat. Izotermalnom titracijom kalorimetrijom mogu se ispitati ove specifične interakcije, kvantifikovati interakcije između ćelijskih zidova i polifenola i proceniti kvalitet finalnog proizvoda (Renard et al., 2017).

Jabuke predstavljaju važan izvor polifenolnih jedinjenja. Identifikacija i kvantifikacija polifenolnih jedinjenja same jabuke, pokožice, semena i troja je bila predmet brojnih studija (Bondonno et al., 2017; Četković et al., 2008; Giomaro et al., 2014; Paraman et al., 2015; Vrhovsek et al., 2004; Wojdyło et al., 2008). Polifenoli koji se nalaze u jabukama igraju važnu ulogu u ishrani, odgovorni su za senzorne osobine jabuka i proizvoda od jabuka (Renard et al., 2007). Polifenoli su odgovorni za ukus (gorčina i trpkost), aromu i boju jabuka i proizvoda od jabuka (Chinnici et al., 2004). Dihidrokaloni, flavonoli i antocijani doprinose pigmentaciji jabuka (Alonso-Salces et al., 2004), dok su hidroksicimetne kiseline i katehini uključeni u fenomen tamnjenja što utiče na boju sokova od jabuke (Renard et al., 2007).

Trop od jabuke najvećim delom čine polisaharidi ćelijskog zida (pektin, celuloza, hemiceluloza, lignin i gume) i vezane polifenolne komponente (epikatehin, kvercetin, floretin, florizin i hlorogena kiselina), koji su nosioci snažne antioksidativne aktivnosti (Guyot et al., 2003). Svega 3 – 10 % ukupne AO aktivnosti cele jabuke ostaje u soku (Van Der Sluis et al., 2002).

Trop od jabuke je potencijalni izvor polifenolnih jedinjenja, ali su mnoga od njih prisutna u vezanoj formi sa ugljenim hidratima, ligninima, pektinima i proteinima (Acosta-Estrada et al., 2014). Ova prirodna veza polifenola kao glikozida smanjuje njihovu sposobnost da funkcionišu kao antioksidansi. Oslobođanje vezanih polifenolnih jedinjenja je neophodno za ispoljavanje njihovog zdravstvenog efekta. Trop od jabuke je opisan kao bogat izvor polifenola kao što su cimetna kiselina i njeni derivati, flavonoli, dihidrokaloni i flavanoli (Waldbauer et al., 2017). Za neka od ovih jedinjenja potvrđeno je da pokazuju snažnu antioksidativnu aktivnost *in vitro* (Lu & Foo, 1997). Prerada jabuka dovodi do značajnog gubitka epikatehina i ukupnih polifenola. U radu Willemina, (2011) je pokazano da se presovanjem svežih jabuka ekstrahuje 7 % zajedno epikatehina i ukupnih polifenola u sok, dok je 59 % epikatehina i 60 % ukupnih polifenola ostalo u

tropu. Presovanje jabuka rezultiralo je gubitkom epikatehina od 34% ($p = 0,007$) i gubitkom ukupnih polifenola od 32 % ($p = 0,004$). Važne polifenolne komponente u tropu jabuke su kvercetin, floretin i florizin (slika 7).



Slika 7. Polifenolna jedinjenja u tropu jabuke

Autori Rana et al., (2015) su ustanovili da sadržaj pomenutih polifenolnih jedinjenja u odnosu na različite vrste ekstrakcije varira (tabela 3). Polifenoli tropa jabuke, pre svega floretin i njegov glikozilovani prekursor florizin, fitoestrogeni koji spadaju u klasu kalkona, deluju antioksidativno, kardioprotektivno, redukuju rizik i simptome astme i dijabetesa. Takođe, inhibiraju intestinalnu apsorpciju glukoze a pokazano je da su tzv. "hvatači" reaktivnih dikarbonil vrsta metilglioksala i glioksala čime sprečavaju stvaranje glikozilovanih produkata u patološkim stanjima kao što je dijabetes (Shao et al., 2008).

Tabela 3. Sadržaj florizina, kvercetina i floretina u etanolnom (APE), metanolnom (APM) i acetonoskom (APA) ekstraktu tropa jabuke (Rana et al., 2015)

<i>Parametar / Ekstrakti</i>	<i>APE</i>	<i>APM</i>	<i>APA</i>
<i>Florizin ($\mu\text{g}/\text{mg}$ ekstrakta)</i>	$1,03 \pm 0,00$	$0,82 \pm 0,03$	$1,23 \pm 0,08$
<i>Kvercetin ($\mu\text{g}/\text{mg}$ ekstrakta)</i>	$5,11 \pm 0,02$	$3,72 \pm 0,03$	$5,72 \pm 0,08$
<i>Floretin ($\mu\text{g}/\text{mg}$ ekstrakta)</i>	$3,10 \pm 0,03$	$1,10 \pm 0,07$	$2,01 \pm 0,01$

U radu Masumoto et al., (2009) je pokazano da se dijetom obogaćenom visokim sadržajem florizina može značajno smanjiti količina glukoze u krvi kod miševa koji su prethodno dijabetizovani streptozotocinom. Rezultati studije koja je sprovedena na zdravim dobrovoljcima koji su dobijali prah nezrelih jabuka bogat florizinom, ukazuju da

bi ovaj prirodni proizvod mogao imati uticaj na smanjenje postprandijalne glikemije i da bi se mogao koristiti za poboljšanje zdravlja dijabetičara (Makarova et al., 2015). Takođe je potvrđeno i kardioprotektivno dejstvo floretina i florizina (Olson et al., 2007).

Tabela 4. Najvažnije polifenolne komponente u tropu od jabuke (Waldbauer et al., 2017)

<i>Klasa jedinjenja</i>	<i>Naziv jedinjenja</i>
<i>Dihidroalkoni</i>	floretin, floretin-2-O-glukozid, floretin-2-O-ksilozil-glukozid, floretin-pentozil-heksozid, floretin-heksozil-heksozid, 3-hidroksifloretin-2'-O-ksilozil-glukozid, 3-hidroksifloretin-2'-O-glukozid
<i>Flavanoli</i>	(+)-katehin, (-)epikatehin, procijanidin B1, procijanidin B2, procijanidin B3, procijanidin B5, procijanidin C1 ((epi)kat)trimer
<i>Flavoni</i>	apigenin, hrizoseriol, luteolin, luteolin-7-O-galaktozid, luteolin-7-Oglukozid
<i>Flavanoni</i>	eriodiktiol, eriodiktiol-heksozid, hesperedin-O-pentozid, naringenin, naringenin-7-O-glukozid, naringenin-7-O-neohesperidozid, naringenin-7-O-rutinozid, naringenin-7-O-glukuronid, naringenin-O-heksozid
<i>Flavonoli</i>	izoramnetin-3-O-galaktozid, izoramnetin-3-O-glukozid, izoramnetin-3-O-rutinozid, izoramnetin-3-O-arabinopiranozid, izoramnetin-3-O-arabinofuranozid, izoramnetin-3-O-ramnozid, kaemferol-O-glukozid, kvercetin, kvercetin-3-O-diglukozid kvercetin-3-O-arabinofuranozid, kvercetin-3-O-arabinopiranozid, kvercetin-3-O-glukozid, kvercetin-3-O-rutinozid, kvercetin-3-O-ksilanozid, kvercetin-O-heksozid, kvercetin-O-pentozil-heksozid, kvercetin-O-pentozid, kvercetin-O-ksilozil-pentozid, ramnetin, ramnetin-3-O-glukozid
<i>Cimetne kiseline</i>	kafeoil-O-heksozid 3-O-kafeoil-kininska kiselina, 4-O-kafeoil-kininska, kiselina 5-O-kafeoil-kininska kiselina, x-O- kafeoil-kininska kiselina, dikafeoil-kininska kiselina Feruloil- O-heksozid p-kumariol-O-heksozid, 4-O-p-kumaroil-kininska, 5-O-p-kumaroil-kininska, p-kumaroil-kininska, sinapil-O-glukozid
<i>Antocijani</i>	cijanidin-3-O-galaktozid, cijanidin-3-O-heksozid
<i>Ostalo</i>	protokatehinska kiselina, salicilna kiselina

Polifenoli u tropu jabuke su intenzivno proučavani kako u smislu ekstrakcije, tako i u smislu identifikacije (Kammerer et al., 2014; Lu & Foo, 1997; Paraman et al., 2015; Rana & Bhushan, 2016; Rana et al., 2014; Sudha et al., 2007). U radu (Waldbauer et al., 2017) su navedena identifikovana polifenolna jedinjenja u tropu od jabuke (tabela 4).

Zdravstveni efekti polifenola zavise od njihove biorasploživosti u organizmu. Prisustvo proantocijanidina zajedno sa ćelijskim zidovima u debelom crevu utiče na crevni mikrobiom, proizvodnju metabolita (fenilsirćetna, fenilpropionska i fenilbuterna kiselina i urolitini A i B) i stvaranje antioksidativnog okruženja što ima posledice na biorasploživost polifenola, funkcionalne karakteristike ekstrahovanih polisaharida i kinetiku fermentacije dijetnih vlakana i polifenola.

Antioksidativna aktivnost polifenola ekstrahovanih iz tropa jabuke i proizvoda obogaćenih tropom jabuke potvrđena je u brojnim studijama, primenom različitih testova, kao što su DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6 sulfonska kiselina)), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity – kapacitet apsorpcije kiseoničnih radikala), FRAP (Ferric Ion Reducing Antioxidant Power – antioksidativna moć redukcije jona gvožđa) i DPPH (Benzie & Strain, 1996; Rana et al., 2015). Antioksidativna svojstva najzastupljenijih pojedinačnih polifenola iz tropa jabuke prikazana su u tabeli 5.

Tabela 5. Antioksidativna aktivnost (EC₅₀) polifenola iz tropa jabuke određena DPPH metodom (Lu & Foo, 2000)

<i>Jedinjenje</i>	<i>EC₅₀</i>	<i>Jedinjenje</i>	<i>EC₅₀</i>
<i>Florizin</i>	<i>0,60</i>	<i>Epikatehin</i>	<i>0,135</i>
<i>3-Hidroksiflorizin</i>	<i>0,24</i>	<i>Epikatehin dimer</i>	<i>0,06</i>
<i>Hlorogena kiselina</i>	<i>0,24</i>	<i>Epikatehin trimer</i>	<i>0,115</i>
<i>Kvercetin-3-glukozid</i>	<i>0,10</i>	<i>Epikatehin tetramer</i>	<i>0,115</i>
<i>Kvercetin-3-arabinozid</i>	<i>0,11</i>	<i>Epikatehin oligomer</i>	<i>0,15</i>
<i>Vitamin C</i>	<i>0,35</i>	<i>Vitamin E</i>	<i>0,30</i>

EC₅₀ je količina antioksidansa neophodna da smanji početnu koncentraciju DPPH za 50 %. Svi polifenoli su pokazali snažnu antioksidativnu aktivnost. Kvercetin glikozidi su imali

EC₅₀ vrednosti 0,10 – 0,11, dok su procijanidini imali slične ili neznatno veće vrednosti EC₅₀, što ukazuje da ove dve klase jedinjenja među polifenolima jabuke imaju najbolju sposobnost da „hvataju“ radikale. Sa izuzetkom florizina svi polifenoli su imali bolju antioksidativnu sposobnost od vitamina C i E. Ovim je pokazano da polifenoli koji se nalaze u jabuci, a značajno zaostaju u tropu, pokazuju snažnu antioksidativnu aktivnost. Pored polifenola prisutnih u tropu jabuke kardioprotektivno dejstvo pokazuju i dijetna vlakna.

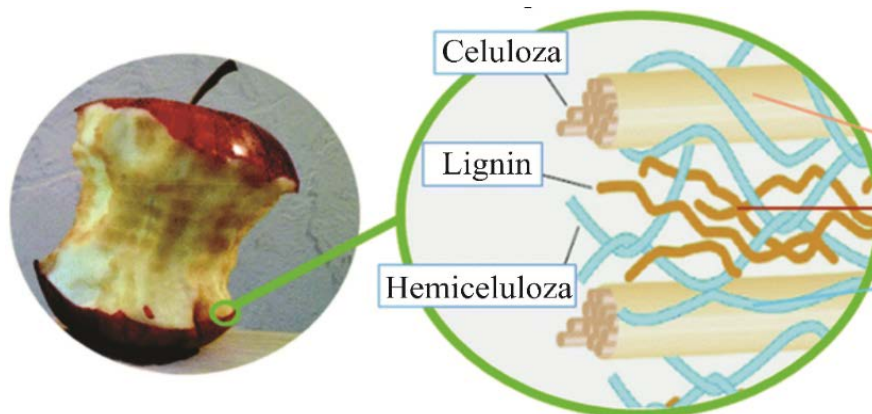
2.2.2 Dijetna vlakna

Dijetna vlakna su polimeri ugljenih hidrata sa tri ili više monomernih jedinica, koji nisu svarljivi i ne apsorbuju se u tankom crevu čoveka (The European Parliament and the Council of the European Union, 2011). Prema ovoj definiciji u grupu DV, osim biljnih vlakana, ako se potvrdi njihov povoljan fiziološki efekat, svrstavaju se i vlakna koja mogu da budu sintetski ili ekstrahovani polimeri, kao što su:

- jestivi polimeri ugljenih hidrata koji su prirodno prisutni u hrani i konzumiraju se kao takvi
- jestivi polimeri ugljenih hidrata koji su dobijeni iz prehrambenih sirovina fizičkim, enzimatskim ili hemijskim sredstvima i koji imaju povoljan fiziološki efekat dokazan opšte prihvaćenim naučnim dokazima
- jestivi sintetičkih polimeri ugljenih hidrata koji imaju povoljan fiziološki efekat dokazan opšte prihvaćenim naučnim dokazima.

Dijetna vlakna su delovi biljaka koje naš organizam ne može da svari, a uključuju celulozu, necelulozne polisaharide kao što su hemiceluloza, pektini, gume i lignin kao neugljenohidratna komponenta (Dhingra et al., 2012). Strukturni raspored dijetnih vlakana u ćelijskom zidu jabuke prikazan je na slici 8. Glavne razlike između celuloze i hemiceluloze jesu da je celuloza polisaharid sa osnovnom strukturnom jedinicom glukoze dok su hemiceluloze sastavljene od pentozna (ksiloza, arabinoza, manozna). Heksoze se često kombinuju sa metil uronskom kiselinom. U celulozi je viši stepen polimerizacije nego kod hemiceluloza. Celuloza je vlaknasta i manje rastvorljiva u alkalijama, dok su hemiceluloze nevlaknaste i rastvornije u alkalijama (Dhingra et al.,

2012). Podela dijetnih vlakana na nerastvorna i rastvorna vlakna napravljena je na osnovu rezultata ekstrakcije u određenim uslovima pH, temperature kao i primenjenog rastvarača.



Slika 8. Strukturni raspored dijetnih vlakana ćelijskog zida biljne ćelije jabuke (Baldinelli et al., 2018)

U nerastvorna DV spada celuloza, hemiceluloza i lignin, a u rastvorna DV pektin, β -glukani, galaktomanani, fruktani, oligosaharidi i neki hemicelulozni molekuli. Navedena podela odnosi se na neskrobne polisaharide, ali ukoliko se količina prehrambenih vlakana određuje enzimsko-gravimetrijski tj. AOAC metodom (sve komponente nesvarljive pod dejstvom amilaze i proteaze su nerastvorne u etanolu), tada i rezistentni skrob ulazi u ovu kategoriju (Bhushan et al., 2008). Prema mišljenju EFSA (Agostoni et al., 2010), preporučeni dnevni unos dijetnih vlakana koji obezbeđuje normalnu funkcija creva kod odraslih ljudi iznosi 25 g. Dijetna vlakna mogu u nekim proizvodima da zamene proste šećere i mast, čime se smanjuje energetska vrednost hrane. Sa druge strane, prehrambena vlakna su nosači materija kao što su vitamini, minerali i antioksidanti, i stoga mogu doprineti njihovom većem unosu i iskoristljivosti (Englyst et al., 2013). Unos dijetnih vlakana sličan je u mediteranskim i ostalim evropskim državama (oko 20 g po stanovniku). Voće i povrće su osnovni izvor vlakana u mediteranskim zemljama, dok žita dominiraju u ostalim evropskim zemljama (Hervert-Hernández & Goñi, 2011). Žita su glavni izvor celuloze, hemiceluloza i lignina u ishrani, dok voće i povrće predstavljaju primarne izvore pektina i biljnih guma (Elleuch et al., 2011).

Dijetna vlakna prolaze gornji intestinalni trakt i ulaze u creva u neizmenjenom obliku (Saura-Calixto, 2011). Rastvorna i nerastvorna vlakna imaju različite uloge u prevenciji bolesti. Nerastvorna DV regulišu rad creva i apsorpciju vode (Yangilar, 2013). Rastvorna DV, koja u vodi grade viskozne rastvore, mogu da modifikuju nivo glukoze u krvi nakon jela smanjenjem svarljivosti i apsorpcijom ugljenih hidrata sa visokim glikemijskim indeksom. Pored toga, rastvorna vlakna mogu da smanje i nivo ukupnog i LDL holesterola u krvi uticajem na digestiju i apsorpciju holesterola i žučnih kiselina (Agostoni et al., 2010). Zbog prethodno navedenog, dijetna vlakna utiču na smanjenje rizika od oboljevanja od nekih hroničnih bolesti, kao što su kardiovaskularne bolesti, gojaznost, dijabetes i različite vrste kancera (Elleuch et al., 2011).

Zbog prisustva vezanih polifenola DV poseduju značajanu antioksidativnu aktivnost (AO). Stoga, utvrđivanje antioksidativne aktivnosti DV-a predstavlja deo podrazumevajuće karakterizacije vlakana i omogućava procenu njihovog potencijalnog dejstva na zdravlje i mogućnosti primene u obliku funkcionalnog sastojka. Antioksidativna aktivnost dijetetskog vlakna potiče od kumulativne sinergističke antioksidativnosti polifenola i drugih sastojaka (karotenoida, Majlardovih jedinjenja, mikroelemenata, itd). U tom kontekstu, DV sa izuzetnim antioksidativnim kapacitetom, poznata kao antioksidativna dijetna vlakna, pronađena su u kori manga, kori ananasa, pulpi guave, kljuku grožđa, plodu acerole, nekim morskim travama, kao i u pokožici jabuke. Kao prehrambeni sastojci, ova vlakna sprečavaju oksidaciju lipida u mesnim proizvodima i proizvodima od ribe, održavajući njihov nutritivni kvalitet i produžavajući im rok upotrebe (Saura-Calixto, 2011).

Trop od jabuke sadrži značajne količine neskrobnih polisaharida (35 – 60 % dijetnih vlakana, od kojih nerastvornih (36,5 %) i rastvornih vlakana (14,6 %)). Glavne komponente dijetnih vlakana tropa jabuke su pektini (5,5 – 11,7 %), celuloza (7,2 – 43,6 %), hemiceluloza (4,3 – 24,4 %) i lignin (15,3 – 23,5 %) (Dhillon et al., 2013). Celuloza i lignin su nerastvorni, dok su galakturonska kiselina i hemiceluloza vodorastvorni.

Komercijalni pektini proizvode se od različitih sporednih proizvoda prehrambene industrije, kao što su trop od jabuke, kora citrusa, kao i pulpa šećerne repe (izluženi repini rezanci). Pektini iz jabuke i citrusa imaju bolja svojstva želiranja, pa je stoga i

njihova primena mnogo prisutnija u prehrambenoj industriji (May, 1990), između ostalog se koriste kao ugušćivači, emulgatori, stabilizatori i poboljšivači teksture (Alan Imeson, 2010). Pektin, poput nekih drugih prehrambenih vlakana (inulin), podleže fermentaciji pod dejstvom crevnih bakterija kao što su *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, zbog čega se može smatrati prebiotikom (Cuervo et al., 2014).

Ekstrakcija pektina iz tropa je i dalje najčešći način valorizacije tropa jabuke. Za poboljšanje boje pektina uklanjanjem polifenola razvijen je inovativni postupak za iskorišćenje pektina i polifenolnih jedinjenja (Schieber et al., 2003). Antioksidansi izolovani iz tropa mogu poslužiti kao prirodna zamena sintetičkih antioksidansa i kao izvor florizina (Bhushan et al., 2008; Kammerer et al., 2014). Nakon ekstrakcije pektina trop i dalje predstavlja izvor vlakana koja se mogu dalje koristiti u prehrambene i neprehrambene svrhe (Endress, 1991). Osim pektina i nisko molekularnih polifenola, trop sadrži mnoštvo vrednih jedinjenja kao što su jabučna kiselina, ugljeni hidrati (fruktoza, glukoza i sorbitol), voskovi. Semenke koje ulaze u sastav tropa su bogate visoko nezasićenim masnim kiselinama, karotenoidima, tokoferolom, polifenolima visoke molekulske težine i žutim pigmentima (Fromm et al., 2013).

Tradicionalna primena pektina kao želirajućeg sredstva poslednjih godina je proširena tako da se osim u industriji hrane koriste i u farmaceutskoj industriji (Almeida et al., 2015).

2.2.3 Minerali

Minerali su podeljeni na makroelemente, kalcijum, magnezijum, kalijum, natrijum, hlor, fosfor i sumpor, dok su mikroelementi jod, cink, selen, gvožđe, mangan, bakar, kobalt, molibden, fluor, hrom i bor. Nedovoljan unos mikroelemenata može se povezati sa pojavom nekih bolesti.

Dobra i uravnotežena ishrana, unošenje voća i povrća kao i namirnica životinjskog porekla obezbeđuje optimalan unos neophodnih minerala (Lukaski, 2004). Minerali imaju ključnu ulogu u čovekovom organizmu, oni obavljaju mnoge neophodne funkcije od izgradnje jakih kostiju do prenosa nervnih impulsa što doprinosi očuvanju zdravlja i

dogovečnosti. Neki makro- i mikroelementi se nalaze u strukturi zuba (Ca, P i F) i kostiju (Ca, Mg, Mn, P, B i F), dok većina mikroelemenata (Cu, Fe, Mn, Mg, Se i Zn) igra značajnu uloga kao strukturni deo mnogih enzima. Makroelementi (Ca, Mg, P, Na i K) u poređenju sa mikroelementima (I) imaju mnogo značajnije funkcije u nervnim ćelijama (prenos i signalizacija). Mikroelementi imaju ključne uloge u formiranju ćelija eritrocita (Co, I i Fe), regulacije nivoa glukoze (Cr) i njihovu zaštitu putem aktivacije antioksidativnih enzima (Mo). Makroelementi kalijum i kalcijum utiču na smanjenje krvnog pritiska. Minerali su takođe odgovorni za funkcionisanje imunog sistema (Ca, Mg, Cu, Se i Zn) i mozga (Cr i Mn) (Gharibzahedi & Jafari, 2017).

Veće koncentracije minerala obično se nalaze u tkivima s višim stepenom metabolizma (epikarp, jezgro), a niže koncentracije u pulpi voća. U poređenju sa drugim često konzumiranim voćem, sveže jabuke sadrže skromne količine minerala (tabela 6) (Skinner et al., 2018; Vicente et al., 2009).

Tabela 6. Uporedni pregled sadržaja minerala u voću koje se uobičajno konzumira u Severnoj Americi i u tropu od jabuk (Skinner et al., 2018))

<i>mg / 100 g</i>	<i>Jabuka</i>	<i>Banana</i>	<i>Breskva</i>	<i>Grožđe</i>	<i>Pomorandže</i>	<i>Borovnice</i>	<i>Trop jabuke</i>
<i>Natrijum</i>	1,0±0,1	1,0±0,4	1.0±0,2	0,40±0,04	0,10± 0,03	0,16±0,03	185,3± 0,0
<i>Kalijum</i>	107±2	358±2	116±4	191±28	181±1	77±6	639±24
<i>Kalcijum</i>	6,0±0,3	5±0,1	9,0±0,41	14±2	43±2	6,0±0,8	74,1±18,5
<i>Fosfor</i>	11,0±0,3	22,0±0,2	12,0±0,2	10,0±0,6	14,0±0,4	12,0±0,5	67,6±2,8
<i>Magnezijum</i>	5,0±0,1	27±1	7,0±0,1	5,0±0,2	10±0,2	6,0±0,2	176±16
<i>Gvožđe</i>	0,12±0,01	0,26±0,01	0,18±0,03	0,29±0,06	0,10±0,04	0,3±0,1	3,2±0,3
<i>Cink</i>	0,04±0,0	0,15±0,0	0,1±0,0	0,04±0,01	0,07±0,0	0,16±0,02	1,4±0,0

Sa druge strane, trop jabuka obezbeđuje više minerala od jabuka, verovatno zbog prisustva pokožice koja sadrži povećane količine natrijuma, kalijuma, kalcijuma, magnezijuma i gvožđa nego cela jabuka (Gorinstein et al., 2001).

2.3 TROP OD JABUKE KAO SIROVINA U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI

2.3.1 Bezbednost tropa od jabuke

Do sada je sprovedeno više studija sa ciljem da se ispituju potencijalni zdravstveni rizici konzumiranja tropa. Trop se koristi kao dodatak u hrani za životinje (npr. goveda i koza). Studije su potvrdile da je trop od jabuke adekvatan aditiv za hranu za stoku, jer obezbeđuje unos nutritijenata bez štetnosti za varenje, rast i produkciju mleka. Međutim, preživari nisu translacijski životinjski modeli i nutritivni doprinos tropa od jabuke se ne može direktno primeniti na ljude (Skinner et al., 2018).

Intezivna primena agrotehničkih mera u uzgajanju jabuka izaziva zabrinutost da su u pokožici jabuke, kao i u tropu, prisutni pesticidi i fungicidi. Rezultati sprovedenih studija su pokazali da je trop od jabuke bezbedan kao dodatak hrani za životinje kao i da je količina rezidua pesticida u jabukama bezbedna za ljudsku ishranu (Skinner et al., 2018). Prethodne studije sprovedene na pacovima i ljudima nisu pokazale štetne zdravstvene efekte. Ipak mora se istaći da nije bilo studija koje su direktno evaluirale potencijalne rizike od rezidua pesticida u tropu od jabuke. Ovaj rizik se može izbeći kontinuiranim određivanjem rezidua pesticida u tropu od jabuke koji je namenjen daljoj upotrebi u ljudskoj ishrani, korišćenjem tropa od organskih ili strogo kontrolisanih konvencionalno gajenih jabuka.

Isto tako postoji uvreženo mišljenje da potencijalni prirodni toksini u semenkama jabuke predstavljaju opasnost po zdravlje. Cijanogeni glikozid amigdalin je prirodno nastao biljni toksin. Prilikom rupture tkiva jabuka, amigdalin interaguje sa endogenim digestivnim enzimima, što dovodi do oslobađanja vodonik-cijanida. Tokom obrade hrane vodonik-cijanid lako isparava, imajući u vidu da je njegova tačka ključanja 26 °C. Nivo amigdalina u semenu 15 sorti jabuka (1 – 4 mg g⁻¹) je analiziran i zaključeno je da on zavisi od vrste jabuke i uslova gajenja (Bolarinwa et al., 2015).

Sa ciljem da se utvrdi uticaj amigdalina na zdravlje ljudi sprovedena je *in vivo* studija na pacovima. Dnevna doza amigdalina od 160 mg kg⁻¹ telesne težine koju su pacovi dobijali dve nedelje nije pokazala štetne efekte. Kao dodatak ishrani semenke jabuke su imale

pozitivne efekte na intestinalni trakt, profil lipida u krvi i antioksidativni status pacova. Svi zapaženi pozitivni efekti ne mogu biti samo povezani sa prisustvom amigdalina ali studija svakako potvrđuje da je trop koji sadrži semenke bezbedan za upotrebu (Opyd et al., 2017).

Prema izveštajima Mreže nacionalnih laboratorija letalna doza vodonik cijanida je 50 – 300 mg, tako da bi do trovanja vodonik cijanidom oslobođenim iz semenki jabuka došlo ako bi se odjednom konzumiralo više od 800 g suvog tropa od jabuka (Shalini & Gupta, 2010).

2.3.2 Sušenje tropa - priprema za upotrebu u prehrambenoj industriji

Sušenje je jedna od najčešćih i najstarijih metoda konzerviranja voća i povrća. Potrošnja energije tokom sušenja čini između 7 i 15 % ukupne industrijske potrošnje energije (Dincer & Dost, 1996). Dehidratacija je složen proces koji uključuje uklanjanje vlage isparavanjem iz čvrstog dela voća i povrća u kontrolisanim uslovima. Tokom sušenja istovremeno, dolazi do prenosa energije (uglavnom toplote) iz okoline i prenosa vlage iz vlažnog materijala na površinu i njenog isparavanje u okolinu. Prilikom sušenja prehrambenih proizvoda neophodno je poznavati fizičko-hemijske osobine materijala, dozvoljeni sadržaj vlage u materijalu, odgovarajuću tehnologiju sušenja, sorte pogodne za sušenje, kao i promene koje se dešavaju tokom sušenja.

Zbog visokog sadržaja vode (75-80 %) i šećera, kao i aktivnosti enzima, AP je kvarljiv biorazgradiv materijal, sklon mikrobiološkoj kontaminaciji koji je potrebno konzervirati neposredno nakon nastanka. Sušenje je ekonomski najracionalniji pristup za stabilizaciju AP kojim se smanjuje njegova zapremina, troškovi skladištenja i transporta. Smanjenje sadržaja vode treba obaviti odmah po proizvodnji da bi se očuvala hranjiva i funkcionalna vrednost. Postupak uklanjanja vlage utiče na sadržaj i aktivnost biološki aktivnih jedinjenja, strukturu i funkcionalna svojstva tropa. Od njega zavisi kvalitet tropa kao sirovine i mogućnosti dalje upotrebe u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji.

Izbor načina sušenja tropa od jabuke zavisi od energetske troškova, promene u nutritivnom profilu i svrhe upotrebe. Neophodno je napraviti dobar izbor odgovarajuće

opreme za sušenje, uspostaviti optimalne parametre sušenja, ispitati efikasnost i kapacitet postojeće opreme za sušenje, ispitati uticaj sušenja na kvalitet finalnog proizvoda.

Poznato je da se tokom sušenja javljaju promene u kvalitetu materijala, između ostalog promena boje zbog neenzimatskih i enzimatskih reakcija tamnjenja, promena oblika i veličine, skupljanje, promene u teksturi, gubitak arome, promene u kristalnoj strukturi, oksidacija lipida, denaturacija proteina, gubitak i degradacija hranljivih jedinjenja, npr. vitamina, polifenolnih jedinjenja, karotenoida i askorbinske kiseline (Sacilik & Elicin, 2006). Pravilan izbor parametara i metode sušenja je veoma važan ne samo zbog potrošnje energije već pre svega zbog kvaliteta finalnog proizvoda (Winiczenko et al., 2018).

U jednom od najranijih procesa, sunčeva energija je korišćena za sušenje tropa jabuke na otvorenom kako bi se smanjila masa (Goldhaber, 2003). Sušenje na suncu kao rezultat daje prilično taman trop od jabuke (zbog enzimatskog ili oksidativnog potamnjenja) koji zbog neprihvatljive boje nije primenljiv kao dodatak ljudskoj ishrani. Brojni su pokušaji da se na osnovu karakteristika AP razviju efikasni sistemi sušenja (Shalini, 2010). U naučnoj literaturi se mogu naći podaci o efikasnosti različitih načina sušenja, kao i uticaj parametara sušenja, pre svega temperature, na sadržaj i aktivnost polifenolnih jedinjenja, funkciju dijetnih vlakana i slično. Sušenje usmerenim vrućim vazduhom na ~ 110 °C smanjilo je sadržaj vlage AP sa 80 % na 4,5 % za 3 h, sušenje ubrzanom cirkulacijom vazduha na 40 °C smanjilo je na 2,2% za 24 sata, a sušenje smrzavanjem na 2,3% za ~ 60 h (Jung et al., 2015). Sušenje u trakastim sušarama koje je sprovedeno na laboratorijskom nivou i to na temperaturama od 80, 95 i 110 °C smanjilo je sadržaj vlage na 19,3, 7,6 i 8,5% u periodu od 170, 130 i 96 minuta (Yan, 2012). Nije bilo značajne razlike u boji, higroskopnosti i ukupnom sadržaju polifenola između tropa osušenog na 80 °C i 95 °C, dok se trop osušen na 110 °C značajno razlikovao u pogledu ispitivanih parametara. U poređenju sa svežim tropom jabuke, nisu utvrđene značajne razlike između uzoraka i tropa jabuke u smislu ukupnog sadržaja polifenola i antocijana (Yan, 2012). Sušenje pokožice jabuke u pilot pogonu na temperaturi od 110 °C je rezultiralo

višim sadržajem polifenola i boljim očuvanjem funkcionalnosti DV u odnosu na sušenje na temperaturama od 130 i 140 ° C (Henríquez et al., 2010). Patentom su zaštićeni tehnološki postupci dobijanja suvih proizvoda na bazi tropa koji uključuju sušenje primenom vrućeg vazduha (Patent No. CN2605542 (Y), 2004) ili struje vrućeg vazduha (Patent No. CN106382791 (A), 2017). Primena bubanj sušara je još uvek uobičajena industrijska praksa za proizvodnju raznih namirnica, uključujući i proizvode od jabuka pa i sam trop. Komercijalno dostupne sušare namenjene upravo sušenju tropa su uglavnom bubanj sušare.

Konvektivno sušenje izlaganjem kontinuiranoj struji vrelog vazduha se dugi niz godina koristi za očuvanje hrane. Fenomen koji leži u osnovi ovog procesa je složen i uključuje simultani transport mase i energije u higroskopnom sistemu. Sušenje vrelim vazduhom rezultira dehidriranim proizvodima sa znatno produženim rokom trajanja, međutim, kvalitet osušenog proizvoda se obično drastično smanjuje zbog izlaganja povišenim temperaturama (Ratti, 2001). Visoke temperature primenjene tokom sušenja izazivaju razgradnju materijala i menjaju aktivnost termički osetljivih jedinjenja tako da se ne mogu preporučiti za sušenje tropa namenjenog ljudskoj ishrani. Glavni nedostatak konvencionalnih metoda je upravo poremećena struktura i funkcija biološki aktivnih sastojaka kao posledica izloženosti visokim temperaturama. Sušenjem smrzanjem zadržava se mnogo viši nivo bioaktivnih jedinjenja od svih napred pomenutih metoda (Tambunan et al., 2001; Tseng & Zhao, 2012). Najveći ukupni sadržaj polifenola zabeležen je u liofilizovanom AP (Rana & Bhushan, 2016). Niz funkcionalnih svojstava kao što su gustina, kapacitet vezivanja vode i ulja i kapacitet bubrenja takođe su najbolji u AP osušenom liofilizacijom (Rana et al., 2015). Liofilizacija je proces razvijen u drugoj polovini XX veka kod koga nema negativnih efekata do koji dolazi tokom sušenja bioloških proizvoda visokom temperaturom. Pre sušenja, vlažni čvrsti materijal mora biti zamrznut. Tokom primarne faze sušenja dolazi do sublimacije zamrznute slobodne vode dok se u sekundarnoj fazi sušenja desorpcijom eliminiše vezana voda se (Reyes et al., 2010). Ovaj proces se odvija pod visokim vakuumom koji omogućava sublimaciju vode iz zamrznutog proizvoda. Konačni proizvodi dobijeni liofilizacijom imaju odličan kvalitet zbog odsustva vode i primene niskih temperatura pri kojima se hemijske i enzimske

reakcije zaustavljaju. Čvrsto stanje vode u proizvodima tokom sušenja smrzavanjem štiti primarnu strukturu i oblik uz minimalne promene zapremine. Prema Wolfe & Liu, (2003), do najmanjeg gubitka biološki aktivnih jedinjenja dolazi kada kratko blanširanje tropa prethodi sušenju smrzavanjem.

Stabilnost osušenog AP, neophodna za dalju primenu, takođe zavisi od načina sušenja (Lavelli & Corti, 2011). Što se tiče očuvanja polifenolnih jedinjenja tokom stajanja suvog tropa, dehidratacija blanširanog AP na 60° C bila je slična sušenju smrzavanjem ali superiornija od sušenja vakuumom na 40° C (Lavelli & Kerr, 2012). Međutim, dugotrajnost i visoki troškovi čine liofilizaciju neprikladnom za industrijsko sušenja materijala kao što je trop (Ratti, 2001; Tseng & Zhao, 2012). Sušenje smrzavanjem je do osam puta skuplje od sušenja vrućim vazduhom (Ratti, 2001). Primena liofilizacije u prehrambenoj industriji je ekonomski opravdana jedino u slučaju nekih visokovrednih namirnica (Wu et al., 2007).

Kod sušenja prehrambenih proizvoda sa visokim sadržajem hranljivih materija koje su sklone oksidaciji korišćene su i trakaste vakuum sušare. Visoka brzina, relativno niska temperatura sušenja i rad u okruženju lišenom kiseonika rezultovao je dobrim kvalitetom i očuvanom nutritivnom vrednošću osušenih proizvoda (Wang et al., 2007).

Primećene su velike varijacije u sadržaju vlage i aktivnosti vode u različitim proizvodima od sušene jabuke, dobijenim na nivou laboratorije ili u industriji. Niske a_w vrednosti sušenog tropa, pokožice ili cele jabuke dobijene su primenom različitih tehnika sušenja u laboratorijskim uslovima. Nakon 3,5 h sušenja u struji vrelog vazduha a_w vrednost AP je bila 0,38 a nakon 60 h sušenja smrzavanjem 0,28 (Jung et al., 2015). Aktivnost vode AP osušenog trakastom vakuum sušarom (Yan & Kerr, 2013) i pokožice jabuka osušene bubanj sušarom je bila 0,2 (Henríquez et al., 2010). Sa druge strane, industrijski osušen AP dostupan na tržištu ima visok sadržaj vlage (>10%) (Sudha et al., 2007) pri kojoj polifenolna jedinjenja nisu stabilna (Lavelli & Corti, 2011).

Aktivnost vode je važna karakteristika stanja namirnice jer se njenim porastom intenziviraju procesi kvarenja hrane. Smanjenjem vrednosti a_w stvaraju se nepovoljni uslovi za rast i razmnožavanje mikroorganizama koji izazivaju kvarenje čime se povećava

stabilnost proizvoda i produžava njegova trajnost. Za razvoj mikroorganizama u namirnici nije presudan ukupan sadržaj vode, nego upravo deo dostupan mikroorganizmima, tj. sadržaj slobodne vode. Mala količina slobodne vode u biološkim materijalima onemogućava rast mikroorganizama i odvijanje hemijskih i enzimskih reakcija. Za a_w usko je vezana higroskopnost, odnosno mogućnost upijanja i otpuštanja vodene pare iz okoline u kojoj je suvi proizvod uskladišten. Niska a_w vrednost omogućava da suva namirnica godinama bude zaštićena od kvarenja, pojave plesni i gubitka ukusa. Sa druge strane, prenizak sadržaj vode negativno deluje na elastičnost i sposobnost rehidracije. Većinu namirnica treba sušiti do onog sadržaja ravnotežne vlažnosti koju namirnica sadrži na 60 – 70 % relativne vlažnosti vazduha, tj. do postizanja ravnotežne vlažnosti.

Zbog svega navedenog postoji interesovanje za razvoj energetski efikasnog i tehnički izvodljivog postupka za dehidraciju AP na industrijskom nivou koja će omogućiti smanjenje sadržaja vlage za kratko vreme i proizvodnju stabilnog tropa sa malim sadržajem vlage i niskom aktivnošću vode, a visokim sadržajem bioaktivnih jedinjenja. Stabilnost, hranljiva i funkcionalna svojstva AP dehidriranog na industrijskom nivou, kao i njegov uticaj na metabolizam, neophodno je proveriti kako bi se dobio pouzdan uvid u njegovu primenljivost u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Većina do sada sprovedenih studija bila je usmerena na sastav, *in vitro* i *in vivo* efekat i primenu svežeg AP ili AP osušenog na laboratorijskom nivou, dok su istraživanja industrijski osušenog AP retka (Sudha et al., 2007).

2.3.3 Primena tropa od jabuke u prehrambenoj industriji

Trop od jabuke ima značajan potencijal za primenu u prehrambenim proizvodima zbog svog povoljnog nutritivnog profila, i dobrih senzornih osobina (Bhushan et al., 2008; Carson et al., 1994; Saeed et al., 2015; Wang & Thomas, 1989). Iako je direktna upotreba sporednih proizvoda iz industrije prerade voća u prehrambenim proizvodima proučavana već više od dve decenije, još uvek nema mnogo podataka o komercijalizaciji, niti komercijalno dostupnih proizvoda koji sadrže trop, što neki autori povezuju sa negativnim uticajem na senzorne osobine krajnjeg proizvoda (Paraman et al., 2015).

Pored nutritivne vrednosti, sporedni proizvodi generalno poseduju funkcionalne karakteristike kao što su sposobnost vezivanja vode i ulja, sposobnost adsorpcije, viskoznost i uticaj na teksturu (O'Shea et al., 2015). Funkcionalne i senzorne osobine AP omogućavaju njegovu inkorporaciju u različite prehrambene proizvode, ali je do sada mogućnost primene pokazana uglavnom na laboratorijskom nivou, dok su komercijalno dostupni prehrambeni proizvodi vrlo retki.

U laboratorijskim uslovima ispitivana je mogućnost dodavanja sprášenog jabučnog tropa u pšenično brašno u udelu do 20 % radi dobijanja pekarskih i konditorskih proizvoda sa većim sadržajem visoko-vrednih bioaktivnih jedinjenja (Masoodi & Chauman, 2002; Waghmare & Arya, 2014). Na osnovu senzorne ocene, kolači, hleb i keks bili su obogaćeni sa 5, 10 i 15 % AP (Masoodi & Chauhan, 1998). U radu autora Jung et al., (2015), napravljen je keks sa dodatkom do 20 % AP koji je imao prijatnu voćnu aromu i bolje senzorne osobine od kontrolnog uzorka keksa. Dodavanje AP u tamno brašno od pirinča u udelu do 9 % nije dovelo do značajne promene u ukupnoj prihvatljivosti bezglutenskih krepera (Mir et al., 2017). Pokušaji da se nešto veći udeo standardnog brašna zameni suvim tropom su u literaturi retki. Prema Saeed et al., (2015) svi ocenjivani senzorni parametri su se smanjili u keksu sa dodatkom 40 % AP. Keks od ovsa sa dodatkom 30, 40 i 50 % AP bio je okarakterisan kao umereno prihvatljiv (Carson et al., 1994).

Iz tropa od jabuke moguće je izolovati bioaktivne komponente kao što su polifenoli i dijetna vlakna koje se mogu koristiti kao sastojak prehrambenih proizvoda. Dijetna vlakna izolovana iz tropa jabuke su korišćena kao zamena za mast u keksu, što je kao rezultat imalo promenu u veličini, obliku i boji keksa, ali je tekstura bila prihvatljiva (Min et al., 2010). Zamenom pšeničnog brašna sa 25 % tropa od jabuke dobijen je keks sa 14,2 % DV dok je keks od pšeničnog brašna imao svega 0,47 % DV. Istovremeno sadržaj polifenola u keksu sa 25 % tropa od jabuke je povećan za 50 % (Sudha et al., 2007).

Upotreba jabučnog tropa u pekarskoj industriji može uticati na poboljšanje kvaliteta finalnog proizvoda i na smanjenje glikemijskog indeksa hleba (Waghmare & Arya, 2014). Standardni biskvit ima glikemijski indeks 70 koji se smatra visokim, dok je biskvit sa

dodatkom 10 i 20 % AP rangiran u proizvod sa srednjim glikemijskim indeksom (glikemijski indeks 65 odnosno 60) (Alongi et al., 2019).

Poznato je da dijetna vlakna iz jabučnog tropa snižavaju energetska vrednost finalnog proizvoda (Sharma et al., 2016). Pacijentima koji boluju od dijabetesa se preporučuje hrana bogata prehrambenim vlaknima koja ima nizak glikemijski indeks. U studiji Sudha et al., (2016) su ispitivali uticaj dodavanja jabučnog tropa na nutritivnu vrednost pekarskih proizvoda i utvrđeno je da ovakvi proizvodi doprinose uklanjanju slobodnih radikala, kao i aktivnosti enzima koji štite ćelijsku DNK. Dodatak tropa od jabuke u udelu od 17, 22 i 28 % nek proizvodima na bazi kukuruza nije negativno uticao na njihova mehanička svojstva i teksturu, a doprineo je voćnoj aromi i povećao udeo DV i polifenola (Karkle et al., 2012).

Trop od jabuke je dodavan i u mesne prerađevine i fermentisane mlečne proizvode. Kobasice u koje je dodat prah AP su imale poboljšane fizičko-hemijske i senzorne osobine (Younis & Ahmad, 2015). Dodatak praha AP u kobasice je povećao stabilnost emulzije u odnosu na kontrolni uzorak. Istovremeno, kobasice su obogaćene dijetnim vlaknima inkorporacijom praha AP. Dakle, AP se može koristiti i u mesnoj industriji kao dodatak koji poboljšava funkcionalna svojstva mesnih proizvoda.

Autori Wang et al., (2019) su ispitivali uticaj dodatka liofiliziranog AP praha tokom pripreme jogurta. Utvrdili su da dodatak AP u količini od 0.5 % skraćuje vreme fermentacije pri čemu se dobija konzistentan gel jogurta koji je stabilan tokom skladištenja od 28 dana. Ova činjenica omogućava primenu AP u poboljšanju teksture jogurta, i kao prirodnog stabilizatora.

Aktivna pakovanja sa antioksidativnim osobinama su savremeni trend zbog potrebe za smanjenjem oksidativnih procesa u hrani tokom skladištenja. Proučavana je mogućnost primene AP kao komponente biokompozitnih materijala za pakovanje (Gaikwad et al., 2016). Ispitivan je dodatak AP u udelu od 1, 5, 10, 30 % u matricu polivinil alkohola. Dodatak AP je pokazao izvrsnu antioksidativnu aktivnost u kreiranom pakovanju. Ovakvo pakovanje ima potencijal za razvoj u funkcionalni materijal za pakovanje hrane koji bi omogućio bezbedno pakovanje i produženje roka trajanja upakovanih namirnica.

Iako su nutritivne i funkcionalne osobine tropa od jabuke kao i njegova primena ispitivane od strane mnogih autora (Carson et al., 1994; Haghghi & Rezaei, 2013; Masoodi & Chauman, 2002; Nawirska & Kwaśniewska, 2005; Paraman et al., 2015; Reis et al., 2014; Saeed et al., 2015; Sudha et al., 2011; Wang & Thomas, 1989), uglavnom na laboratorijskom nivou, još uvek nije zaživela široka primena u prehrambenoj industriji.

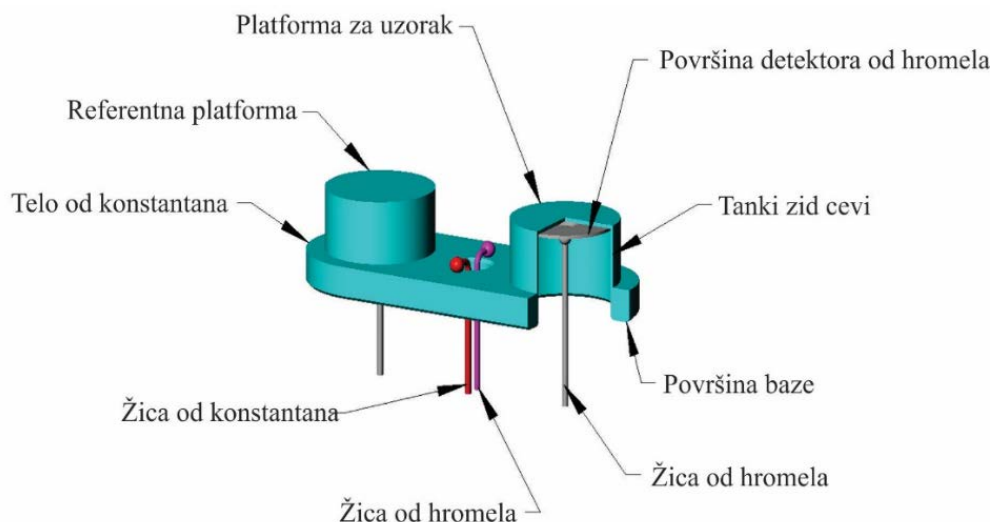
2.4 PRIMENA TERMALNE ANALIZE U ISPITIVANJU HRANE

Termalna analiza obuhvata grupu metoda pomoću kojih se fizičke i hemijske karakteristike materijala određuju u funkciji temperature ili vremena, pri čemu se uzorak izlaže određenom temperaturnom režimu. Taj program može biti hlađenje ili zagrevanje (neizotermalni), održavanje konstantne temperature (izotermalni) ili bilo koja njihova kombinacija. Kada se materijal zagreva ili hladi njegova struktura i hemijski sastav se menjaju: topljenje, kristalizacija, oksidacija, termalna razgradnja, promena dimenzija i sl. (tabela 7). Od klasičnih metoda termalne analize, najveću primenu imaju: termogravimetrija (TG) i diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC).

Tabela 7. Egzotermni i endotermni prelazi koji se detektuju diferencijalno skenirajućom kalorimetrijom, (Churala Pal, 2014)

<i>Komponenta</i>	<i>Egzotermni prelaz</i>	<i>Endotermni prelaz</i>
<i>Kvasci</i>	Fermentacija	-
<i>Bakterije</i>	Rast, metabolizam, fermentacija	-
<i>Ugljeni hidrati</i>	Kristalizacija, degradacija	Topljenje, staklasti prelaz
<i>Proteini</i>	Agregacija, kristalizacija	Denaturacija
<i>Masti</i>	Kristalizacija, oksidacija	Denaturacija
<i>Skrob</i>	Retrogradacija, oksidacija	Želiranje, staklasti prelaz
<i>Enzimi</i>	Agregacija, enzimska reakcija	Denaturacija

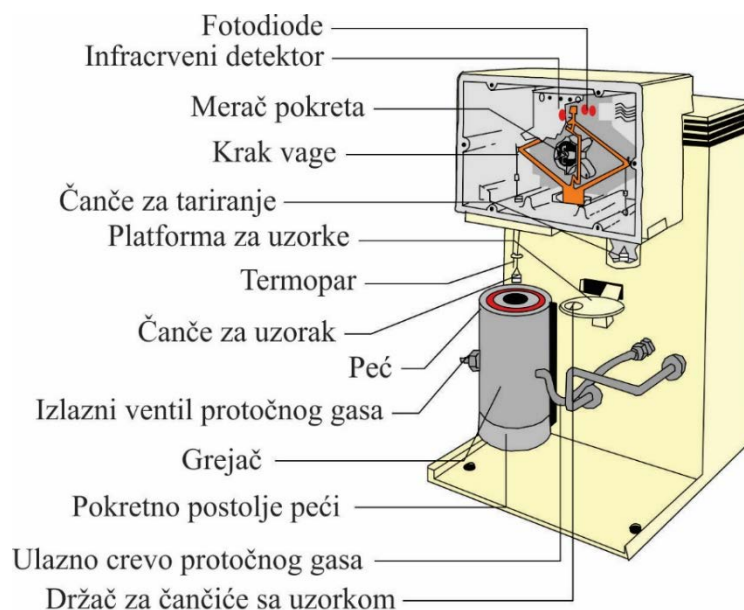
Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija je tehnika koja beleži energiju potrebnu za održavanje nulte temperaturne razlike između ispitivanog i referentnog uzorka pri unapred definisanoj brzini grejanja (hlađenja).



Slika 9. Šema ćelije diferencijalnog skenirajućeg kalorimetra TA Q1000, USA, (http://www.tchemie.uni-oldenburg.de/bilder/Model_Development/DSC1.jpg, preuzeto 15.05.2019).

Dobijeni podaci ukazuju na pojavu endotermnih i egzotermnih procesa kao funkcije temperature i omogućavaju identifikaciju ključnih strukturnih prelaza, zajedno sa promenom entalpije u nađenom opsegu temperature. Izgled DSC ćelije je dat na slici 9.

Termogravimetrija predstavlja pogodnu metodu za praćenje svih fizičko-hemijskih promena u uzorku pri kojima dolazi do promene mase. Na primer isparavanje, sublimacija, dehidracija, dehidroksilacija, sagorevanje, reakcije sa gasovima iz atmosfere pri kojima se stvaraju neisparljivi proizvodi, itd.



Slika 10. Šema termogravimetrijskog analizatora, (https://sites.google.com/a/iastate.edu/laboratory-10-thermogravimetric-analysis/_/rsrc/1472850554595/experimental-methods/2.png?height=320&width=300, preuzeto 15.05.2019)

Rezultati dobijeni termogravimetrijskom analizom (temperatura početka i završetka reakcije i promena mase uzorka) omogućavaju kinetička izračunavanja. Pri tumačenju i analizi rezultata dobijenih termogravimetrijskom analizom koristi se i derivativna kriva po vremenu (temperaturi) (DTG). Šema termogravimetrijskog analizatora je data na slici 10.

2.4.1 Termalna analize dehidrirane hrane

Proces dehidracije zahteva energiju za isparavanje i/ili sublimaciju vode i koncentrovanje hrane. Tradicionalno se primena dehidracije zasniva na empirijskom znanju o osobinama materijala i procesnim zahtevima neophodnim za postizanje željenih karakteristika dehidriranog materijala. Napredne tehnike dehidracije kao što su sušenje raspršivanjem (eng. spray drying) i sušenje smrzavanjem (liofilizacija) zahtevaju fundamentalna znanja o osobinama vode i leda kao i poznavanje fizičko-hemijskih osobina dehidriranih materijala (Bhandari & Roos, 2017; Roos, 2003; Silalai & Roos, 2010).

Tabela 8. Uobičajene promene koje se javljaju u hrani kao rezultat staklastog prelaza, (Bhandari & Roos, 2017)

<i>Fizičko hemijske promene</i>	<i>Vrsta hrane</i>
<i>Kohezivnost, slepljivanje, aglomeracija</i>	Prahovi sa visokim sadržajem šećera
<i>Gubitak funkcionalnosti</i>	Proteinski prahovi
<i>Kristalizacija</i>	Prahovi sa povećanim sadržajem šećera
<i>Strukturni kolaps</i>	Manifestuje se tokom sušenja smrzanjem
<i>Oksidacija inkapsuliranih lipida</i>	Čvrsta hrana koja sadrži masti
<i>Gubitak inkapsuliranih isparljivih jedinjenja</i>	Čvrsta hrana i prahovi koji sadrže isparljive komponente
<i>Gubitak enzimske aktivnosti</i>	Osušena i smrznuta hrana
<i>Majlardove reakcije</i>	Osušena hrana koja sadrži redukovane šećere i proteine
<i>Slepljivanje</i>	Manifestuje se tokom sprej sušenja i sušenja u bubanj sušarama
<i>Gubitak hrskavosti</i>	Biskviti, keks i ekstrudirani snek proizvodi
<i>Gubitak bioaktivnosti proteina, peptide ili enzima</i>	Čvrsti i praškasti proizvodi koji sadrže ove komponente

Metode termalne analize obezbeđuju podatke koji se mogu koristiti za izbor temperature i uslova dehidratacije radi postizanja očuvanja arome, stabilnosti tokom skladištenja, izbegavanja slepljivanja i kontrolu protočnosti prahova (Fitzpatrick et al., 2007). Različiti fazni prelazi i prelazi stanja se dešavaju tokom dehidratacije hrane. Fazni prelazi uključuju isparavanje vode i kristalizaciju komponentata hrane. Međutim, većina dehidriranih namirnica sadrži amorfne čvrste komponente. Ove komponente mogu postojati u staklastom, viskoznom stanju ili kao prehladjeni fluidi (Elgadir et al., 2009). Prelazi kod kojih čvrsti, staklasti materijali prelaze u prehladene tečnosti su prelazi stanja a ne fazni prelazi (Bhandari & Roos, 2017).

Kod amorfni čvrstih komponenti hrane ekstremno osetljivih na vlagu dolazi do značajnih promena tokom vremena što se odražava na kvalitet hrane. Jedan od najvažnijih parametara kvaliteta amorfni čvrstih materijala je staklasti prelaz tj. temperatura staklastog prelaza (T_g). Strukturna relaksacija povezana sa povećanom mobilnošću molekula u blizini staklastog prelaza je primećena kao nagla promena u osobinama hrane iznad temperature staklastog prelaza.

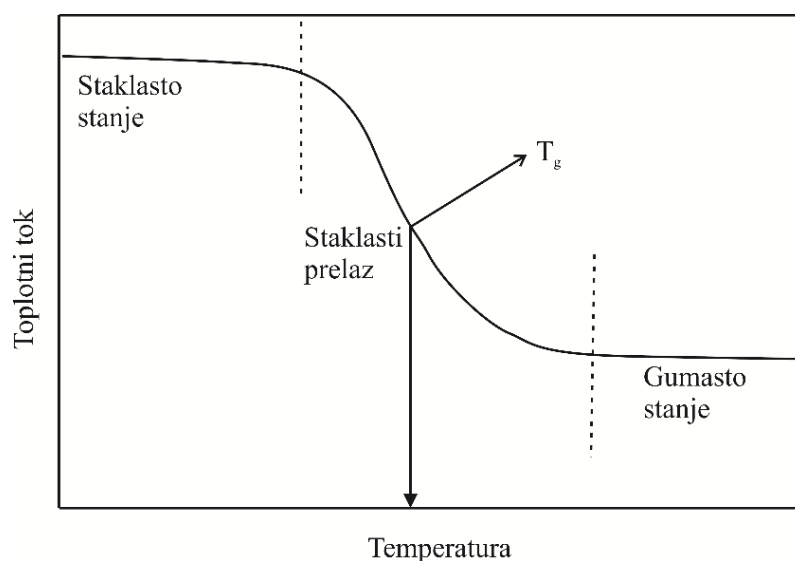
Postoji nekoliko promena u kvalitetu hrane (tabela 8) koje su povezane sa staklastim prelazom. To je slepljivanje, aglomeraciju prahova i hrane sa povećanim i visokim sadržajem šećera, hrskavost, kristalizaciju amorfnih šećera kao i reakcije neenzimatskog i enzimatskog tamnjenja (Roos, 1998).

2.4.2 Staklasti prelaz i stabilnost dehidriranih materijala

Temperatura staklastog prelaza (T_g) je izuzetno važna karakteristika, jer promena molekularne pokretljivosti u okolini T_g uzrokuje značajne promene u fizičkim svojstvima materijala. Amorfn materijali su složeni i postoje u meta-stabilnom stanju (Bhandari & Howes, 1999; Bhandari & Roos, 2017). Temperatura staklastog prelaza amorfnih materijala značajno utiče na sklonost ka stvrdnjavanju materijala. Iznad T_g amorfn prahovi postoje kao tečne gume, a ispod T_g oni se ponašaju kruto, staklasto (Roos, 1998).

Molekularna pokretljivost je vremenski zavisna. Ne može se izmeriti ili definisati egzaktna temperatura staklastog prelaza. Promena toplotnog kapaciteta je karakteristična promena oko staklastog prelaza koja se javlja u temperaturskom opsegu. Temperatura staklastog prelaza se uobičajeno određuje diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom, uglavnom na polovini promene toplotnog kapaciteta kao midpoint T_g (slika 11).

Molekuli unutar amornog materijala su pokretljivi, što znači da se može pojaviti viskozni tok materijala koji je izraženiji iznad T_g . Prisutnost vlage u amornim materijalima deluje kao plastifikator i smanjuje T_g (Aguilera et al., 1993). Materijal može imati značajnu tendenciju zgrudnjavanja iznad T_g do kog može doći ili usled podizanja ili temperature okoline ili zbog povećanja sadržaja vlage. U preglednom radu autora Adhikari et al., (2001) su analizirani faktori koji utiču na slepljivanje amorfnih prahova koji su uobičajeni u prehrambenoj industriji.



Slika 11. Temperatura staklastog prelaza određena DSC tehnikom, (<https://omnexus.specialchem.com/polymer-properties/properties/glass-transition-temperature>, preuzeto 11.05.2019).

U svrhu praćenja stabilnosti, određen je staklasti prelaz kod tropa od jabuke koji je dehidriran u vakuumskoj trakastoj sušari. Na temperaturama 80, 95 i 110 °C, dobijeni su relativno stabilni uzorci čija je aktivnost vode bila 0,11 – 0,22, a T_g 30,6 – 49,7 °C (Yan, 2012). Na T_g utiču razne osobine materijala, sastav materijala, interakcija sa rastvaračem, molekulska težina konstituenta, itd. Prisustvo male količine vode može smanjiti T_g polimera hrane za nekoliko stepeni. Na primer, 5 % vode u skrobu smanjuje T_g sa 250 °C na 150 °C (Jouppila & Roos, 1997). Poznavanje svojstava čistih komponenata je omogućilo razvoj modela za predviđanje T_g (Balasubramanian et al., 2016).

Jedna od najčešće korišćenih jednačina za predviđanje T_g amorfni smeša je Gordon-Taylor-ova se zasniva na zbirnom dejstvu osnovnih termofizičkih svojstava. Očekivana vrednost T_g kompozitne smeše je između T_g vrednosti pojedinih čistih komponenti (Aguilera et al., 1993), i može se izraziti kao:

$$T_{gm} = \frac{X_s T_{gs} + k X_w T_{gw}}{X_s} + k X_w \quad (1)$$

gde je T_{gm} , T_{gs} i T_{gw} su temperature staklastog prelaza smeše, čistih komponenata i vode, X_s i X_w su maseni udeli čistih komponenta i vode, k je Gordon-Taylor-ov parametar. Termodinamički gledano ovaj parametar je ekvivalentan odnosu promena specifične

toplote komponentata smeše na njihovom T_g . Gornja jednačina se uobičajeno koristi za predviđanje staklastog prelaza višekomponentnih sistema hrane i bioloških smeša. Parametri modela (k i T_{gs}) iz jednačine se procenjuju korišćenjem nelinearne regresione analize dok T_{gw} iznosi -135 °C.

Tabela 9. Temperature staklastog prelaza hrane i različitih komponentata hrane, (prilagođeno prema (Bhandari & Roos, 2017))

<i>Komponenta hrane</i>	T_g °C	<i>Hrana</i>	T_g °C
<i>Fruktoza</i>	16	<i>Sladoled</i>	-34.3
<i>Glukoza</i>	36	<i>Med (vlaga 15-18%)</i>	-38 do - 46
<i>Galaktoza</i>	38	<i>Suva jagoda ($a_w=0$)</i>	25
<i>Saharaza</i>	67	<i>Delimično suva jagoda ($a_w=0.75$)</i>	-65
<i>Maltoza</i>	92	<i>Suva jabuka ($a_w=0$)</i>	4,5
<i>Laktoza</i>	105	<i>Delimično suva jabuka ($a_w=0.756$)</i>	-79
<i>Trehaloza</i>	107	<i>Sok od jabuke (osušen smrzavanjem $a_w=0.231$)</i>	-26
<i>Limunska kiselina</i>	12	<i>Tortilje</i>	51 - 89
<i>Jabučna kiselina</i>	-16	<i>Hleb</i>	-12
<i>Vinska kiselina</i>	18		
<i>Mlečna kiselina</i>	-60		
<i>Maltitol</i>	44		
<i>Sorbitol</i>	-4		
<i>Ksilitol</i>	-23		
<i>Glicerol</i>	-80		
<i>Maltodekstrini</i>	100-188		
<i>Skrob</i>	243		

Ova jednačina bi trebalo da se primenjuje samo na mešavine i smeše sa relativno slabim specifičnim intermolekularnim interakcijama. U suprotnom mogu se očekivati velika odstupanja od T_g smeše (Gordon & Taylor, 1952). Poznato je iz literature da su određene T_g za veliki broj komponentata hrane, kao što su šećeri, ugljeni hidrati, proteini, kao i za pojedine osušene ili smrznute namirnice (Bhandari & Roos, 2017), kao što je prikazano u tabeli 9.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Osnovni cilj ovog istraživanja je dobijanje brašna od celokupnog tropa jabuke, pripremljenog primenom prilagođenog industrijskog postupka koji omogućava očuvanje nutritivnih i funkcionalnih osobina brašna, njegova fizičko-hemijska karakterizacija i ispitivanje mogućnosti primene APF-a u prehrambenoj industriji.

Posebni ciljevi su:

- definisanje polazne sirovine u pogledu bezbednosti i kvaliteta, odnosno tropa nastalog pri industrijskoj proizvodnji soka od jabuke
- određivanje vremena sušenja tj. dehidratacije tropa na osnovu temperature staklastog prelaza, sadržaja vlage i aktivnosti vode, najpre u laboratorijskim, a zatim u industrijskim uslovima
- dobijanje dehidratiranog tropa u industrijskim uslovima i mlevenje do željene granulacije, tj. dobijanje APF-a
- hemijska i fizičko-hemijska karakterizacija APF-a, određivanje sastava, sadržaja dijetnih vlakana, ukupnih i pojedinačnih polifenolnih jedinjenja, kao i antioksidativnog kapaciteta i identifikacija funkcionalnih grupa u dobijenom materijalu FTIR analizom
- termalna karakterizacija polazne sirovine i dobijenog APF-a primenom termalne analize (DSC i TGA) i procena njegove strukturne stabilnosti na osnovu temperature staklastog prelaza
- određivanje kinetičkih parametara degradacije APF termogravimetrijskom analizom na temperaturi koja se uobičajeno primenjuje u konditorskoj i pekarskoj industriji
- ispitivanje uticaja brašna (APF) kao dodatka ishrani sa povećanim sadržajem masti na metabolizam ugljenih hidrata i lipida *in vivo*
- određivanje tehno-funkcionalnih osobina APF i procena mogućnosti njegove primene u prehrambenoj industriji

- primena APF-a u konditorskoj industriji, odnosno dobijanje obogaćenog konditorskog proizvoda, poboljšanih funkcionalnih karakteristika zamenom do 75 % pšeničnog brašna APF-om
- određivanje ukupnih polifenola, antioksidativnih i senzornih svojstava obogaćenog i standardnog proizvoda (kontrolni uzorak), njihovo poređenje i definisanje optimalnog udela APF-a u proizvodu
- ispitivanje prihvatljivosti proizvoda sa optimalnim udelom APF od strane potrošača hedonskim testom.

4. MATERIJALI I METODE

4.1 POLAZNI MATERIJAL

4.1.1 Hemikalije

Natrijum hidroksid, hlorovodonična kiselina, borna kiselina, perhlorna kiselina, metilcrveno, amonijum sulfat, petrol etar, silikagel, sumporna kiselina i hromotropna kiselina dinatrijum dihidrat, acetonitril, metanol, D-glukozni test $\geq 99,0\%$, D-fruktozni test $\geq 99,0\%$ i D-saharozni test $\geq 99,0\%$ za tečnu hromatografiju, Celite® 545 AV, galna kiselina, Folin-Ciocalteu's reagens natrijum acetat, galcijalna sirćetna kiselina, aluminijum hlorid, natrijum nitrit i natrijum karbonat (anhidrovani), α -Amilaza termostabilna A-3306, Amyloglukozidaza A9913 i Proteaza P3910 (Merck-KGaA, Darmstadt), megazimski komplet za ukupnu determinaciju dijetetskih vlakana (Megazime, SAD), metilen plavo i aceton (J.T.Baker, Minhen, Nemačka), natrijum hidrogenfosfat, natrijum dihidrogenfosfat monohidrat, etanol i kalijum sulfat (Centrochem doo, Stara Pazova, Srbija), kalijum hidroksid (LACH-NER, s.r.o, Češka) i bakar sulfat (Zorke Pharma, Šabac, Srbija), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilroman-2-karboksilna kiselina (Trolox) i kvercetin (Sigma Aldrich sada Merck). Sve upotrebljene hemikalije i reagensi su bili analitičke ili HPLC čistoće.

4.1.2 Dobijanje brašna od tropa jabuke

Početni materijal bio je trop od jabuke (AP) koji je dobijen nakon ceđenja celih, zdravih, pažljivo odabranih i opranih jabuka (berba 2016) iz fabrike za preradu voća „Fruvita d.o.o.“ (Lunjevac, Smederevo) i „Zdravo organik“ (Selenča), gde je klasifikovan kao otpad. Trop od jabuke je sakupljen odmah nakon proizvodnje soka, transportovan do pogona za sušenje (Sunny delight, Pančevo) gde je osušen na industrijskom nivou u dehidratoru "Solaris" (Proizvođač: Drayer doo, Beograd Srbija, zaštićen patentom - (Patent No. RS20070441 (A), 2009)). Temperatura komore dehidratora nije prelazila 55 °C. Mlevenjem osušenog AP u industrijskom mlinu za keks (Aikom d.o.o., Trstenik) dobijeno je brašno od tropa jabuke. Nakon mlevenja, APF je upakovan u višeslojne

papirne vreće (~10 kg) koje su uskladištene na temperaturama koje ne prelaze sobnu temperaturu, na suvom, dobro provetrenom mestu.

Pet uzoraka brašna APF 1 – 5 dobijeno je od tropa jabuka sledećih sorti: APF1 - mešane sorte (ajdared, jonogold, greni smit i zlatni delišes u proizvoljnim odnosima); APF2 – ajdared; APF3 – mešane sorte (ajdared, jonogold i zlatni delišes u proizvoljnim odnosima); APF4 - greni smit; APF5 – crveni delišes.

Uzorci APF1, APF2 i APF4 su od tropa od jabuka koje su konvencionalno gajene u voćnjacima Smederevskog okruga koji je dobijen u pogonu fabrike „Fruvita d.o.o.“, Lunjevac, Smederevo. Uzorci APF3 i APF5 su od tropa od organski gajenih jabuka iz voćnjaka Južno Bačkog okruga, koji je dobijen u fabrici „Zdravo organik“, Selenča. Uzorci APF1-5 su analizirani paralelno sa najbližim komercijalno dostupnim proizvodom pod nazivom "Apple Egg" (AE) koji je deklarisan kao proizvod na bazi tropa organskih jabuka u koji je dodat pektin (Anti-Grain Foods LLC, DENVER, SAD). Uzorak APF1 je korišćen u *in vivo* ispitivanjima, kao i za primenu u konditorskoj industriji, tj. za proizvodnju čajnog peciva (za ovu svrhu samleven je u dve granulacije do veličine čestica ispod 300 µm (fino) i ispod 1 mm (krupno)). Ovaj uzorak je izabran jer nastaje u najvećoj količini prilikom proizvodnje soka u fabrici „Fruvita“.

4.1.3 Uzimanje uzorka

Neposredno pre analize, bilo je neophodno smanjiti dobijeni industrijski uzorak APF-a (~ 10 kg) metodom četvrtanja. Iz svake pojedinačne vreće APF-a (1 - 5) izručeno je brašno na čistu, inertnu površinu i promešana više puta. Gomila je nivelirana, a zatim podeljena na četiri jednaka segmenta, dva suprotna segmenta su odvojena, a druga dva su odbačena. Preostali segmenti su mešani i dalje smanjivani na isti način. Postupak je ponavljan sve dok početni uzorak nije smanjen na ispod 1 kg. Dobijeni uzorak je podeljen u razdelniku uzoraka Retch PT 100 (Retsch GmbH, Retsch-Allee 1-5, 42781 Haan, Nemačka). Dobijene frakcije su imale oko 100 g. Iz svakog od homogenizovanih uzoraka APF-a, uzete su odgovarajuće količine za dalje analize.

4.1.4 Analiza zdravstvene ispravnosti

Zdravstvena ispravnost APF-a je ispitana u akreditovanoj laboratoriji (Enološka stanica, d.o.o, Vršac) u skladu sa Zakonom o bezbednosti hrane (Sl. glasnik RS, br.41/09), Pravilnikom o kvalitetu proizvoda od voća, povrća, pečurki i pektinskih preparata („Sl.I.SFRJ“ br. 1/79, 20/82, 74/90 i „Sl.I.SRJ 33/95 i 58/95), Pravilnikom o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje („Sl. glasnik RS“ br. 29/14, član 3, član 5, član 6 i član 7), Pravilnikom o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa („Sl.glasnik RS“ br. 72/10), Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti dijetetskih proizvoda („Sl. glasnik RS“ br 75/2015).

4.2 HEMIJSKA I FIZIČKO-HEMIJSKA ANALIZA BRAŠNA OD TROPA JABUKE

4.2.1 Određivanje hemijskog sastava i aktivnosti vode

Sadržaj vlage određen je gravimetrijski na temperaturi od 105 ± 5 °C u sušnici sa kontrolisanom temperaturom dok se ne postigne konstantna težina. Sadržaj proteina, masti i pepela određen je korišćenjem odgovarajućih AOAC metoda (AOAC, 2000). Aktivnost vode osušenih APF uzoraka određena je pomoću a_w -metra Testo 650, na 25 °C (Testo AG, D-79853 Lenzkirch, Nemačka).

4.2.2 Određivanje sadržaja ukupnih ugljenih hidrata, glukoze, fruktoze i saharoze

Ukupan sadržaj ugljenih hidrata, kao i sadržaj glukoze, fruktoze i saharoze, određen je tačnom hromatografijom visoke performanse na uređaju HPLC Alliance Waters 1515 sa detektorom RI (Waters 2414, sens = 64) i kolonom za analizu ugljenih hidrata 3,9 k 300 mm (Waters Corporation Milford, MA 01757 SAD). Mobilna faza je acetonitril/voda (80/20), protok $1,5 \text{ mL min}^{-1}$. Odmereno je 1,00 g uzorka i rastvoreno u vodi, potom je uzorak zagrejan na temperaturi od 50 °C tokom 20 min, kvantitativno prenet u normalni sud od 25 mL i dopunjen dejonizovanom vodom. Dobijena suspenzija je filtrirana kroz filter 0,22 μm . Injektovana zapremina je 10 μL .

4.2.3 Određivanje sadržaja ukupnih dijetnih vlakna

Ukupna dijetna vlakna određena su standardnom enzimsko-gravimetrijskom AOAC metodom 985.29 (AOAC, 2000). Prethodno osušeni uzorci se enzimatski razgrađuju sa proteazom i amiloglukozidazom radi uklanjanja proteina i skroba. Dodaje se 280 mL 95 % etil-alkohola zagrejanog na 60 °C i ostavi 60 minuta kako bi se izvršila precipitacija rastvorljivih vlakana. Nakon sušenja ostaci se mere. Jedna porcija od duplikata se analizira na sadržaj proteina a druga na sadržaja pepela (spaljivanje u peći za žarenje na 525 °C).

Ukupna dijetna vlakna = masa ostatka – masa (proteina + pepela).

4.2.4 Određivanje sadržaja celuloze

Sadržaj celuloze određen je prema (ISO 6865, 2000). Metoda se zasniva na tretiranju dela uzorka za ispitivanje ključalom razblaženom sumpornom kiselinom, ostatak se odvaja filtracijom, ispira i tretira ključalim rastvorom kalijum hidroksida. Ostatak se odvaja filtriranjem, ispere i posle sušenja i žarenja izmeri. Gubitak mase nakon žarenja odgovara masi sirove celuloze u delu uzorka za ispitivanje.

4.2.5 Određivanje sadržaja pektina

Količina ukupnog pektina određena je spektrofotometrijski, modifikovanom karbazolnom metodom, (Dietz & Rouse, 1953). U reakciji pektina sa karbazolom u koncentrovanoj sumpornoj kiselini razvija se crvena boja. Apsorbancija je merena na 525 nm. Galakturonska kiselina je korišćena kao referentni standard. Rezultati su izraženi u g na 100 g uzorka.

4.2.6 Određivanje sadržaja makro i mikroelemenata

Uzorci brašna tropa od jabuke su podvrgnuti digestiji u mikrotalasnom digestoru (Milestone, Ethos 1, Italija) uz prethodnu pripremu rastvaranjem 0,5 g uzorka u 7 mL HNO₃ uz dodatak 1 mL vodonik peroksida (30 %). Nakon digestije uzorci su analizirani tehnikom Indukovano spregnute plazme (ICP-OES spektrofotometar, Agilent 5100).

Uzorak se uvodi u izvor plazme gde isparava i razgrađuje se na slobodne atome i jone. Svaki od prisutnih elemenata u plazmi se karakteriše talasnom dužinom emisije linije. Rezultati su izraženi u mg kg^{-1} .

4.2.7 Određivanje sadržaja ukupnih polifenolnih jedinjenja

Sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja (eng. Total Polyphenolic Content - TPC) određen je spektrofotometrijski prema metodi po Folin-Ciocalteu (FC). Folin-Ciocalteu-ovo reagens sadrži kompleks fosfovolframove/ fosfomolibdenske kiseline (Singleton&Rossi, 1965). Metoda se zasniva na transferu elektrona u alkalnoj sredini sa polifenolnih i drugih redukujućih jedinjenja na molibden, pri čemu se formira plavi kompleks, čija se apsorbanca meri spektrofotometrijski na 760 nm. Uzorak za analizu (brašno i čajno pecivo) je ekstrahovan tokom 60 min rastvorom vode i etanola u odnosu 1:1 na sobnoj temperaturi i centrifugiran na 12 000 rpm tokom 10 min. Alikvot ekstrakta (0,25 mL) je pomešan sa 10 puta razblaženim FC reagensom (1,25 mL), reakciona smeša je dobro promešana i ostavljena na tamnom mestu 6 minuta. Nakon toga, smeši je dodat 1 mL rastvora Na_2CO_3 (75 g L^{-1}). Posle homogenizacije dobijena reakciona smeša je ostavljena 2 časa na sobnoj temperaturi i na tamnom mestu. Apsorbanca je merena na 760 nm (Singleton&Rossi, 1965). Koncentracija polifenolnih jedinjenja je očitavana sa kalibracione krive standardnog rastvora galne kiseline, a rezultati su izraženi u ekvivalentima galne kiseline ($\text{mg GAE po g uzorka}$).

4.2.8 Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida

Ekstrakti su pripremljeni na isti način kao za određivanje ukupnih polifenola. Sadržaj ukupnih flavonoida određen je spektrofotometrijski prema ranije objavljenoj metodi sa nekim modifikacijama (Zhishen, Mengcheng, 1999). U ekstrakt (2,5 mL) pomešan sa 5 % rastvorom NaNO_2 (150 μL) je nakon 6 minuta dodat 10 % AlCl_3 (150 mL) a zatim je nakon 5 minuta dodat rastvor 1 mol L^{-1} NaOH (1 mL) i destilovana voda (1,2 mL). Apsorbancija je merena na 510 nm. Kvercetin je korišćen kao standard, a rezultati su izraženi u ekvivalentima kvercetina (mg QE g^{-1}).

4.2.9 Određivanje sposobnosti neutralizacije DPPH radikala

Sposobnosti neutralizacije DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikala određena je pomoću spektrofotometrijske metode neznatno modifikovane u odnosu na prethodno objavljen postupak (Kaneda et al., 1995). Ekstrakti su pripremljeni prema 4.2.7. Alikvot uzorka (0,2 mL) je pomešan sa 2,8 mL DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) rastvora ($1,86 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ DPPH u etanolu i 0.1 M acetatni pufer (pH = 4,3) u zapreminskom odnosu 2 : 1 (v/v)). Slobodno radikalska aktivnost određena je merenjem apsorbcije rastvora na 525 nm nakon 40 minuta reakcije na sobnoj temperaturi u mraku. Trolox je korišćen kao standard i rezultati su izraženi kao mmol Trolox ekvivalenta (TE) po 100 grama uzoraka (mmol TE / 100 g).

4.2.10 Određivanje sposobnosti neutralizacije ABTS radikala

Primenjena metoda je zasnovana na sposobnosti molekula antioksidansa da redukuje stabilni ABTS (2,2'-azino-bis(3-etil-benzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (Re et al., 1999). Zapremina od 30 µL svakog razblaženog uzorka pomešana je sa 3 mL ABTS rastvora. Nakon 6 minuta apsorbcija je merena na 734 nm. Trolox je korišćen kao standard. Rezultati su izraženi kao ekvivalent antioksidativnog kapaciteta Trolox-a (TE) u mmol po 100 grama uzorka (mmol TE / 100 g).

4.2.11 Određivanje antioksidativne aktivnosti HPMC metodom

Polarografska merenja su izvedena prema postupku koji je opisan u radu (Gorjanović et al., 2012), na uređaju PAR (engl. Princeton Applied Research) 174A sa X-Y pisačem (Houston Instruments, Omnigraph 2000). Elektrodni sistem se sastojao od tri elektrode: radne kapljuće živine elektrode, zasićene kalomelove elektrode (ZKE) i platinske elektrode. Polarografska ćelija bila je zapremine 30 mL. Brzina isticanja žive bila je 1 s. Brzina promene polarizujućeg napona iznosila je 10 mV s⁻¹, dok je početni potencijal bio 0,1 mV prema ZKE. Rezultati su izraženi kao procenat smanjenja anodne struje po mL ekstrakta (% mL⁻¹). Sva merenja su izvedena u tri ponavljanja.

4.2.12 Identifikacija i određivanje sadržaja pojedinačnih polifenolnih jedinjenja HPLC metodom

Priprema uzoraka

Trop od jabuke (1 g) je ekstrahovan sa 20 mL smeše etanola i vode (70/30 v/v), uz dodatak 0,1 % HCl tokom 24 h, uz konstantno mešanje. Dobijeni etanolni ekstrakti su proceđeni, a potom upareni pomoću vakuum uparivača na temperaturi od 40 °C. Ostatak nakon uparavanja je rastvoren u 5,0 mL smeše metanola i vode (1/1 v/v) i čuvan na 4 °C do analize. Pre analize ekstrakti su proceđeni kroz špric-filtre sa porama veličine 0,45 µm.

Priprema standardnih rastvora

Osnovni rastvor smeše standarda polifenolnih jedinjenja napravljen je rastvaranjem u metanolu (HPLC čistoće) tako da svaki od njih ima koncentraciju 1000 mg L⁻¹. Razblaživanjem osnovnog rastvora mobilnom fazom (0,1 % sirćetne kiseline (eluent A) u ultračistoj vodi i acetonitril (eluent B)), dobijena je serija radnih rastvora sledećih koncentracija: 0,01; 0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00 mg L⁻¹. Polazni i radni rastvori su čuvani u mraku na 4 °C.

Kvantitativna analiza polifenolnih jedinjenja

Razdvajanje i kvantifikacija polifenola u uzorcima APF1-5 i uzorku AE urađeni su na Dionex Ultimate 3000 HPLC sistemu sa DAD detektorom i TSQ Quantum AccessMax masenim spektrometrom sa jonskim izvorom u obliku elektronsprej jonizacije (200 °C) u negativnom modu (od 100 do 1000 m/z) – trostruki kvadrupol (UHPLC-DADMS/MS). Napon spreja je bio 5 kV, a temperatura kapilare 300 °C. Eluiranje je izvedeno na 40 °C na Synchronis C18 (100 × 2,1 mm, 1,7 µm) analitičkoj koloni prema sledećem programu: 0,0 – 1,0 min, 5 % (B); 1,0 – 16,0 min, od 5 % do 95 % (B); 16,0 – 16,1 min, od 95 % do 5 % (B), na kraju 5 % (B) 4 min. Protok je bio 0,3 mL min⁻¹. a talasna dužina DAD detektora 254 i 280 nm. Injekciona zapremina je bila 5 µL. U cilju kvantifikacije polifenola za svaki standard posebno je snimljen molekulski jon i dva najintenzivnija fragmenta iz MS 2 spektra. Xcalibur softver (verzija 2.2) korišćen je za kontrolu instrumenta. Polifenoli su

identifikovani poređenjem sa komercijalnim standardima. Ukupan sadržaj svakog jedinjenja očitano je na osnovu jednačine kalibracione krive i izražen kao mg kg^{-1} (Gašić et al., 2015).

4.2.13 Kvalitativna analiza Infracrvenom spektroskopijom sa Furijeovom transformacijom (FT-IR)

Da bi se identifikovale funkcionalne grupe u uzorcima, korišćena je Fourier transform infracrvena spektroskopija (FT-IR). Snimanje FT-IR spektara vršeno je na Thermo Scientific Nicolet 6700 Fourier-transform infracrvenom spektrometru pomoću jedinice za uzorkovanje sa prigušenom totalnom refleksijom (eng. Attenuated Total Reflection - ATR). Spektri su snimljeni u intervalu od 4000 do 500 cm^{-1} pri rezoluciji od 4 cm^{-1} .

4.2.14 Ispitivanje termalnog ponašanja brašna od tropa jabuke diferencijalno skenirajućom kalorimetrijom (DSC)

Za DSC eksperimente korišten je diferencijalni skenirajući kalorimetar (DSC, Q1000, TA Instruments, New Castle, DE, USA). Od svakog uzorka APF-a uzeta su tri nezavisna uzorka ($5 - 7 \text{ mg}$) i stavljena u Al čančice, ohlađena od 20 do $-90 \text{ }^\circ\text{C}$, zatim je ekvilibrirano tokom 5 minuta i snimljen termogram od -90 do $150 \text{ }^\circ\text{C}$, sa kontrolisanom brzinom zagrevanja od $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, pri protoku N_2 od 50 mL min^{-1} . Svaki termogram je analiziran pomoću softvera TA Advantage Universal analysis 2000, verzija 4.5A. Staklasti prelaz je okarakterisan sa tri temperature: početna temperatura (T_{gon}), srednja temperatura (T_{g}) i krajnja temperatura (T_{gend}). Endotermni pik bio je okarakterisan početnom (T_{on}), temperaturom maksimuma pika (T_{p}) i krajnjom temperaturom prelaza (T_{end}).

4.2.15 Ispitivanje termalnog ponašanja brašna od tropa jabuke termogravimetrijskom analizom (TGA)

Termalna degradacija uzoraka proučavana je termogravimetrijskom (TG) analizom. Merenja su izvršena na TA Instrumentima TGA Q500, Thermogravimetric Analyzer (Delaware, SAD), pri protoku azota od 60 mL min^{-1} . Tri nezavisna uzorka ($5 - 7 \text{ mg}$) su postavljena u platinsko čanče, ubačena u TG peć i zagrevana od 25 do $700 \text{ }^\circ\text{C}$ pri brzini

grejanja od 5 °C min⁻¹. Dobijene TG krive i derivativne krive (DTG) korišćene su za analizu termalnih osobina uzoraka. Karakteristične temperature procesa termalne degradacije (početna temperatura - T_s i krajnja temperatura - T_{end}) određivane su iz DTG krive, koristeći softver TA Universal Analysis 2000. T_s i T_{end} su određeni kao minimum na početku i na kraju svakog pika degradacije na DTG krivi. Početne temperature (T_{on}) određene su kao presek ekstrapolirane početne linije i tangentne linije (prednja ivica) DTG krive.

4.2.16 Određivanje kinetike degradacije brašna od tropa jabuke

Prilikom izvođenja kinetičkih studija, primenjene su preporuke Komiteta ICTAC kinetike za sakupljanje kinetičkih podataka (Vyazovkin et al., 2014) i za kinetičke proračune (Vyazovkin et al., 2011) pri čemu su dobijeni kinetički parametri (efektivna energija aktivacije - E i preeksponecijalni faktor - A) procesa toplotne degradacije analiziranih uzoraka.

Neizotermalni diferencijalni izokonverzijski metod Friedmana (Friedman, 1964) je korišćen za proračun efektivne energije aktivacije. Korišćena je sledeća jednačina:

$$\ln \left[\beta_i \left(\frac{d\alpha}{dT} \right)_{\alpha,i} \right] = \text{const} - \frac{E_\alpha}{RT_{\alpha,i}} \quad (2)$$

gde je β brzina zagrevanja (K / min), α je stepen konverzije (deo ukupnog gubitka mase u procesu termalne degradacije), R je univerzalna gasna konstanta (8.314 J mol⁻¹ K⁻¹), a T je temperatura (K). Indeksi i i α se uvode da označe pojedinačnu brzinu grejanja i vrednosti vezane za određeni obim konverzije, redosledno. Kod svakog datog α , vrednost E_α se određuje iz nagiba linearne regresije sa leve strane jednačine (2) prema 1 / T_{α,i} (T_{α,i} je temperatura pri kojoj je stepen konverzije α dostignut pod i-tom brzinom grejanja). Uzorci su zagrevani na pet različitih brzina (5, 10, 15, 20 i 30 °C min⁻¹), počevši od 25 do 700 °C, a deo TG / DTG kriva koji odgovara toplotnoj degradaciji uzoraka jabuka korišćen je za određivanje (d α / dT)_{α,i}. Vrednosti E_α su izračunate u opsegu a od 0,05 do 0,95 sa korakom od 0,05. Logaritamske vrednosti preeksponecijalnih faktora pri obimu konverzije α (ln (A_α)) su određene pomoću efekta kompenzacije, kako je opisao

Vyazovkin (Vyazovkin, 2015). Da bi se utvrdila toplotna stabilnost ispitanih uzoraka, konstante brzine (k) procesa toplotne degradacije na 200 °C izračunate su Arneniusovom jednačinom.

4.3 ISPITIVANJE UTICAJA BRAŠNA OD TROPA JABUKE NA METABOLIZAM GLUKOZE I LIPIDA - *IN VIVO*

4.3.1 Opis eksperimenta

Etički odbor za eksperimentalnu zaštitu životinja Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu je odobrio ispitivanje efekta brašna dobijenog od tropa jabuke *in vivo* i na osnovu rešenja broj: 323-07-00617/2017-05 od 01.02.2017 koje je izdalo Ministarstvo poljoprivrede i zaštite životne sredine-Uprava za veterinu, Prilog 1. Oglad "Ispitivanje efekata tropa od jabuka na lipidni i glikemijski status miševa (C57BL/6J) uspešno je obavljen u Laboratoriji za biomedicinska ispitivanja, Galenika a.d., Pasterova 2, Beograd, uz nadzor veterinara zaduženih za zdravlje i dobrobit oglednih životinja.

Za *in vivo* ispitivanje efekta tropa od jabuka na lipidni i glikemijski status korišćeni su miševi C57BL/6J starosti osam nedelja, sa početnim telesnim težinama od 18 - 22 g (dobijeni od Vivarijuma Galenika a.d., Beograd, Srbija). Životinje su nasumično raspoređene i smeštene u grupe od po osam u standardnim kavezima smeštenim u sobi sa 12 h svetlo-tamnim ciklusom na temperaturi od 22 ± 3 °C. Eksperiment je obavljen na ukupno 40 životinja, podeljene u 4 eksperimentalne grupe (G1 - 4) i jednu kontrolnu G5. Prva i druga grupa (G1 i G2) su hranjene masnom hranom sa 20 % masti i tropom od jabuke u dozi od 10 i 20 mg dnevno, grupa G3 masnom hranom uz dodatak antilipemičnog leka Simvastatina, a G4 je dobijala samo masnu hranu. Doza Simvastatina određena je prema dnevnoj dozi za ljudsku upotrebu. Peta tj. kontrolna grupa (G5) je uzimala standardnu hranu u vidu peleta za glodare tokom celog eksperimentalnog perioda. Životinje su pojene rastvorom saharoze (20 %). Tokom 120 dana sve grupe su imale pristup hrani i vodi *ad libitum*. Aktivnost, ponašanje i opšte zdravlje životinja su dnevno praćeni. Telesna težina, potrošnja hrane i vode su beležene svake nedelje i na kraju eksperimenta. Na kraju eksperimenta određen je nivo glukoze i lipida.

4.3.2 Ispitivanje akutne oralne toksičnosti

Ispitivanje akutne oralne toksičnosti je vršeno aplikovanjem ispitivanog ekstrakta u dozi od 2000 mg kg⁻¹ eksperimentalnim životinjama nakon čega je njihovo ponašanje posmatrano u toku 72 sata.

4.3.3 Biohemijska analiza seruma

Krv je uklonjena iz repne vene na kraju eksperimenta u Vivariumu Galenika a.d. Zatim su životinje anestetizirane intravenoznim tiopentalom, a krv je sakupljena, centrifugirana da se dobije serum, i skladištena na -18 °C za krvne testove. Analize su sprovedene na uređaju Random access automatic analizator A15 Bio Systems S.A. Serumski triacilgliceroli (TG), ukupni holesterol (TC) i glukoza (GLU) su određeni pomoću kompleta reagensa. Ukupni TC i TG u serumu određeni su odgovarajućim enzimatskim kolorimetrijskim postupcima upotrebom komercijalnog kompleta prema uputstvima proizvođača, a glikemijski status je određen pomoću "Prisma" seta za određivanje nivoa šećera u krvi.

4.4 ODREĐIVANJE TEHNO-FUNKCIONALNIH KARAKTERISTIKA BRAŠNA OD TROPA JABUKE

4.4.1 Određivanje veličina čestica

Veličina čestica uzorka utvrđena je prosejavanjem brašna kroz sita. Distribucija veličine čestica krupnog i finog APF-a (APFc i APFf) utvrđena je prosejavanjem 100 g brašna kroz set sita veličine pora od 1 mm, 500 µm, 300 µm, 160 µm, 125 µm, 90 µm, 63 µm i 45 µm. Preostala masa na vrhu svakog sita je merena i korišćena je za izračunavanje raspodele veličine čestica uzorka (Jacobs et al., 2015). Svi uzorci APF-a koji su dalje analizirani su samleveni ispod 300 µm, dok je uzorak APF1 koji je korišćen za izradu čajnog peciva dobijen u dve granulacije – krupno (< 300 µm) i fino brašno (< 1 mm).

4.4.2 Određivanje nasipne i tapkane gustine

Nasipna gustina određena je prema metodi Elkhalfa et al., (2005). Zatvorena menzura od 50 mL je napunjena sa 10 g APF-a i očitana je zauzeta zapremina u rastresitom stanju (nasipna gustina), a zatim je tapkanjem materijal sabijen do postizanja maksimalnog smanjenja zapremina (tapkana gustina). Zapremina APF je direktno očitana i rezultati su izraženi kao g mL^{-1} .

4.4.3 Određivanje kapaciteta vezivanja vode

Kapacitet vezivanja vode (eng. - water holding capacity - WHC) određen je u skladu sa prilagođenom metodom (Rana et al., 2015). Uzorci APF (1 g) pomešani su sa destilovanom vodom (30 mL) u kiveti za centrifugu od 50 mL. Suspenzije su mešane i ostavljene 24 h na sobnoj temperaturi. Posle centrifugiranja na 3600 rpm tokom 20 min, supernatant je uklonjen i ostatak je izmeren. Kapacitet vezivanja vode je izražen kao gram vode po gramu uzorka.

4.4.4 Određivanje kapaciteta vezivanja ulja

Uzorak APF (1 g) je pomešan sa 10 mL suncokretovog ulja u kiveti za centrifugu. Smeša je stajala 24 h na sobnoj temperaturi bez pomeranja. Posle centrifugiranja na 3600 rpm tokom 25 min, supernatant je dekantovan i ostatak je izmeren. Kapacitet vezivanja ulja (eng. Oil holding capacity – OHC) je izražen kao gram ulja po gramu uzorka (Elkhalfa et al., 2005).

4.4.5 Određivanje kapaciteta bubrenja

Uzorak APF-a (1g) je nakvašen sa 30 mL vode u graduisanoj kiveti za centrifugu. Posle 18 sati uravnotežavanja, zauzeta zapremina je zabeležena i izražena kao zapremina po gramu suvog uzorka (Robertson et al., 2000), što predstavlja kapacitet bubrenja (eng. swelling water capacity – SWC).

Kapacitet bubrenja (mL g^{-1}) = Zapremina zauzeta uzorkom (mL) / masa originalnog uzorka (g)

4.4.6 Određivanje kapaciteta hidriranja

Graduisana menzura od 10 mL se napuni destilovanom vodom, 0.5 g APF-a se pažljivo doda kako bi se izbegla adhezija čestica na zidove cilindra i ostavi da stoji 15 min. Razlika između zapremine vode pre i nakon dodavanja uzorka zabeležena je kao mL pomerenog nivoa vode i izražena u g mL^{-1} , što predstavlja kapacitet hidriranja (eng. hydrated density – HD) (Robertson et al., 2000).

Hidirana gustina = težina uzorka (g) / izmeštanje nivoa vode (mL)

4.5 PROIZVODNJA I ANALIZA ČAJNOG PECIVA

4.5.1 Proizvodnja čajnog peciva sa različitim udelima brašna od tropa jabuke

Proizvodnja čajnog peciva u industrijskim uslovima je obavljena u pogonu konditorske fabrike „Gold“ iz Mladenovca. Uzorak mešanih sorti jabuka (APF1) je korišćen za izradu čajnog peciva samleven je u dve granulacije – krupno (< 1 mm) i fino (< 300 μm). Testo za kontrolne uzorke čajnog peciva (kontrola) pripremljeno je prema tradicionalnoj recepturi, belo pšenično brašno 58,8 % (tip 500, sadržaj pepela 0,5 %), palmina mast 19,6 %, šećer u prahu 13,7 %, invertni šećer 3,9 %, so 1,9 % i prašak za pecivo (natrijum hidrogen karbonat), i pomešano jednostrukom faznom procedurom. Svi sastojci su nabavljeni od lokalnih dobavljača. Nakon prolaska kroz valjak za oblikovanje testa, na mašini za rezanje formirano je čajno pecivo prečnika 40 mm i debljine 5 - 6 mm koje je pečeno u industrijskoj peći na 175 °C tokom 10 minuta. Pečeno čajno pecivo je ohlađeno prirodnim putem na konvejeru. Uzorci sa APF-om su napravljeni na isti način kao i kontrolni, sa tom razlikom što je APF korišćen kao delimična zamena pšeničnog brašna (25, 50 i 75 %). Korišćene su dve granulacije APF-a - fino (F) i krupno (C). Uzorci čajnog peciva (C) koji sadrže odgovarajući udeo finog ili krupnog APF-a označeni su kao: CF25, CF50, CF75, CC25, CC50 i CC75. Svi proizvedeni uzorci čajnog peciva upakovani su u odgovarajuću ambalažu i ostavljeni na tamno i hladno mesto do dalje analize.

4.5.2 Određivanje ukupnog sadržaja polifenolnih jedinjenja i antioksidativna aktivnost čajnog peciva

Usitnjeno čajno pecivo (100 mg) je ekstrahovano tokom 60 min na sobnoj temperaturi u smeši alkohola i vode (1:1, v/v) (1400 μ L), a zatim centrifugirano (broj obrtaja 12 000 rpm) deset minuta. Sadržaj ukupnih polifenola i flavonoida (TPC i TFC) kao i antioksidativna aktivnost (ABTS i DPPH) ekstrakata određena je prema proceduri navedenoj u poglavljima 4.2.7 – 4.2.10.

4.6 SENZORNA ANALIZA OBOGAĆENOG ČAJNOG PECIVA

4.6.1 Ispitivanje senzornog kvaliteta metodom bodovanja

Evaluacija senzornog kvaliteta obavljena je na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Beogradu dve nedelje nakon proizvodnje (0 m) i nakon jedne godine (12 m) skladištenja. Celokupni senzorni kvalitet određen je metodom bodovanja (0-5), pri čemu su ocenjene reprezentativne senzorne osobine: izgled (boja, površina, veličina, oblik), tekstura ((struktura, prelom, ispečenost), žvkljivost) i aroma (miris, ukus), Prilog 3. Osam obučanih evaluatora iz redova članova osoblja Poljoprivrednog fakulteta sa iskustvom u senzornom ocenjivanju konditorskih proizvoda je angažovano na obe sesije panela. Dodeljene ocene od strane članova panela su ponderisane odgovarajućim koeficijentima važnosti (KV), koji su formirani na osnovu uticaja svakog od ocenjivanih parametara na ukupni senzorni kvalitet proizvoda. Ponderisana srednja vrednost ocene dobijena je kao izraz konačnog kvaliteta proizvoda. Kategorije kvaliteta su određene u zavisnosti od opsega finalnih ocena: < 2,5 - ne ispunjava zahteve kvaliteta; 2,5 - 3,5 - dobar kvalitet, 3,5 - 4,5 - vrlo dobar kvalitet, 4,5 - 5,0 - odličan kvalitet.

4.6.2 Ispitivanje prihvatljivosti od strane potrošača hedonskim testom

U cilju ispitivanja stavova potrošača u pogledu stepena prihvatljivosti dobijenog proizvoda korišćen je metod skaliranja, primenom hedonske skale (1 - 9), Prilog 4. U ispitivanju je učestvovalo 115 potrošača iz redova studenata smjera Prehrambene tehnologije Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, čiji je zadatak bio da

ocene uzorak koji je prethodno dobio najviše ocene od strane panela - čajno pecivo sa 50 % APF-a krupne granulacije. Na odabranom uzorku ocenjeni su sledeći parametri "ukupna prihvatljivost", "prihvatljivost teksture", "prihvatljivost ukusa" i "prihvatljivost mirisa" korišćenjem hedonske skale od 9 podeoka (1 = uopšte mi se ne dopada, 5 = niti mi se dopada, niti mi se ne dopada, 9 = izuzetno mi se dopada, Prilog 3A). Proizvod je ocenjen i primenom skale –“upravo onako kako treba da bude” (eng. Just About Right Scale - JAR), (1 = premalo izraženo ocenjivano svojstvo, 5 = JAR, 9 = previše izraženo ocenjivano svojstvo, Prilog 3B). Ova skala meri stepen prihvatljivosti isključivo u pogledu intenziteta izraženosti pojedinačnih svojstava sa utiskom o ukupnoj prihvatljivosti (Lawless et al., 2010). Svojstva koja su ocenjivana: za „intenzitet boje” (previše svetlo, JAR, previše tamno), "miris na jabuku" (nedovoljno izražen, JAR, previše izražen), "hrskavost" (nedovoljno hrskav, JAR, previše hrskav), "ispečenost" (nedovoljno pečen, JAR, prepečen) i "žvakljivost" (suviše lako se žvaće, JAR, previše teško se žvaće). Kombinovanje podataka dobijenih primenom JAR i hedonske skale urađena je analiza pada srednje vrednosti ocene ukupne prihvatljivosti (engl. Mean Drop Analysis) kako bi se dobio uvid u odstupanja ispitivanog proizvoda u odnosu na neki idealan proizvod po mišljenju potrošača.

4.7 STATISTIČKA ANALIZA

Statistička analiza izvedena je pomoću XLSTAT (verzija 2014.5.03, Addinsoft, New York, SAD), dodatka za analizu i statistiku u MS Excel-u. Sva merenja su sprovedena u triplikatu (tri nezavisna uzorka), a rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija (SD). Analiza varijanse (ANOVA) praćena post-hoc Tuckey testom je korišćena za poređenje srednjih vrednosti i utvrđivanje razlika između APF-a pripremljenih od mešanih i pojedinačnih sorti jabuka. Za ispitivanje odnosa između različitih merenih parametara i mogućeg grupisanja ispitanih uzoraka, primenjena je analiza glavnih komponenta (eng. Principal Component Analysis - PCA).

Podaci o testu prihvatljivosti potrošača su podvrgnuti oceni pada srednje vrednosti kako je opisano u (Schraidt, 2009). Rezultati JAR-a su grupisani u tri kategorije: „ispod JAR" (rezultati 1, 2 i 3); „u JAR“ (4, 5 i 6); i „iznad JAR" (7, 8 i 9). Pad srednjih vrednosti su

izračunati umanjnjem srednjeg hedonskog rezultata za svaku kategoriju koja nije JAR od sredine kategorije JAR. Granična vrednost ukupne hedonske ocene JAR-a upoređena su pomoću ANOVA i Tuckey's HSD testa. Minimalna procentna ocena za "Nije samo desno" (prekid) postavljena je na 20 % ukupnog potrošačkog panela.

5. REZULTATI I DISKUSIJA

5.1 DOBIJANJE BRAŠNA OD TROPA JABUKE

5.1.1 Prelimarno određivanje vremena dehidracije na osnovu temperature staklastog prelaza, sadržaja vlage i aktivnosti vode

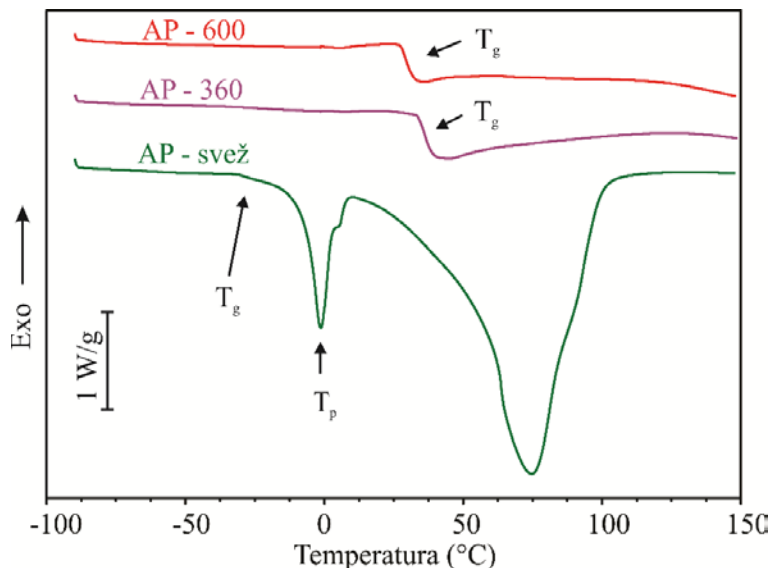
Preliminarna ispitivanja u smislu određivanja vremena dehidracije tropa od jabuke su vršena u laboratorijskom dehidrotoru na temperaturi od 55 ± 1 °C. Snimljeni su uzorci vlažnog tropa, kao i uzorci nakon 360 min i 600 min dehidracije. DSC krive uzoraka tropa od jabuke prikazane su na slici 12. Dva karakteristična prelaza su prisutna na DCS krivoj (slika 12) svežeg tropa od jabuke čiji je sadržaj vlage 75 % (tabela 10). Maksimumi na oko -1,35 °C i 75 °C predstavljaju topljenje leda i isparavanje vode. Staklasti prelaz osušenih uzoraka tropa od jabuka nakon dehidracije u trajanju od 360 min i 600 min bili su na 36,3 °C i 29,1 °C dok je aktivnost vode bila 0,45 i 0,2 (Zlatanović et al., 2018). Dobijeni rezultati su u saglasnosti prethodno objavljenim podacima vezanim za prah jabuke dobijen iz cele jabuke čiji je T_g bio 34 °C pri $a_w = 0$ (Jakubczyk et al., 2010).

Tabela 10. Vlaga, temperatura staklastog prelaza, temperatura topljenja leda i aktivnost vode svežeg i dehidriranog tropa od jabuke nakon 360 i 600 min

uzorak	Sadržaj vlage (%) 105°C	T_{gon} (°C)	T_{gmid} (°C)	T_{gend} (°C)	$T_{topljenje\ leda}$ T_p (°C)	a_w
AP-svež	75.0	-30,6	-28,3	-26,7	-1,35	0,91
AP-360	9.5	33,8	36,3	38,7	-	0,45
AP-600	6.4	27,6	29,1	31,8	-	0,20

Dehidrirana hrana s sadržajem vlage ispod 10 % i aktivnošću vode ispod 0,6 smatra se mikrobiološki stabilnom. Trop od jabuke ima visok sadržaj dijetnih vlakana (Dhingra et

al., 2012). Poznato je da prisustvo visoko molekularnih polisaharida povećava T_g i osigurava stabilnost i dugotrajno skladištenje hrane sa niskim sadržajem vlage i niskom aktivnošću vode.



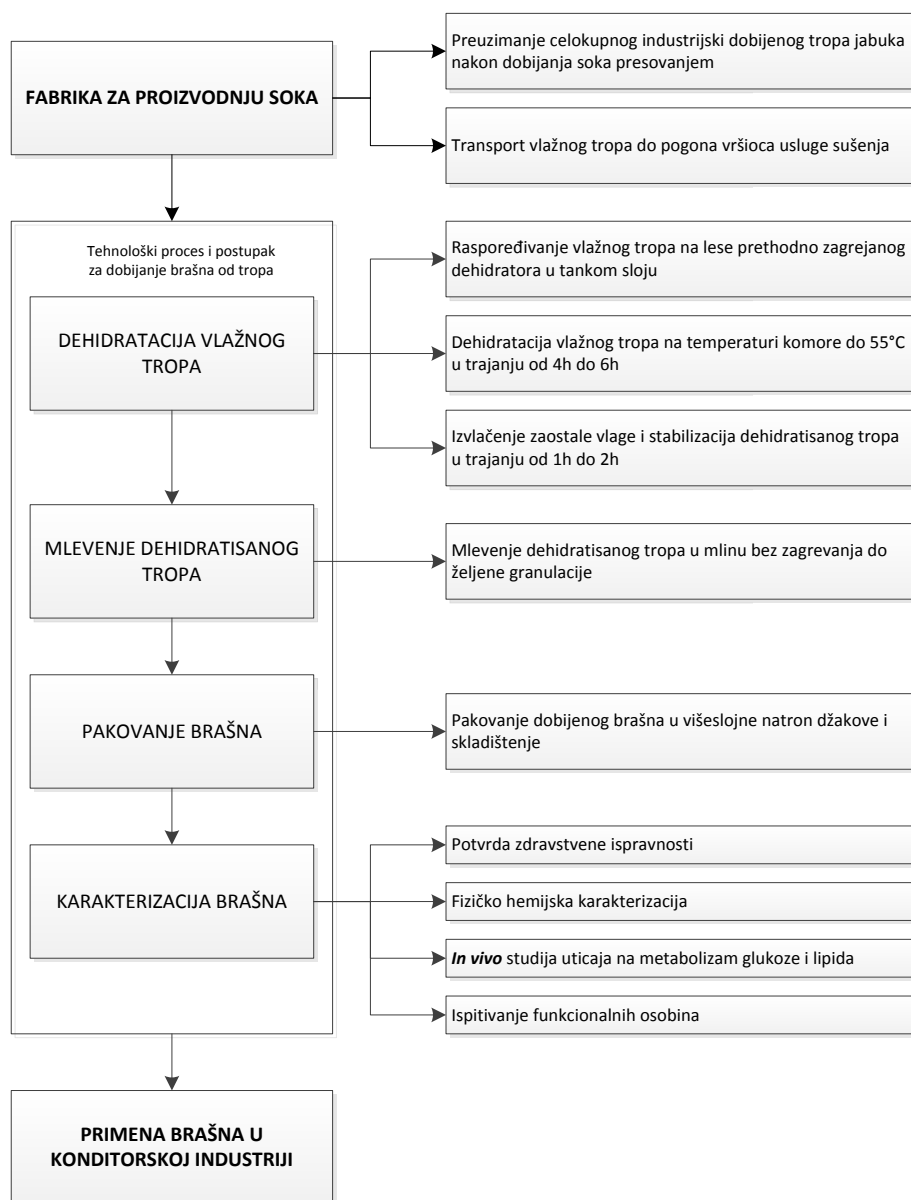
Slika 12. DSC krive svežeg i dehidriranog tropa jabuke (AP) nakon 360 i 600min.

Na osnovu temperatura staklastog prelaza 36,3 °C i 29,1 °C za AP-360 i AP-600, može se zaključiti da je trop od jabuke dobijen dehidratacijom u laboratorijskim uslovima stabilan. Ovi preliminarni rezultati dobijeni za trop dehidratiran u otvorenom sistemu omogućili su procenu vremena dehidratacije tropa u zatvorenom sistemu Solaris sušare u kojoj bi se za max 360 minuta dobio stabilan proizvod niske aktivnosti vode i sadržaja vlage, te nema potrebe za daljim produžavanjem vremena dehidratacije.

5.1.2 Postupak dobijanja brašna od tropa jabuke

Industrijski dobijen trop pojedinačnih i mešanih sorti organski i konvencionalno gajenih jabuka je korišćen kao polazna sirovina za dobijanje bezglutenskog brašna primenom inovativnog postupka koji podrazumeva dehidrataciju svežeg i mlevenje suvog tropa do željene granulacije. Postupku dobijanja brašna je prethodio izbor odgovarajućeg proizvođača soka, odnosno snabdevača tropom koji je izvršen na osnovu ispitivanja kvaliteta i bezbednosti polazne sirovine, tj jabuke, kao i načina proizvodnje soka i kvaliteta samog tropa. Na osnovu dobre proizvođačke prakse i kvaliteta jabuka i tropa, izbor je sužen na dva proizvođača i to „Fruvita d.o.o.“, Lunjevac, Smederevo i „Zdravo-

organik“ (Selenča). Korišćen je samo trop dobijen presovanjem, bez primene pektolitičkih, maceracionih enzima. Koštice i semenke nisu odvajane već je kao polazna sirovina korišćen celokupni trop (75 do 80 % vlage). Šema tehnološkog procesa i postupak za dobijanje brašna od tropa jabuke je prikazana na slici 13.



Slika 13. Šema tehnološkog procesa i postupak za dobijanje brašna od tropa jabuke

Sveži trop od jabuke se neposredno nakon dobijanja soka u industrijskim uslovima, u uslovima higijene i kontrole propisanim HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) standardom, preuzima tako što se sa pužastog transportera koji je deo

proizvodne linije slobodnim padom spušta direktno u sterilne vreće. U zatvorenim vrećama se odmah nakon preuzimanja transportuje do pogona vršioća usluge sušenja gde se raspoređuje u tankom sloju na lese prethodno zagrejane sušare-dehidratora. Na slici 14. prikazan je dehidrator „Solaris +“ (Drayer, Beograd) i trop od jabuke raspoređen na lese u pogonu firme „Sunny delight“, Pančevo.



Slika 14. Trop raspoređen na lese za sušenje (Sunny delight – Pančevo) i dehidrator, Sušara dehidrator (Drayer doo, Beograd Srbija, zaštićen patentom (Patent No. RS20070441 (A), 2009)) po prvi put je korišćena u svrhu sušenja sporednog proizvoda iz industrije proizvodnje soka, tj. tropa od jabuke tako da su uslovi sušenja prilagođeni novoj vrsti materijala. Temperatura i vlažnost u komori su neprekidno praćeni tokom procesa. Proces dehidracije tropa jabuke u sušari Solaris+ je trajao od 4 do 6 h. Temperatura vazduha u komori bila je 45 – 55 °C. Vlažnost vazduha u komori se kretala od 5 do 30 %. Temperatura na isparivaču bila je 6 - 45 °C. Nakon isključenja grejanja bilo je neophodno da se osušeni proizvod stabilizuje izvlačenjem zaostale vlage sistemom za kondenzaciju što je trajalo 1 - 2 sata. Temperatura rekuperacije koja omogućava kondenzaciju u isparivaču je tokom čitavog procesa sušenja bila za 20 - 25 stepeni niža od temperature u komori. Izvlačenjem zaostale vlage iz sistema sprečena je njena adsorpcija na osušenom materijalu i omogućeno dobijanje suvog tropa rastresite strukture čija je aktivnost vode u opsegu 0,2 – 0,4 a sadržaj vlage 4 - 8 %.

Primenjeni proces dehidracije je brz i efikasan. Ostvaruje se višestruka ušteda energije u odnosu na klasično sušenje i liofilizaciju koja se pokazala najboljim do sada

primenjenim postupkom u smislu očuvanja nutritivne i funkcionalne vrednosti tropa (Rana et al., 2015). Prosečan trošak za energiju u dehidratoru Solaris+ po kg osušenog proizvoda je 0,25 € za struju i 0,07 € za alternativne izvore energije (solarna, biomasa), dok je kod liofilizacije 20 €. Pri tome, ne uzimaju se dodatne količine vazduha iz atmosfere, ne dolazi do oksidativnog tamnjenja, ne postoji potreba za tretiranjem materijala hemijskim sredstvima poput SO₂, askorbinske kiseline i drugih antioksidanasa.

Mlevenje suvog tropa bez zagrevanja je vršeno u industrijskom mlinu. Dobijeno brašno je pakovano u višeslojne natron vreće i skladišteno u uslovima sobne temperature do korišćenja.

Potvrđena je zdravstvena ispravnost osušenog tropa od jabuke u skladu sa Zakonom o bezbednosti hrane (Sl. glasnik RS, br.41/09), Prilog 2. Proizvod ispunjava uslove propisane Pravilnikom o kvalitetu proizvoda od voća, povrća, pečurki i pektinskih preparata („Sl.I.SFRJ“ br. 1/79, 20/82, 74/90 i „Sl.I.SRJ 33/95 i 58/95), Pravilnikom o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje („Sl. glasnik RS“ br. 29/14, član 3, član 5, član 6 i član 7, prilog 2. i prilog 4.). Takođe, osušeni trop od jabuke zadovoljava Kriterijum bezbednosti Pravilnika o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa („Sl.glasnik RS“ br. 72/10), kao i preporuke date u Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti dijetetskih proizvoda („Sl. glasnik RS“ br 75/2015).

Sa ciljem da se pokaže da primenjeni postupak dehidratacije omogućava očuvanje arome, nutritivnih i funkcionalnih osobina tropa brašno je neposredno nakon dobijanja karakterisano u smislu:

- hemijskog sastava
- aktivnosti vode
- sadržaja ukupnih i pojedinačnih polifenolnih jedinjenja
- antioksidativne aktivnosti
- termalne stabilnosti
- *in vivo* efekta na metabolizam glukoze i masti
- funkcionalnih osobina kao potvrde fiziološkog dejstva i primenljivosti u prehrambenoj industriji

5.2 HEMIJSKE I FIZIČKO-HEMIJSKE KARAKTERISTIKE BRAŠNA TROPA OD JABUKE

5.2.1 Hemijski sastav i aktivnost vode

Hemijski sastav pet uzoraka brašna (APF1-5) dobijenih na industrijskom nivou od tropa mešanih ili pojedinačnih sorti jabuka, organski ili konvencionalno gajenih su prikazani u tabeli 11. Najsličniji komercijalni proizvod dostupan na svetskom tržištu AE analiziran je uporedo. Pre svega su određeni parametri važni u pogledu predviđanja stabilnosti, kao što su sadržaj vlage i aktivnost vode (a_w).

Tabela 11. Hemijski sastav i aktivnost vode uzoraka (APF 1-5) i komercijalnog uzorka (AE).

Parametar (obračunato na s.m.)	APF1	APF2	APF3	APF4	APF5	AE
Ugljeni hidrati (g/100 g)	50 ± 6 ^a	50 ± 6 ^a	56 ± 6 ^a	52 ± 5 ^a	58 ± 6 ^a	50 ± 4 ^a
Glukoza (g/100 g)	9,1 ± 0,9 ^c	8,1 ± 0,8 ^c	12,9 ± 0,9 ^b	16,0 ± 0,6 ^{ab}	18 ± 1 ^a	5,6 ± 0,6 ^c
Fruktoza (g/100 g)	21 ± 2 ^c	26 ± 3 ^{bc}	34 ± 2 ^{ab}	25 ± 2 ^c	35 ± 3 ^a	18 ± 2 ^c
Saharoza (g/100 g)	5,6 ± 0,6 ^c	9,7 ± 0,9 ^{ab}	8,0 ± 0,9 ^{bc}	9,5 ± 0,9 ^{ab}	5,9 ± 0,6 ^c	11,3 ± 0,5 ^a
Dijetna vlakna (g/100 g)	45 ± 4 ^a	43 ± 4 ^a	37 ± 4 ^a	37 ± 5 ^a	35 ± 5 ^a	44 ± 4 ^a
Celuloza (g/100 g)	18 ± 1 ^{ab}	20 ± 1 ^a	15 ± 2 ^b	16 ± 1 ^{ab}	15 ± 1 ^b	16 ± 1 ^{ab}
Pektin (g/100 g)	3,0 ± 0,2 ^c	3,9 ± 0,1 ^b	4,2 ± 0,1 ^b	4,5 ± 0,1 ^b	3,2 ± 0,2 ^c	12,1 ± 0,3 ^a
Proteini (g/100 g)	3,2 ± 0,3 ^c	5,8 ± 0,3 ^a	3,6 ± 0,2 ^c	4,6 ± 0,3 ^b	3,9 ± 0,2 ^{bc}	4,8 ± 0,2 ^b
Masti (g/100 g)	1,3 ± 0,2 ^d	1,9 ± 0,1 ^c	2,7 ± 0,2 ^b	2,3 ± 0,1 ^{bc}	1,0 ± 0,2 ^d	3,4 ± 0,1 ^a
Sadržaj vlage (%)	4,0 ± 0,6 ^b	4,1 ± 0,6 ^b	4,0 ± 0,9 ^b	7,7 ± 0,4 ^a	7,7 ± 0,6 ^a	5,7 ± 0,6 ^{ab}
a_w	0,22 ± 0,00 ^c	0,15 ± 0,00 ^e	0,35 ± 0,01 ^a	0,21 ± 0,01 ^d	0,26 ± 0,01 ^b	0,22 ± 0,01 ^d
Kalijum (mg kg ⁻¹)	4642 ± 85 ^b	4679 ± 84 ^b	4228 ± 76 ^c	6398 ± 115 ^a	6390 ± 114 ^a	nd
Kalcijum (mg kg ⁻¹)	744 ± 13 ^a	678 ± 12 ^b	455 ± 8 ^d	724 ± 12 ^a	569 ± 10 ^c	nd
Natrijum (mg kg ⁻¹)	513 ± 7 ^b	488 ± 8 ^c	715 ± 12 ^a	419 ± 7 ^d	394 ± 7 ^e	nd
Magnezijum (mg kg ⁻¹)	423 ± 8 ^c	446 ± 8 ^b	239 ± 5 ^e	510 ± 10 ^a	400 ± 7 ^d	nd
Olovo (mg kg ⁻¹)	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	nd
Kadmijum (mg kg ⁻¹)	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	nd
Arsen (mg kg ⁻¹)	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30	<0,30	nd
Bakar (mg kg ⁻¹)	2,4 ± 0,5 ^b	2,6 ± 0,5 ^b	1,8 ± 0,4 ^b	3,3 ± 0,7 ^{ab}	5 ± 1 ^a	nd
Cink (mg kg ⁻¹)	0,6 ± 0,1 ^{bc}	2,0 ± 0,3 ^{bc}	0,6 ± 0,1 ^c	8,9 ± 1,3 ^a	2,3 ± 0,3 ^b	nd
Živa (mg kg ⁻¹)	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	nd
Pepeo (%)	1,2 ± 0,1 ^b	1,7 ± 0,2 ^{ab}	1,4 ± 0,2 ^{ab}	1,5 ± 0,2 ^{ab}	1,9 ± 0,2 ^a	1,8 ± 0,2 ^a

Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± SD, srednje vrednosti sa različitim slovima u superskriptu u okviru istog reda se statistički značajno razlikuju ($p < 0.01$), nd-nije deklarirano kod komercijalnog uzorka

Mlevenjem tropa dehidratiranog tokom 4-6 h na temperaturi ispod 55 °C dobijen je APF koji je imao sadržaj vlage 4 – 8 % i aktivnost vode 0,2 – 0,4, što obezbeđuje stabilnost suvih proizvoda na sobnoj temperaturi. Postignute vrednosti sadržaja vode i a_w su dovoljno niske da onemoguće rast mikroorganizama i hemijske reakcije koje dovode do kvarenja tokom skladištenja proizvoda (Sablani et al., 2007).

Ukupni ugljeni hidrati i sadržaj dijetnih vlakana (DV), preračunati na suhu materiju (s.m.) su bili u opsegu 50,0 – 58,3 i 35,2 – 45,1 g / 100 g s.m. Prema ANOVA ($p < 0.01$) ove vrednosti ne pokazuju statistički značajnu razliku između analiziranih uzoraka. Ukupan sadržaj ugljenih hidrata bio je u skladu sa rezultatima za AP od mešanih sorti jabuka (44.2 - 49.5 g / 100 g s.m.) (Yan & Kerr, 2013). Raspon ukupnog sadržaja DF-a u APF-u (35 ± 5 do 45 ± 4) je u skladu i sa prethodno objavljenim podacima za AP i sa utvrđenom vrednošću za AE (44 ± 4). (Waldbauer et al., 2017).

Sadržaj proteina u APF bio je u rasponu od 3,2 - 5,8 g / 100 g s.m. Najviši sadržaj je bio u APF2, slede APF4, APF5 i AE, i najzad APF1 i APF3 sa najnižim sadržajem ($p < 0.01$). Sličan sadržaj proteina u AP je određen kod sorti Rojal Gala (3,1 g / 100 g s.m.), Greni Smit (3,6 g / 100 g s.m.) i Liberti (3,7 g / 100 g s.m.) (Figuerola et al., 2005).

Sadržaj masti APF bio je u opsegu 1,0 - 2,7 g / 100 g s.m. Prema ANOVA ($p < 0.01$) APF uzorci su podeljeni u tri grupe na osnovu opadajućeg sadržaja masti: 1) APF3 i APF4, 2) APF2 i 3) APF1 i APF5. Sličan sadržaj masti (2,54 g / 100 g s.m.) je pronađen u AP jabuka poreklom iz Meksika (Cerde-Tapia et al., 2015). Nešto veći sadržaj masti (3,4 g / 100 g s.m.) u poređenju sa uzorcima APF-a, pronađen je u komercijalnom uzorku AE.

Najzastupljeniji mono- i disaharidi u AP su glukoza, fruktoza i saharoza (Queji et al., 2010). Utvrđeno je da je prosečan sadržaj glukoze i fruktoze u uzorcima APF-a (12,7 i 28,3 g / 100 g s.m.) veći od prosečnog sadržaja u prethodnim studijama (7,5 i 15,6 %) (Waldbauer et al., 2017). Najviša vrednost za saharozu bila je u komercijalnom uzorku AE, a zatim u APF2 i APF4, dok je najniža u APF1, APF5 i APF3 ($p < 0,01$). Prosečan sadržaj saharoze u APF-u (7,7 g / 100 g s.m.) je u skladu sa literaturnim podacima (8,36 g / 100 g s.m.) (Waldbauer et al., 2017).

Dijetna vlakna AP su uglavnom: pektin, celuloza, hemiceluloza i lignin (Baldinelli et al., 2018; Guerrero et al., 2014). Određen je sadržaj pektina i celuloze u APF i AE (tabela 11). Ostatak do ukupnog sadržaja DV čine uglavnom hemiceluloza i lignin, što je i potvrđeno daljom analizom spektara dobijenih infracrvenom FT-IR spektroskopijom (slika 15). Na osnovu sadržaja celuloze APF1, APF2, APF4 i AE su u istoj grupi, dok je kod APF3 i APF5 ($p < 0,01$) niži sadržaj celuloze. Najviši sadržaj pektina ima AE (12,1 g / 100 g s.m.). Ovakav rezultat je očekivan s obzirom da je deklarisan dodatak pektina prahu dobijenom od organskog tropa jabuke. Sadržaj pektina u APF uzorcima (3 - 4,5 g / 100 s.m.) bio je niži od sadržaja određenog za sortu "Karmijn de Sonnaville"(7,36 i 7,84 % posle 3 i 7 sati ekstrakcije) (O'Shea et al., 2015). Poznato je iz literature da sadržaj pektina varira u zavisnosti od vremena i primenjenog načina ekstrakcije (O'Shea et al., 2015). Visok sadržaj DV omogućava korišćenje APF-a kao dijetetskog suplementa u proizvodnji funkcionalnih proizvoda sa povećanim sadržajem DV-a.

Tabela 12. Poredjenje prosečnog sastava i sadržaja DV i ukupnih polifenola (TPC) brašna od tropa jabuke dobijenog u okviru ovog rada sa literaturnim podacima za pšenično, pirinčano, ovseno, heljdino i kukuruzno brašno (Hager et al., 2012).

Parametar	APF**	pšenica	pirinač	ovas	heljda	kukuruz
Ugljeni hidrati (g / 100 g)	53±6	69,6±2,3	78,1±0,4	71,1±0,1	67,3±2,2	75,1±0,4
Proteini (g / 100 g)	4,2±0,3	11,5±1,1	7,3±0,1	6,9±0,1	12,2±0,4	5,5±0,2
Masti (g / 100 g)	1,8±0,2	1,8± 0,1	0,9± 0,1	6,7± 0,8	4,2± 0,7	2,5± 0,5
Dijetna vlakna(g / 100g)	39,0±4,0	3,45±0,01	0,43±0,15	4,1±0,4	2,2±0,1	2,6±0,5
Ukupni polifenoli TPC (mgGAE /100g)	622±2	13,0±0,2	14,2±2,4	22,2±0,2	466±22	98±1
Kalijum (mg kg ⁻¹)	5267±95	1520±9	938±5	1744±17	4023±25	1487±7
Kalcijum(mg kg ⁻¹)	634±11	1798±10,5	51±0,5	224±2	148±2	33±1
Natrijum(mg kg ⁻¹)	506±8	38,1±3,7	15,1±0,3	16,7±3,5	10,8±2,6	4,8±0,3
Magnezijum (mg kg ⁻¹)	404±8	244,0±1,0	338±4	393±5	1736±13	316±2
Bakar (mg kg ⁻¹)	3,0±0,6	1,5±0,0	2,2±0,0	2,7±0,1	5,1±0,0	0,9±0,0
Cink (mg kg ⁻¹)	2,88±0,43	7,59±0,0	17,8±0,2	11,3±0,1	18,8±0,0	6,6±0,1
Pepeo %	1,54±0,18	0,92±0,02	0,51±0,01	0,82±0,01	1,65±0,01	0,37±0,03

* Prosečne vrednosti za APF1-5

Poređenje prosečnog sastava svih uzoraka brašna od tropa jabuke dobijenog postupkom primenjenim u ovom radu (APF1-5) i literaturnih podataka za pšenično i najčešće korišćeno brašno žita bez glutena (ovas, pirinač, heljda, kukuruz) je prikazano tabelarno (tabela 12) kako bi se istakao potencijal APF u proizvodnji i obogaćivanju funkcionalne, bezglutenske i niskoenergetske hrane. Kao što se vidi u tabeli 12, pšenično ($3,45 \pm 0,01$ g / 100 g) i bezglutensko brašno od ovasa ($0,43 \pm 0,15$ g / 100 g), heljde ($4,05 \pm 0,40$ g / 100 g), kukuruza ($2,18 \pm 0,11$ g / 100 g) i pirinča ($2,62 \pm 0,45$ g / 100 g) imaju vrlo nizak sadržaj DV (Hager et al., 2012). APF ima višestruko veći sadržaj DV (tabela 10) od brašna pšenice, pirinča, heljde i kukuruza (tabela 12). APF od mešanih sorti jabuka (APF1), koji nastaje u najvećoj količini (APF1), poseduje 100, 20, 15 i 12,5 puta veći sadržaj DV u odnosu na brašno od pirinča, heljde, kukuruza i pšenice. Prema ovom poređenju, APF ima veliki potencijal da nadoknadi nedostatak DV u konditorskim i pekarskim proizvodima, naročito onima bez glutena. Očigledno je da APF može imati značajan doprinos u obogaćivanju bezglutenskih proizvoda, pre svega dijetnim vlaknima i antioksidansima. Značaj DV-a kao dodatka proizvodima od brašna, njihov AO efekat kao i efekat na smanjenje glikemijskog odgovora, gubitak telesne težine i regulaciju metabolizma lipida je sveobuhvatno diskutovan u okviru nedavno publikovanog revijskog rada (Han et al., 2017).

Prosečna koncentracija kalcijuma, natrijuma, magnezijuma, bakra i cinka APF uzoraka (tabela 12) je bila uporediva sa brašnom pšenice i brašnom žita bez glutena, dok je sadržaj kalijuma bio daleko viši (Hager et al., 2012). Na osnovu efekta na krvni pritisak, gustinu kostiju i rizik od bubrežnih kamenaca određen je adekvatan unos kalijuma koji iznosi 4,7 g na dan za odrasle osobe (težine 70 kg) (Medicinski institut Akademije nauka Sjedinjenih Američkih Država o referentnom unosu u ishrani). Zbog nedostatka voća i povrća u tipičnoj zapadnoj ishrani, samo 3 % Amerikanaca unosi adekvatnu količinu. Niži unos kalijuma je povezan sa većim rizikom od dijabetesa tipa 2 (Chatterjee et al., 2011). Važno je napomenuti da APF za razliku od žita i pseudocerealiya ne sadrži fitinsku kiselinu koja smanjuje bioraspoloživost Ca, Mg, Zn i Cu.

5.2.2 Sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja i antioksidativna aktivnost

U brašnu tropa jabuke koje je dobijeno dehidratacijom i usitnjavanjem vlažnog tropa od različitih domaćih proizvođača soka je određen polifenolni profil i antioksidativna aktivnost. Glavni antioksidansi u jabuci su polifenolna jedinjenja prisutna u pokožici. Pored toga polifenolna jedinjenja su prisutna i u semenkama jabuke (Xu et al., 2016). Sadržaj polifenola u celoj jabuci, semenkama i pokožici uglavnom zavisi od sorte, dok su primenjeni način dobijanja soka, dalja obrada tropa i način skladištenja odgovorni za sadržaj prisutnih polifenola u tropu od jabuke (Heras-Ramírez et al., 2012; Liu et al., 2019; Maragò et al., 2015; Nayak et al., 2015; Sharma et al., 2017). Očuvanje polifenola u AP-u povezano je uglavnom sa efikasnošću procesa sušenja koji je potrebno sprovesti odmah nakon presovanja jabuka da bi se sprečila aktivnost enzima odgovornih za njihovu degradaciju (Waldbauer et al., 2017). Uslovi sušenja utiču na sadržaj polifenola u osušenom AP. Najviši sadržaj ukupnih polifenola nađen je u liofiliziranom AP ($5,78 \pm 0,08$ mgGAE / g suve mase) (Rana et al., 2015). Proučavan je i uticaj vremena ekstrakcije, temperature i odnosa vode u smeši za ekstrakciju. Ustanovljeno je da je voda dobar medijum za ekstrakciju polifenola iz AP. Ipak, metanolni ekstrakti imaju veće vrednosti za TPC i AO aktivnost u odnosu na vodene ekstrakte (Candrawinata et al., 2014). Stoga je u ovom radu primenjena ekološki prihvatljivija ekstrakcija smešom etanola i vode. Polifenolna jedinjenja (ukupni sadržaj polifenola (TPC) i ukupni flavonoidi (TFC)) kao i antioksidativna aktivnost (DPPH, ABTS, HPMC) određeni su u vodeno-etanolnim ekstraktima (APF 1-5 i AE) i prikazani su u tabeli 13.

Sadržaj TPC u uzorcima APF-a je bio u opsegu od $4,6 \pm 0,2$ do $8,1 \pm 0,3$ mg GAE g^{-1} APF, što je u saglasnosti sa literaturnim vrednostima koje se kreću u opsegu od 2,3 do 14,1 mg GAE g^{-1} za AP od mešanih jabuka (Diñeiro García et al., 2009). U radu Wang et al., (2019) dobijeni AP je imao vrednosti za TPC od 2,9 mg GAE g^{-1} što je za 1,6 - 2,8 puta niže od vrednosti za uzorke APF u ovoj studiji. U primenjenoj tehnologiji za dobijanje soka ne dodaju se pektinaze koje se koriste za dobijanje bistrog soka, te stoga nema povećanja TPC uzrokovanog kidanjem veza između polisaharida smeštenih u ćelijskim zidovima i polifenola. Uzorci APF1 i APF3 imaju najveći sadržaj ukupnih polifenola, sledi APF3, dok

najniži sadržaj imaju APF4 i APF5 i komercijalni uzorak AE. Prema statističkoj analizi primenom ANOVA uzorci se mogu grupisati u dve grupe, prvu sa većim sadržajem kojoj pripadaju APF1-3 i drugu u kojoj su APF4-5 i AE među kojima nema statistički značajne razlike. Sadržaj flavonoida prisutnih u svim uzorcima APF-a je značajno viši ($p < 0,05$) od sadržaja komercijalno dostupnog praha jabuke sa dodatkom pektina, odnosno AE. Sposobnost vezivanja radikala i antioksidativna aktivnost su važni u prevenciji različitih hroničnih bolesti (Rana & Bhushan, 2016). Polifenoli prisutni u pokožici jabuke više doprinose ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti cele jabuke nego pulpa jabuke. Samo 3 do 10 % ukupne antioksidativne aktivnosti jabuke ostaje u soku od jabuka (Djilas et al., 2009; Rana et al., 2015). Antioksidativna aktivnost uzoraka je određena *in vitro*, standardno korišćenim spektrofotometrijskim ABTS i DPPH metodama i elektrohemijском HPMC metodom.

Tabela 13. Sadržaj ukupnih polifenola (TPC) i flavonoida (TFC) i antioksidativna aktivnost uzoraka brašna od tropa jabuke (APF1-5) i sličnog komercijalno dostupnog proizvoda (AE) određena ABTS, DPPH i HPMC metodom

Uzorak	TPC FC (mgGAE g ⁻¹)	TFC (mgQE g ⁻¹)	ABTS (mmolTE / 100g)	DPPH (mmolTE / 100g)	HPMC (% ml ⁻¹)
APF1	7,7 ± 0,3 ^a	24,8 ± 1,0 ^{bc}	10,0 ± 0,7 ^a	3,8 ± 0,2 ^{ab}	60 ± 2 ^b
APF2	6,1 ± 0,2 ^b	27,4 ± 1,4 ^b	9,2 ± 0,9 ^a	3,3 ± 0,3 ^{bc}	60 ± 2 ^b
APF3	8,1 ± 0,3 ^a	34,6 ± 2,2 ^a	9,5 ± 1,0 ^a	4,5 ± 0,4 ^a	87 ± 4 ^a
APF4	4,6 ± 0,2 ^c	18,6 ± 1,0 ^d	3,6 ± 0,5 ^b	2,6 ± 0,2 ^{cd}	50 ± 2 ^c
APF5	4,62 ± 0,08 ^c	21,2 ± 1,3 ^{cd}	3,4 ± 0,3 ^b	2,9 ± 0,4 ^{bcd}	45 ± 2 ^{cd}
AE	4,3 ± 0,2 ^c	12,2 ± 0,7 ^e	3,1 ± 0,4 ^b	2,2 ± 0,5 ^d	43 ± 2 ^d

*Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± SD, različita slova kao superscript unutar iste kolone ukazuju na značajne razlike, prema Tukey's HSD test ($p < 0.05$).

Na osnovu i ABTS i DPPH metode uzorci se mogu grupisati u dve grupe, APF1, APF2 i APF3 imaju značajno veći AO kapacitet u odnosu na APF4, APF5 i AE. HPMC metoda pokazuje da je najveća antioksidativna aktivnost uzorka APF3, slede APF1 i APF2, dok APF4, APF5 i AE imaju niže aktivnosti (tabela 13).

Sadržaj polifenola i flavonoida, kao i antioksidativna svojstva potvrđuju opravdanost upotrebe APF-a, kao dijetetskog preparata i kao dodatka kojim se standardni proizvodi mogu obogatiti prirodnim antioksidansima. Iz tabele 12 je očigledno da prosečan TPC

svih analiziranih uzoraka APF daleko prevazilazi sadržaj TPC u brašnu od žita bez glutena. Sadržaj ukupnih polifenola brašna od tropa mešanih sorti u kojima preovlađuje ajdared, a koji u fabrici „Fruvita“ nastaje u najvećim količinama (APF1) je čak 60, 50, 8 i 1,5 puta viši nego u pšeničnom, pirinčanom, kukuruznom i heljdinom brašnu (tabela 12).

Imajući u vidu visok sadržaj polifenola i flavonoida i izraženu AO aktivnost APF se može smatrati ne samo bogatim izvorom DV, već i polifenolnih jedinjenja, odnosno antioksidanasa, i kao takvo koristiti da se nadomesti njihov nedostatak u modernoj ishrani u kojoj preovlađuje procesirana hrana, a posebno u dijetama bez glutena. Činjenica da se radi o bezglutenskom brašnu proširuje mogućnost njegove primene i na bezglutenske proizvode koji su najčešće siromašni DV i AO. Veći unos polifenola, glavnih sastojaka pokožice jabuke, povezan je sa smanjenim rizikom od nekih hroničnih bolesti, uključujući dijabetes tipa II (Boyer & Liu, 2004). Važno je istaći i da se zbog svojih antioksidativnih svojstava, odnosno sadržaja polifenolnih jedinjenja, AP može smatrati prirodnom zamenom za sintetičke antioksidanse i koristiti kao funkcionalni dodatak koji ima pozitivan uticaj, ne samo kad je u pitanju nutritivna vrednost obogaćenog proizvoda, već i njegova produžena trajnost (Sudha et al., 2011). Inhibitorski efekat polifenola na lipidnu peroksidaciju, odnosno nepoželjne oksidativne reakcije uzrokovane prisustvom slobodnih radikala predstavlja veoma značajan aspekt korišćenja tropa u prehrambenoj industriji.

5.2.3 Sadržaj pojedinačnih polifenolnih jedinjenja

U analiziranim uzorcima ekstrakata APF, HPLC-DAD-MS/MS spektroskopijom je identifikovano i kvantifikovano 31 polifenolno jedinjenje. Ukupni sadržaj polifenola određen HPLC-om varirao je od 948,6 u APF3 do 560,5 mg kg⁻¹ u APF5 (koeficijent varijacije 22,5 %). Najviši sadržaj svih identifikovanih polifenolnih jedinjenja je zapažen u APF 2 i 3 a zatim u APF1. APF2 je dobijen od tropa pojedinačne sorte ajdared, dok su APF1 i APF3 dobijeni od tropa mešovitih sorti u kome preovlađuje ova sorta. Najniži sadržaj bio je u APF 4 i 5 koji potiču od tropa pojedinačnih sorti greni smit i crveni delišes. Ukupni sadržaj polifenola određen Folin-Ciocalteuovom (FC) metodom bio je viši od ukupnog zbira pojedinačnih polifenola određenih HPLC-om. Ovaj fenomen je uočen i

ranije i može se objasniti činjenicom da FC metoda nije apsolutno merilo količine polifenola zbog prisustva drugih jedinjenja kao što su organske kiseline, rezidualni šećeri, aminokiseline, proteini i druga hidrofilna jedinjenja koja utiču na rezultat ove analize (Ćetković et al., 2008; Xu et al., 2016). Osim toga, različita polifenolna jedinjenja imaju različite odgovore u FC testu.

Sadržaj pojedinačnih polifenolnih jedinjenja u pet ispitivanih uzoraka APF-a i AE prikazan je u tabeli 14. U svim ispitivanim uzorcima najzastupljeniji su: dihidrokalkoni (florelin i florizin), flavonoli i flavonolni glikozidi (kvercetin, kvercetin-3-O-ramnozid, kvercetin-3-O-galaktozid, rutin, izoramnetin, izoramnetin-3-O-rutinozid, kaemferol i kaemferol-7-glukozid), cimetne kiseline (kafeinska, p-kumarinska, ferulinska, sinapinska i hlorogena kiselina) i hidroksibenzoeve kiseline (galna, protokatehinska, elaginska i p - hidroksibenzoeva kiselina).

Tabela 14. Polifenolna jedinjenja identifikovana i kvantifikovana u uzorcima APF1-5 i AE HPLC-DAD-MS/MS spektroskopijom

(mg kg ⁻¹)	APF1	APF2	APF3	APF4	APF5	AE
Dihidrokalkoni						
<i>Florelin</i>	0,77 ± 0,06 ^b	0,70 ± 0,04 ^{bc}	0,98 ± 0,03 ^a	0,29 ± 0,02 ^d	0,78 ± 0,00 ^b	0,63 ± 0,05 ^c
<i>Florizin</i>	215,1 ± 2,5 ^a	194,5 ± 5,3 ^b	227,3 ± 1,3 ^a	112 ± 3,0 ^d	165,8 ± 1,1 ^c	158,9 ± 9,4 ^c
ukupno	215,9 ± 2,5^a	195,2 ± 5,3^b	228,3 ± 1,3^a	112 ± 3^d	166,3 ± 1,3^c	159,6 ± 9,4^c
Flavoni						
<i>Luteolin</i>	0,26 ± 0,01 ^a	0,11 ± 0,01 ^c	0,15 ± 0,01 ^b	0,10 ± 0,01 ^c	0,13 ± 0,01 ^{bc}	0,11 ± 0,01 ^c
<i>Apigenin_7-O-glukozid</i>	0,84 ± 0,05 ^b	0,73 ± 0,02 ^{bc}	1,01 ± 0,05 ^a	0,68 ± 0,03 ^c	0,47 ± 0,04 ^d	0,69 ± 0,06 ^c
<i>Apigenin</i>	0,48 ± 0,00 ^a	0,38 ± 0,04 ^a	0,46 ± 0,07 ^a	0,31 ± 0,01 ^a	0,41 ± 0,23 ^a	0,43 ± 0,21 ^a
ukupno	1,58 ± 0,07^a	1,22 ± 0,07^{ab}	1,62 ± 0,11^a	1,09 ± 0,03^b	1,01 ± 0,28^b	1,23 ± 0,26^{ab}
Flavonoli						
<i>Eriodiktol</i>	0,18 ± 0,02 ^b	0,13 ± 0,02 ^c	0,26 ± 0,01 ^a	0,11 ± 0,01 ^c	0,21 ± 0,02 ^b	0,21 ± 0,01 ^b
<i>Naringenin</i>	0,24 ± 0,02 ^a	0,18 ± 0,03 ^b	0,21 ± 0,01 ^{ab}	0,11 ± 0,00 ^c	0,17 ± 0,00 ^b	0,19 ± 0,01 ^{ab}
<i>Naringin</i>	0,22 ± 0,01 ^d	0,57 ± 0,02 ^a	0,60 ± 0,01 ^a	0,48 ± 0,02 ^b	0,35 ± 0,02 ^c	0,46 ± 0,02 ^b
ukupno	0,64 ± 0,01^d	0,88 ± 0,01^b	1,07 ± 0,01^a	0,70 ± 0,03^c	0,73 ± 0,04^c	0,86 ± 0,00^b
Flavonoli i Flavonolni glikozidi						
<i>Kvercetin</i>	14,2 ± 3,0 ^a	10,9 ± 2,4 ^{ab}	13,1 ± 3,3 ^{ab}	7,2 ± 1,8 ^{bc}	4,10 ± 0,74 ^c	12,7 ± 1,8 ^{ab}
<i>Kvercetin_3-O-ramnozide</i>	121,9 ± 1,3 ^a	85,3 ± 4,1 ^c	124,8 ± 1,7 ^a	114,1 ± 3,9 ^b	34,1 ± 1,3 ^d	85,9 ± 1,7 ^c
<i>Kvercetin_3-O-galaktozid</i>	165,2 ± 3,5 ^a	158,5 ± 2,7 ^a	149,9 ± 4,1 ^b	126,7 ± 3,4 ^c	121,4 ± 0,6 ^c	80,8 ± 1,8 ^d
<i>Rutin</i>	46,9 ± 1,9 ^b	20,4 ± 0,3 ^e	23,9 ± 0,2 ^d	64,9 ± 1,4 ^a	8,0 ± 0,1 ^f	34,5 ± 0,8 ^c

<i>Izoramnetin_3-O-rutinozide</i>	1,11 ± 0,01 ^a	0,82 ± 0,02 ^b	0,41 ± 0,00 ^c	0,40 ± 0,04 ^c	0,36 ± 0,04 ^c	0,10 ± 0,01 ^d
<i>Izoramnetin</i>	12,3 ± 0,4 ^b	17,6 ± 0,3 ^a	4,05 ± 0,04 ^c	2,08 ± 0,02 ^d	1,10 ± 0,01 ^e	1,16 ± 0,02 ^e
<i>Kaemferol</i>	2,46 ± 0,37 ^a	0,71 ± 0,14 ^{bc}	2,82 ± 0,37 ^a	1,37 ± 0,16 ^b	0,48 ± 0,02 ^c	0,62 ± 0,42 ^{bc}
<i>Kaemferol_7-O-glukozide</i>	0,05 ± 0,01 ^c	0,03 ± 0,01 ^c	0,70 ± 0,03 ^b	1,19 ± 0,12 ^a	0,11 ± 0,01 ^c	0,13 ± 0,02 ^c
ukupno	363,9 ± 7,8^a	257,5 ± 7,3^c	328,4 ± 8,6^b	341,1 ± 7,4^b	129,1 ± 2,5^d	261,8 ± 4,4^c
Flavanonoli						
<i>Taksifolin</i>	0,16 ± 0,02 ^d	0,46 ± 0,01 ^a	0,33 ± 0,01 ^b	0,33 ± 0,04 ^b	0,24 ± 0,01 ^c	0,21 ± 0,02 ^{cd}
Flavononi						
<i>Hrizin</i>	0,19 ± 0,00 ^b	0,18 ± 0,00 ^c	0,22 ± 0,00 ^a	0,13 ± 0,00 ^d	0,11 ± 0,00 ^e	0,12 ± 0,00 ^d
Hidroksicimetne kiseline						
<i>Kafeinska kiselina</i>	0,33 ± 0,02 ^a	0,22 ± 0,03 ^b	0,35 ± 0,05 ^a	0,23 ± 0,01 ^b	0,12 ± 0,00 ^c	0,18 ± 0,00 ^{bc}
<i>p-Kumarinska kiselina</i>	0,32 ± 0,06 ^c	0,44 ± 0,09 ^{bc}	0,44 ± 0,03 ^{bc}	0,76 ± 0,09 ^a	0,57 ± 0,03 ^b	0,51 ± 0,05 ^b
<i>Ferulinska kiselina</i>	23,8 ± 0,3 ^a	23,4 ± 0,9 ^a	13,2 ± 0,1 ^d	23,5 ± 0,2 ^a	19,5 ± 0,5 ^b	15,9 ± 0,3 ^c
<i>Sinapinska kiselina</i>	7,20 ± 0,03 ^a	4,29 ± 0,19 ^b	2,97 ± 0,05 ^c	2,78 ± 0,03 ^{cd}	2,60 ± 0,01 ^d	2,03 ± 0,05 ^e
<i>Hlorogena kiselina</i>	224,4 ± 9,8 ^b	214,3 ± 3,4 ^b	308,3 ± 14,0 ^a	89,0 ± 9,5 ^e	185,7 ± 6,2 ^c	126,6 ± 4,7 ^d
ukupno	251,8 ± 10,1^b	245,6 ± 3,9^b	325,1 ± 14,1^a	117,7 ± 9,5^e	208,5 ± 6,4^c	145,2 ± 4,6^d
Hidroksibenzojeve kiseline						
<i>Galna kiselina</i>	4,53 ± 0,10 ^b	2,22 ± 0,04 ^e	4,80 ± 0,12 ^a	3,20 ± 0,12 ^c	3,20 ± 0,03 ^c	2,54 ± 0,03 ^d
<i>Protocatehinska</i>	28,61 ± 1,01 ^a	7,29 ± 0,55 ^{de}	21,15 ± 0,73 ^b	6,58 ± 0,42 ^e	17,22 ± 0,24 ^c	8,69 ± 0,01 ^d
<i>Elaginska kiselina</i>	19,70 ± 2,90 ^b	14,17 ± 0,27 ^b	24,04 ± 5,64 ^b	22,88 ± 8,49 ^b	22,49 ± 2,30 ^b	75,22 ± 11,84 ^a
<i>p-Hidroksibenzova kiselina</i>	2,51 ± 0,10 ^b	2,15 ± 0,38 ^b	2,24 ± 0,15 ^b	2,92 ± 0,53 ^b	1,16 ± 0,17 ^c	5,80 ± 0,09 ^a
ukupno	55,4 ± 3,4^b	25,8 ± 0,5^d	52,2 ± 5,2^{bc}	35,6 ± 9,4^{cd}	44,1 ± 1,9^{bcd}	92,3 ± 11,7^a
Kumarini						
<i>Aeskulin</i>	9,38 ± 0,37 ^b	8,80 ± 0,36 ^{bc}	10,67 ± 0,56 ^a	7,96 ± 0,11 ^c	9,68 ± 0,28 ^b	5,53 ± 0,16 ^d
Ostali						
<i>Resveratrol</i>	0,16 ± 0,01 ^d	0,89 ± 0,02 ^a	0,82 ± 0,01 ^b	0,24 ± 0,02 ^c	0,22 ± 0,02 ^c	0,19 ± 0,03 ^{cd}
<i>Pterostilben</i>	0,19 ± 0,01 ^d	0,90 ± 0,00 ^a	0,70 ± 0,01 ^b	0,35 ± 0,02 ^c	0,29 ± 0,02 ^c	0,20 ± 0,05 ^d
<i>Pinocembrin</i>	0,39 ± 0,01 ^a	0,32 ± 0,00 ^b	0,22 ± 0,00 ^e	0,25 ± 0,00 ^d	0,29 ± 0,00 ^c	0,22 ± 0,00 ^e
Total	899,9 ± 3,9^b	736,1 ± 7,2^c	948,6 ± 0,7^a	619 ± 10^e	560,5 ± 4,9^f	668,6 ± 19,9^d

*Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± SD, različita slova kao superscript unutar iste reda ukazuju na značajne razlike, prema Tukey's HSD test ($p < 0.05$).

Udeo pomenutih grupa jedinjenja u ukupnom sadržaju polifenola iznosi kod svih uzoraka približno 98 %. Međutim, sadržaj pojedinačnih polifenolnih jedinjenja u analiziranim uzorcima APF varira. Sadržaj dihidrokalkona, kome najviše doprinosi florizin, opada u nizu APF3 > APF1 > APF2 > APF5 > AE > APF4. Sadržaj florizina varirao je od 111,2 u APF 4 do 227,3 mg kg⁻¹ u APF3 (koeficijent varijacije 25,1 %). On je činio 18-29 % zbira svih identifikovanih polifenolnih jedinjenja. Poznato je da su varijacije u sadržaju florizina u

AP-u kao i u pokožici i semenkama povezane sa genetičkom raznolikošću jabuka (Ćetković et al., 2008; Xu et al., 2016). Florizin je najstabilnije polifenolno jedinjenje tropa jabuke, karakteristično za jabuku i najzastupljenije u suvom AP tako da može poslužiti kao neka vrsta markera i za APF. Varijacije sadržaja florizina u APF-u bi se mogle povezati sa kvalitetom AP.

Sadržaj hidroksicimetnih kiselina, kome najviše doprinosi hlorogena kiselina se kretao u rasponu od 89 mg kg⁻¹ u APF4 do 308 mg kg⁻¹ u APF 3, što čini 14,4 do 32,5 % ukupne količine identifikovanih polifenola. Varijacije u sadržaju hlorogene kiseline u uzorcima APF-a bile su veće od varijacija u sadržaju florizina (koeficijent varijacije 38,7 %). Sadržaj flavonola i flavonolnih glikozida, posebno kvercetina i njegovih glikozida (kvercetin-3-O-ramnozid, kvercetin-3-O-galaktozid), je bio najviši u uzorku APF1, APF4 i APF3, a najniži u uzorku APF5. Prisutnost širokog spektra kvercetin glikozida uočen je ranije u različitim sortama jabuka, kao i veća zastupljenost galaktozida u odnosu na ramnozid (Lee et al., 2003).

Pokazano je da stabilnost polifenola zavisi od aktivnosti vode (Lavelli & Vantaggi, 2009). U svim APF uzorcima aktivnost vode je dovoljno niska da omogući očuvanje polifenola. Utvrđeno je da postoji veza između a_w i brzine razgradnje polifenola prisutnih u dehidriranim jabukama i tropu od jabuke. Maksimalna stabilnost svih fitohemikalija jabuke zapažena je pri najnižoj vrednosti a_w (Lavelli & Vantaggi, 2009). Na nižim a_w vrednostima polifenolna jedinjenja su stabilna dok pri višim a_w (0,75) dolazi do razgradnje po sledećem redosledu stabilnosti: florizin > hlorogena kiselina > kvercetin 3-O-galaktozid > epikatehin > procijanidin B2 i cijanidin 3-O-galaktozid (Lavelli & Vantaggi, 2009). Imajući u vidu visoku stabilnost polifenola prisutnih u AP koji je dehidriran u laboratorijskim uslovima (dehidratacija na 60 °C u otvorenom sistemu) može se pretpostaviti i dobra stabilnost polifenola prisutnih u APF-u koje je dobijeno pri nižim temperaturama u zatvorenom sistemu (Lavelli & Corti, 2011). Bolje održanje polifenola u AP osušenom dehidratacijom (na 60 °C) u odnosu na sušenje vakuumom na nižim temperaturama (na 40 °C) dodatno potvrđuje izbor dehidratacije kao dobre metode za sušenje AP. U radu Lavelli & Kerr, (2012) je ukazano da se visoka stabilnost glavnih

polifenolnih jedinjenja prisutnih u AP-u može smatrati velikom prednošću i da se samo AP osušen na odgovarajući način može koristiti u razvoju novih prehrambenih i farmaceutskih proizvoda sa produženom stabilnošću u smislu nepromenjenog sadržaja i aktivnosti polifenola.

Sadržaj polifenolnih jedinjenja cele jabuke, pokožice, pulpe kao i tropa je intenzivno proučavan (Le Bourvellec et al., 2011; Lu & Foo, 1997; Persic et al., 2017). Primećeno je da količina polifenolnih jedinjenja u tropu jabuke zavisi pre svega od sorte jabuke, kao i od primenjenog tehnološkog postupka za dobijanje soka i načina ekstrakcije (Kalinowska et al., 2014; Maragò et al., 2015; Persic et al., 2017). U uzorcima APF te razlike su evidentne i mogu se pripisati pre svega u razlikama u pojedinačnim sortama jer je prilikom proizvodnje soka korišćeno samo presovanje svežeg voća, bez upotrebe enzima, naknadnog ispiranja tropa i slično, tj nije bilo značajnih razlika u primenjenom tehnološkom postupku proizvodnje soka koje bi mogle doprineti razlici u polifenolnom sastavu uzoraka.

5.2.4 Korelacija između sadržaja ukupnih i pojedinačnih polifenala i antioksidativne aktivnosti

Korelacija između sadržaja polifenolnih jedinjenja (TPC i TFC) dobijenih standardnim metodama i HPLC-om, kao i *in vitro* antioksidativnog kapaciteta merenog DPPH, ABTS i HPMC metodama je određena linearnom regresionom analizom. Koeficijenti korelacije između svih poređenih parametara su preko 0,7 (tabela 15). Utvrđena je visoka korelacija između TPC određenog FC metodom i izračunatog na osnovu HPLC analize ($r = 0,97$) koja je značajno viša od korelacije ($r = 0,72$) zabeležene za AP dobijen u laboratorijskim uslovima od pet pojedinačnih sorti jabuka koje se najčešće uzgajaju u Srbiji i jednog industrijski dobijenog uzorka (Ćetković et al., 2008). Pokazana je zadovoljavajuća međusobna korelacija između DPPH, ABTS i HPMC, kao i TPC određenog FC metodom i izračunatog na osnovu HPLC analize i TFC. Sadržaj TPC i TFC dobro korelira sa rezultatima sva tri AO testa. Visoke korelacije dobijene za APF, kao i prethodno opisane za AP (Ćetković et al., 2008), dokazuju da polifenolna jedinjenja direktno doprinose AO aktivnosti. Primećena je bolja korelacija između TPC i AO aktivnosti

određene ABTS i DPPH metodom nego HPMC metodom, kao i bolja korelacija HPMC sa TFC-om nego TPC, koja se može objasniti značajno većom AO aktivnošću pojedinačnih flavonoida u odnosu na pojedinačne polifenolne kiseline (Sužnjević et al., 2011). Ranije je uočeno i da je doprinos flavonoida ukupnoj AO aktivnosti biljnih ekstrakata određenoj HPMC metodom značajno veći od doprinosa AO aktivnosti izmerenoj ABTS i DPPH metodom (Petrović et al., 2016).

Tabela 15. Korelacioni matiks antioksidativne aktivnosti (DPPH, ABTS, HPMC) i ukupnog sadržaja polifenolnih jedinjenja određenih spektrofotometrijski (TPC-FC, TFC) i HPLC-DAD-MS/MS tehnikom (TPC-HPLC).

Promenljive	TPC-HPLC	TPC-FC	TFC	ABTS	DPPH	HPMC
TPC-HPLC	1					
TPC-FC	0,97	1				
TFC	0,75	0,86	1			
ABTS	0,89	0,94	0,82	1		
DPPH	0,89	0,96	0,95	0,86	1	
HPMC	0,86	0,88	0,92	0,77	0,93	1

Da bi se stekao uvid u doprinos pojedinih klasa polifenolnih jedinjenja, kao i pojedinačnih polifenola ukupnoj AO aktivnosti određenoj primenjenim metodama (DPPH, ABTS i HPMC) izračunati su i koeficijenti korelacije između njihovog sadržaja određenog HPLC analizom i AO aktivnosti uzoraka. Zapaženo je da je korelacija između DPPH, ABTS i HPMC i ukupnog sadržaja cimernih kiselina (0,95, 0,88 i 0,81) i dihidrokalkona (0,87, 0,86 i 0,74) ($p < 0,05$) najveća, što ukazuje na njihov doprinos ukupnoj AO aktivnosti. Relativni doprinos pojedinačnih polifenolnih jedinjenja prisutnih u jabuci, pokožici jabuke ili tropu jabuke ukupnom antioksidativnom kapacitetu ispitan je u prethodnim studijama (Diñeiro García et al., 2009; Plaza et al., 2014; Raudone et al., 2016). Kao glavni nosioci ukupne aktivnosti AO u gotovo svim sortama jabuke najčešće je navodjena hlorogena kiselina, kao jedna od najvažnijih cimernih kiselina, kao i dihidrokalkon florizin i flavanol, kvercetin. Postoji i navod o visokom stepenu korelacije između sadržaja rutina i DPPH (Ćetković et al., 2008).

Sadržaj hlorogene kiseline kvantifikovan u APF korelirao je 0,94, 0,86 i 0,80 sa rezultatima DPPH, ABTS i HPMC metode. Hlorogena kiselina imala je najveći doprinos u AO aktivnosti praha pet sorti jabuka dobijenih liofilizacijom, određenoj ABTS i FRAP metodom (Plaza et al., 2014; Raudone et al., 2016).

Sadržaj florizina korelira 0,85, 0,85 i 0,74 sa AO aktivnošću merenom DPPH, ABTS i HPMC metodom. Florizin i floretin su činili 46,70 i 41,94 % TFC-a kod AP crvenog delišesa i imali su najveći doprinos ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti određenoj pomoću četiri različita AO testa (Zhang et al., 2017). Objavljeno je da se AO aktivnost tropa od jabuke može predvideti u odnosu na sadržaj florizina, procijanidina B2, sadržaja rutina i izokvercetina, protokatehinske kiseline i hiperina (Diñeiro García et al., 2009).

Suma kvercetina, glikozida i slobodnog kvercetina, prisutnih u APF-u, ima pozitivnu korelaciju (0,48, 0,56 i 0,59) veću od korelacije između AO aktivnosti određenih sa tri primenjena eseja i ukupnih flavonola (0,37, 0,50, 0,46). Razlika između korelacije galaktozida i ramnozida bila je gotovo zanemariva. U radu Lee et al., (2003) pokazano je da najveći doprinos ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti šest sorti jabuka potiče od flavonoida kao što je kvercetin, epikatehin i procijanidin B.

Visoka do umerena korelacija utvrđena je i sa flavonima (0,81, 0,70 i 0,75) i kumarinima (0,87, 0,62, 0,75), dok je sa flavononima manja (0,42, 0,29 i 0,64). Samo su benzojeve kiseline (0,16, 0,18 i 0,20) pokazale vrlo nisku negativnu korelaciju. Međutim, uočena je umerena korelacija između DPPH, ABTS i HPMC i galne (0,77, 0,51, 0,68) i protokatehinske kiseline (0,69, 0,55, 0,45). Protokatehinska kiselina bila je povezana s visokom AO aktivnošću AP od strane Diñeiro García et al., (2009) i Plaza et al., (2014).

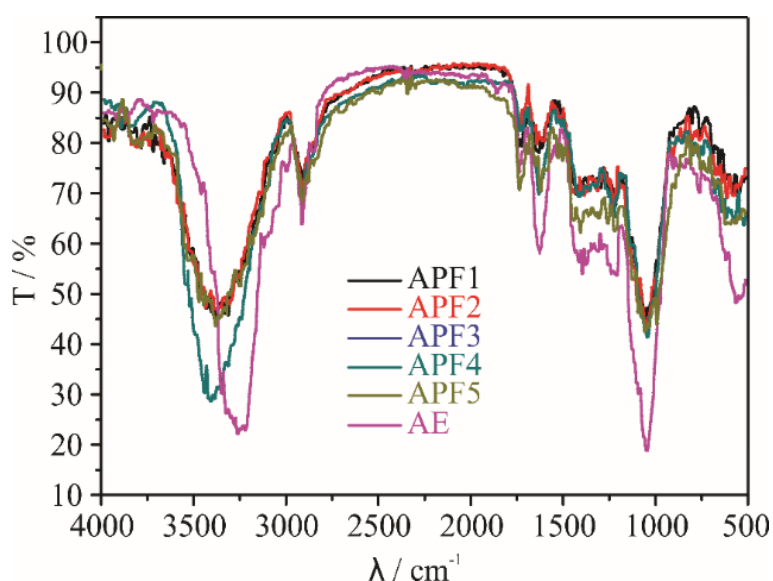
Imajući u vidu visoku aktivnost vezivanja radikala i antioksidativnu aktivnost, APF se može smatrati korisnim u sprečavanju oksidativnog stresa i prema tome koristiti da se nadoknadi nedostatak ne samo DV nego i polifenolnih jedinjenja, tj. antioksidanasa u modernoj ishrani, posebno u ishrani bez glutena. Veći unos nekih polifenola, glavnih

sastojaka pokožice jabuke, bio je povezan sa smanjenim rizikom od nekih hroničnih bolesti, uključujući dijabetes tipa II (Boyer & Liu, 2004).

Zbog antioksidativnih svojstava vezanih za sadržaj polifenolnih jedinjenja AP se smatra prirodnom zamenom za veštačke antioksidanse (Sudha et al., 2011).

5.2.5 FT-IR spektroskopska analiza

ATR-FT-IR spektri pet uzoraka APF-a i AE prikazani su na slici 15. Spektri odgovaraju FTIR spektrima jabučnog tropa objavljenim u literaturi (Chand et al., 2014).



Slika 15. ATR-FT-IR spektri APF (1-5) i AE.

Identifikacija karakterističnih IR traka za ovaj materijal je data u tabeli 16. Evidentna je prevalenca lignoceluloznih vlakana (celuloza, hemiceluloza i lignin), koja su poznata kao glavna jedinjenja prisutna u AP (Chand et al., 2015; Fan et al., 2012). U literaturi je naročita pažnja posvećena celulozi, koja se nalazi u zidovima biljnih ćelija (Fan et al., 2012) i prisutna je u svim vlaknima prirodnog porekla. U studiji (Kačuráková et al., 2000) data je detaljna analiza spektara pektina, hemiceluloze, glikozidnih veza, anomernog regiona i monosaharida. Različiti položaji traka kod posmatranih polisaharida dozvoljavaju identifikaciju strukture polisaharida i njihov sastav (Kačuráková et al., 2000; Szymanska-Chargot et al., 2015). Polisaharidi različitih struktura i sastava imaju apsorpcione trake u regionu od 800-1200 cm⁻¹ (Kačuráková et al., 2000).

Najintenzivniji pikovi u FTIR spektrima uzoraka APF-a i AE potiču od celuloze i hemiceluloze sa maksimumima u području od 990 - 1046 cm^{-1} (C-C, C-OH, CH vibracija prstena i bočnih grupa) (Chand et al., 2014; Fan et al., 2012) (tabela 16.). Trake na položajima 2845-2849 i 2916-2921 cm^{-1} potiču od istežućih vibracija grupa -C-H i -C-H₂ alifatičnih ugljeničnih lanaca (Chand et al., 2014; Fan et al., 2012)..

Tabela 16. Talasne dužine (cm^{-1}) i asignacija FT-IR traka za uzorke APF1-5 i AE

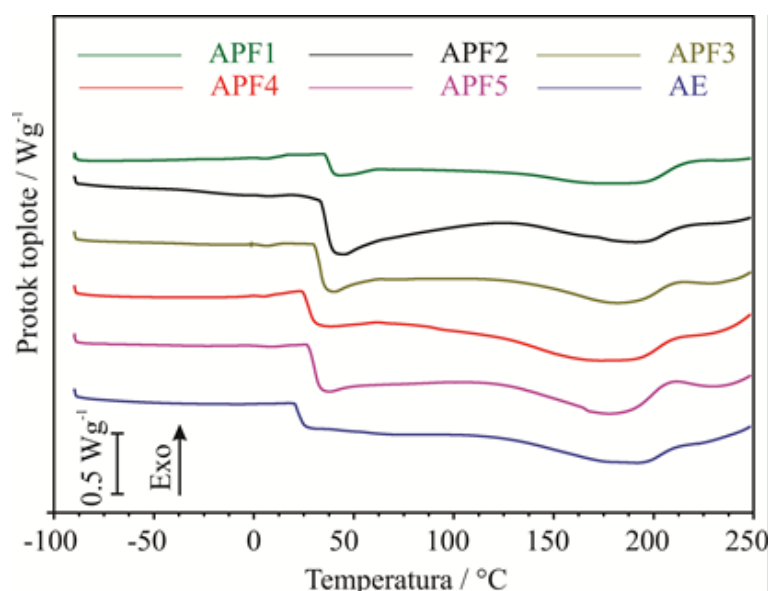
Pikovi	APF1	APF2	APF3	APF4	APF5	AE	Funkcionalne grupe	Literatura
1	3295	3303	3295	3295	3285	3312	-OH i-NH istežuce	(Chand et al., 2014; Fan et al., 2012)
2	2916	2916	2920	2920	2917	2921	-C-H ₂ asimetrične istežuce	(Chand et al., 2014)
3	2846	2846	2849	2846	-	2845	-C-H ₂ simetrična istežuća	(Chand et al., 2014)
4	1735	1737	1741	1740	1741	1738	-C=O estarska grupa istežuća (pectin)	(Chand et al., 2014; Szymanska-Chargot et al., 2015)
5	1638	1641	1614	1630	1599	1625	H-O-H vezujuća vibracija adsorbovanih molekula vode i -CO karbonilne grupa	(Chand et al., 2014; Fan et al., 2012; Szymanska-Chargot et al., 2015)
6	1422	1417	1416	1416	1413	1420	H-C-H i -O-C-H u ravni, vibracija veze	(Fan et al., 2012)
7	1362	1372	1366	1365	1339	1366	-C-O-C istežanje etarske grupe, -C-H i CH ₂ savijajuća vibracija (celuloza i hemiceluloza)	Chand et al., 2014; Szymanska-Chargot et al., 2015)
8	1237	1232	1239	1239	1235	1234	Savijajuća vibracija OH grupe u piranoznom prstenu pektina	(Szymanska-Chargot et al., 2015)
9	1023	1025	1018	1018	1026	1047	C-C, C-OH, CH vibracije prstena i bočnih grupa, vibracije bočnog lanca arabinoze (pektin)	(Chand et al., 2014; Fan et al., 2012; Szymanska-Chargot et al., 2015)
10	924	915	919	920	915	916	Vibracije prstena (hemiceluloza)	(Szymanska-Chargot et al., 2015)
11	820	820	816	817	820	817	Vibracija izvan ravni, Vibracija α -veza (pektin)	(Szymanska-Chargot et al., 2015)

Svi testirani uzorci imaju intenzivne trake sa maksimumima u oblasti 3285-3315 cm^{-1} koje odgovaraju slobodnoj vodi, kao i rastežućim vibracijama fenolnih -OH grupa pozicioniranih na 1720-1741 cm^{-1} (-C = O iz pektina i hemiceluloze) (Chand et al., 2014; Fan et al., 2012). Različit sadržaj apsorbirane vode u uzorcima utiče na promenu u intenzitetu apsorpcionog pika u oblasti 1625-1641 cm^{-1} zbog doprinosa H-O-H vibracija (Chand et al., 2014; Fan et al., 2012; Szymanska-Chargot et al., 2015). IR trake u oblasti ispod 900 cm^{-1} potiču od različitih vibracija: 895 cm^{-1} (-COC, -CCO i -CCH deformacione istežuće) , 830 cm^{-1} (vibracije hidroksilne grupe izvan ravni, vibracije α -veza (pektin) , 662 cm^{-1} (-C-OH van ravni, vezujuća vibracija) (Fan et al., 2012; Szymanska-Chargot et al., 2015).

IR spektri pokazuju prisustvo brojnih funkcionalnih grupa i složenih struktura koje jabučni trop čine biološki aktivnom i nutritivno bogatom hranom.

5.2.6 Termalna karakterizacija DSC metodom

Dobijeni DSC termogrami tropa od jabuka (APF 1-5) i AE prikazani su na slici 16, a rezultati DSC analize u tabeli 17.



Slika 16. DSC krive uzoraka brašna od tropa jabuka (APF 1-5 i AE) dobijenih pri brzini grejanja 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ u struji azota pri protoku od 60 mL min^{-1} .

Prema dobijenim DSC krivama, svi APF uzorci su pokazali slično termalno ponašanje. U temperaturnom opsegu od $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ nije bilo termalnih događaja. Uočljiv je karakterističan staklasti prelaz u temperaturnom opsegu od $20 - 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, praćen širokim plitkim endotermnim pikom u opsegu od $110,3$ do $216,1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Na temperaturama iznad $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ endotermni prelaz se nastavlja u egzotermni koji ukazuje na početak degradacije uzorka. Uočljive su sličnosti u termalnom ponašanju između APF-a i nekih čistih komponenti hrane, kao što su amorfni šećeri sa jednim staklastim prelazom (Athmaselvi et al., 2014; Roos, 2003). Međutim, u višekomponentnoj hrani, komponente mogu biti delimično amorfne (ugljeni hidrati, npr. škrob i šećeri, proteini), delimično mešljive ili nemešljive, formirajući jednu ili više faza u mikrostrukturi hrane (Roos, 2003). Slično termalno ponašanje je dobijeno za uzorke dehidriranog tropa od jabuke u ovoj studiji. Dobijeni DSC rezultati ukazuju na postojanje delimično amornog materijala (staklasti prelaz) i delimično kristalnu prirodu APF-ova (endotermni prelaz topljenja) i dobru izmešanost komponenti uzoraka (postojanje jednog staklastog prelaza).

Za određivanje i predviđanje stabilnosti hrane (Sablani et al., 2007) koristi se aktivnost vode i temperatura staklastog prelaza. Niska aktivnost vode ($0,2 - 0,4$) postignuta zahvaljujući primenjenom tehnološkom postupku, kao i T_g ($28 - 38\text{ }^{\circ}\text{C}$) koji je iznad temperatura skladištenja, obezbeđuje produženu stabilnost tokom skladištenja APF-a (Zlatanović et al., 2019). Temperatura staklastog prelaza kod posmatranih uzoraka APF-a je u korelaciji sa sadržajem vlage i a_w posmatranih uzoraka (tabela 11, tabela 17).

Temperatura staklastog prelaza hrane i bioloških materijala opada sa povećanjem sadržaja vode, usled plastifikacije čvrstih materija (Wang & Truong, 2016). Na temperaturi od $10 - 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ iznad T_g postiže se kritična viskoznost (Roos & Karel, 1991). Najviša vrednost T_g ($38,0\text{ }^{\circ}\text{C}$) odgovara APF1 sa sadržajem vlage $4,0\%$ i a_w $0,22$, a najmanja ($21\text{ }^{\circ}\text{C}$) je kod AE sa sadržajem vlage ($5,7\%$) i a_w $0,21$ (tabela 11). Značajne razlike između APF2, APF3 i APF5 u smislu T_g nisu primećene (Tukey's test ($p < 0.01$)) (tabela 17).

Tabela 17. Termodinamički parametri dobijeni iz DSC krivih (APF 1-5) i AE

Parametri		APF1	APF2	APF3	APF4	APF5	AE
Staklasti prelaz	T _{g,on} (°C)	36,0 ± 0,9 ^a	34 ± 2 ^a	31 ± 1 ^{ab}	25 ± 1 ^{cd}	28 ± 2 ^{bc}	21 ± 1 ^d
	T _g (°C)	38 ± 2 ^a	36 ± 1 ^{ab}	33 ± 2 ^{abc}	28 ± 1 ^c	30 ± 2 ^{bc}	21,4 ± 0,7 ^d
	T _{g,end} (°C)	40 ± 1 ^a	39 ± 3 ^a	35 ± 1 ^{ab}	30 ± 3 ^{bc}	32 ± 2 ^{abc}	25 ± 3 ^c
	ΔCp (J/(g·°C))	2,0 ± 0,8 ^a	6,1 ± 0,9 ^a	4,5 ± 0,8 ^a	3,1 ± 0,9 ^a	4,5 ± 0,9 ^a	3,1 ± 0,8 ^a
Endotermni prelaz	T _{on} (°C)	118 ± 3 ^c	142 ± 1 ^a	136 ± 2 ^a	110 ± 2 ^c	143 ± 3 ^a	126 ± 3 ^b
	T _p (°C)	190 ± 1 ^a	191 ± 3 ^a	182 ± 1 ^b	171 ± 3 ^c	178 ± 3 ^{bc}	191 ± 1 ^a
	T _{end} (°C)	216 ± 2 ^a	215 ± 3 ^a	208 ± 3 ^{ab}	210 ± 1 ^{ab}	206 ± 3 ^b	210 ± 3 ^{ab}
	ΔH (J/g)	141 ± 8 ^{bc}	93 ± 8 ^e	104 ± 8 ^{de}	209 ± 7 ^a	154 ± 7 ^b	124 ± 8 ^{cd}

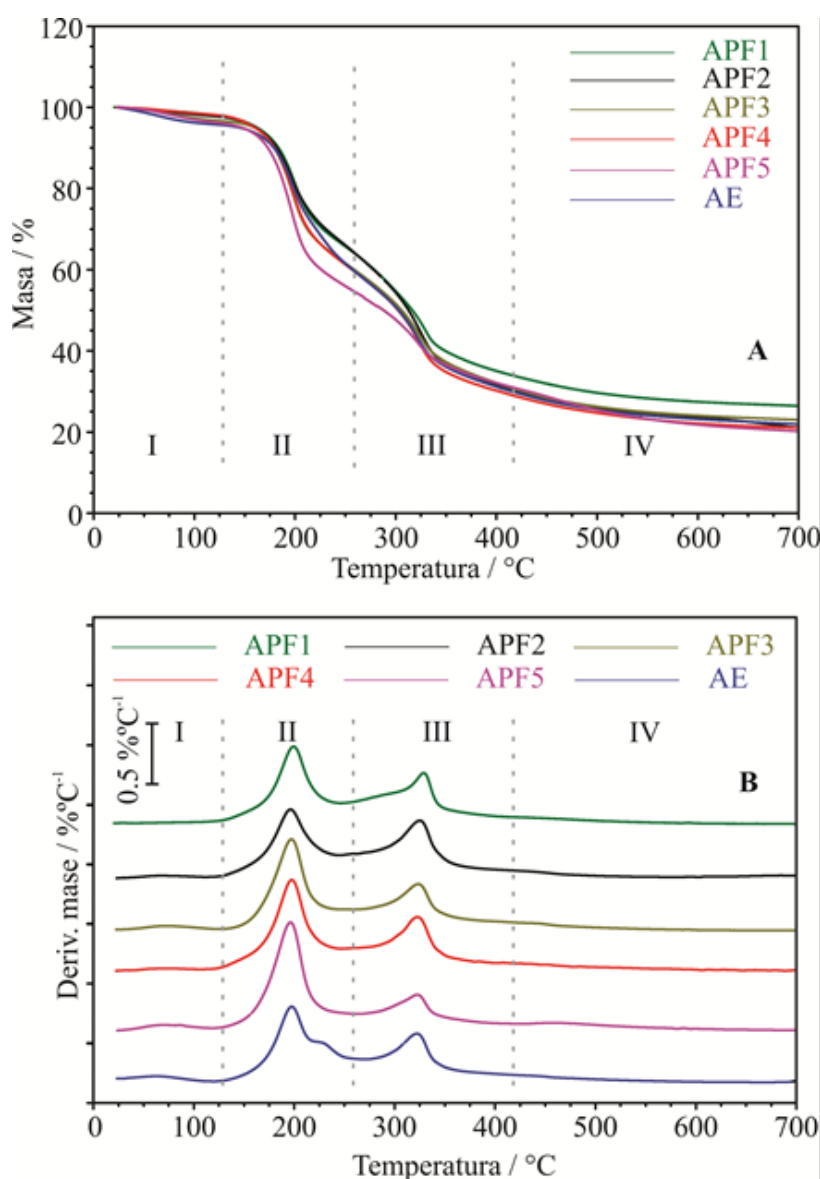
*Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± SD, različita slova kao superscript unutar istog reda ukazuju na značajne razlike, prema Tukey's HSD test (p<0.01).

Dehidracijom u vakuumskoj trakastoj sušari dobijeni su relativno stabilni uzorci tropa jabuke osušeni na temperaturama 80, 95 i 110 °C (a_w 0,11-0,22 i T_g 30,6 - 49,7 °C) koji su pokazali minimalnu lepljivost, dok je veći rizik od slepljivanja i hemijskih promena primećen na a_w 0,32 i T_g 9,9 - 16,6 °C (Yan, 2012). Generalno, dobijeni DCS termogrami se mogu pripisati složenom sastavu APF-a, visokom sadržaju ukupnih ugljenih hidrata (50 - 58,3 g / 100 g s.m.) i DV (35,2 - 45,1 g / 100 g s.m.). Prema radu Saavedra-Leos et al., (2012), širok endotermni prelaz na DSC krivi može se pripisati topljenju mono- i disaharida (glukoze, fruktoze, saharoze). Početna temperatura topljenja fruktoze, glukoze i saharoze iznosila je 113,6; 149,8 i 173,7 °C određena je DSC-om pri brzini grejanja od 1 °C min⁻¹ (Hurtt et al., 2004). Egzotermni efekat iznad 220 °C uzrokovan je termalnom degradacijom DV (Miceli-Garcia, 2014). Prisustvo celuloze i hemiceluloze značajno je doprinelo oslobađanju toplote (Baldinelli et al., 2018).

5.2.7 Termogravimetrijska analiza

Termogravimetrijska analiza korišćena je za proučavanje termalne stabilnosti uzoraka APF-a na temperaturama od 25 do 700 °C. Dobijene TG / DTG krive svih uzoraka imaju sličan oblik (slika17). Proces termalne dekompozicije APF-ova može se podeliti u četiri faze. Početna i krajnja temperatura (T_s i T_{end}), kao i procenat gubitka mase u svakoj fazi

su prikazani u tabeli 18. Prva faza (gubitak mase 1,5 do 4 %) od temperature okoline do 105 - 138 °C odgovara isparavanju adsorbovane vode i lako isparljivih komponenti. Druga i treća faza (ukupni gubitak mase 65 do 70 %), u temperaturnom rasponu od 105 - 138 do oko 425 °C (glavno područje degradacije APF uzoraka), uzrokovane su degradacijom organskih komponenti. Četvrta faza (gubitak mase 7 do 10 %), od oko 425 do 700 °C, odgovara raspadanju komponenti koje nastaju polimerizacijom produkata razgradnje, generisanih u ranijim koracima. Ostatak na 700 °C u atmosferi N₂ iznosio je od 20 do 26 % početne mase APF uzoraka.



Slika 17. TG (A) i DTG (B) krive APF (1-5) i AE pri brzini grejanja 5 °C min⁻¹ u struji N₂ i protoku 60 mL min⁻¹

Glavno područje degradacije APF-a i AE odvija se u dve faze, što je uočljivo na DTG krivama kao dva nepotpuno razdvojena pika. Preklapanje pikova ukazuje da je proces toplotne degradacije APF-a složen. Prvi pik, od oko 105 - 138 °C do oko 246 - 277 °C, posledica je razgradnje uglavnom jednostavnih ugljenih hidrata (mono- i disaharida) prisutnih u uzorku (tabela 11). Poznato je da termalna razgradnja fruktoze, glukoze i saharoze počinje na oko 119 - 165, 151 - 197 i 170 - 212 °C (Hurtta et al., 2004; Saavedra-Leos et al., 2012). Gubitak mase u prvom stepenu toplotne degradacije je od 30 do 45%. Uzorak sa najvećim sadržajem jednostavnih ugljenih hidrata (APF5) (tabela 11) ima najveći gubitak mase u prvom koraku ($p < 0,01$). Drugi pik koji se nalazi u oblasti od 246 - 277 °C do 425 °C, nastaje kao rezultat razgradnje lignoceluloznih komponenata (hemiceluloze, celuloze i lignina). Drugi pik toplotne degradacije i APF i AE je u skladu s termalnom degradacijom hemiceluloze i celuloze za koje se zna da se javljaju na oko 220 - 315 °C i 250 - 450 °C (Baldinelli et al., 2018; Leal et al., 2015; Yeng et al., 2015). Iz literature je poznato da se lignin kontinuirano razlaže počevši od 160 do 900 °C, kao i da daje visok čvrsti ostatak do 40 % (Yang et al., 2007).

Gubitak mase u drugom stepenu termalne degradacije je od 21 do 37 %. Uzorak APF5 pokazuje značajno manji gubitak mase u poređenju s drugim uzorcima ($p < 0,01$), što se očekuje s obzirom na njegov niži sadržaj celuloze u odnosu na druge analizirane uzorke (tabela 11). U zoni preklapanja ova dva pika došlo je do razgradnje manje stabilnih makromolekula kao što su pektin i proteini. Poznato je da njihova razgradnja počinje od oko 209 - 230 odnosno 214 - 240 °C (Chen et al., 2018; Nešić et al., 2017).

Budući da su proteini i pektin prisutni u znatno manjim količinama u odnosu na jednostavne ugljene hidrate i dijetna vlakna, maksimumi njihove degradacije na DTG krivama nisu dobro razdvojeni i potpuno se preklapaju sa maksimumima pikova koji potiču od jednostavnih ugljenih hidrata i degradacije dijetnih vlakana. Jedini izuzetak je uzorak AE sa značajno većom količinom pektina (tabela 11, $p < 0,01$). Rame vidljivo na desnoj strani prvog pika na DTG krivi kod uzorka AE odgovara termalnoj razgradnji pektina. Da bi se procenila termalna stabilnost uzoraka, početne temperature (T_{on}) pikova termalne degradacije određene su pomoću DTG kriva (tabela 18). Na osnovu T_{on} ,

nije bilo značajne razlike ($p < 0,01$) među uzorcima u smislu njihove termalne stabilnosti. Međutim, početna temperatura degradacije ne smatra se jedinim pokazateljem termalne stabilnosti.

Tabela 18. Gubitak mase i temperature degradacije dobijene iz TG i DTG krive (APF1-5) i AE.

	APF1	APF2	APF3	APF4	APF5	AE
T_{s1} (°C)	25 ± 2 ^{ab}	23 ± 1 ^b	32 ± 1 ^a	23 ± 2 ^b	24 ± 2 ^b	23 ± 2 ^b
T_{end1} (°C)	121 ± 1 ^{bc}	138 ± 2 ^a	126 ± 2 ^b	105 ± 2 ^d	121 ± 1 ^{bc}	119 ± 2 ^c
gubitak 1 (%)	1,8 ± 0,6 ^a	3 ± 1 ^a	3,2 ± 0,7 ^a	1,5 ± 0,8 ^a	4 ± 1 ^a	4 ± 1 ^a
T_{s2} (°C)	121 ± 1 ^{bc}	138 ± 2 ^a	126 ± 2 ^b	105 ± 2 ^d	121 ± 1 ^{bc}	119 ± 2 ^c
T_{end2} (°C)	247 ± 2 ^d	246 ± 1 ^d	256 ± 2 ^c	250 ± 1 ^d	277 ± 2 ^a	268 ± 2 ^b
gubitak 2 (%)	32 ± 2 ^b	30 ± 4 ^b	36 ± 3 ^{ab}	37 ± 4 ^{ab}	45 ± 4 ^a	38 ± 3 ^{ab}
T_{on} (°C)	159 ± 2 ^a	157 ± 1 ^a	157 ± 2 ^a	158 ± 1 ^a	156 ± 1 ^a	160 ± 2 ^a
T_{s3} (°C)	247 ± 2 ^d	246 ± 1 ^d	256 ± 2 ^c	250 ± 1 ^d	277 ± 2 ^a	268 ± 2 ^b
T_{end3} (°C)	425 ± 1 ^a	425 ± 1 ^a	424 ± 1 ^a	424 ± 1 ^a	425 ± 1 ^a	424 ± 1 ^a
gubitak 3 (%)	33 ± 4 ^a	37 ± 3 ^a	30 ± 3 ^{ab}	33 ± 4 ^{ab}	21 ± 2 ^b	28 ± 3 ^{ab}
T_{s4} (°C)	425 ± 1 ^a	425 ± 1 ^a	424 ± 1 ^a	424 ± 1 ^a	425 ± 1 ^a	424 ± 1 ^a
T_{end4} (°C)	697 ± 1 ^a	695 ± 1 ^a	696 ± 1 ^a	696 ± 1 ^a	694 ± 1 ^a	697 ± 1 ^a
gubitak 4 (%)	7 ± 1 ^a	8 ± 2 ^a	7 ± 1 ^a	7 ± 1 ^a	10 ± 2 ^a	7 ± 1 ^a
T_{res} (°C)	698 ± 1 ^a	694 ± 1 ^b	698 ± 1 ^a	698 ± 1 ^a	698 ± 1 ^a	698 ± 1 ^a
ostatak (%)	26 ± 1 ^a	21 ± 1 ^b	23 ± 1 ^b	21 ± 1 ^b	20 ± 1 ^b	22 ± 1 ^b

*Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± SD, različita slova kao superscript unutar istog reda ukazuju na značajne razlike, prema Tukey's HSD test ($p < 0,01$)

Da bi se utvrdila termalna stabilnost uzoraka urađena je analiza kinetike termalne degradacije uzoraka.

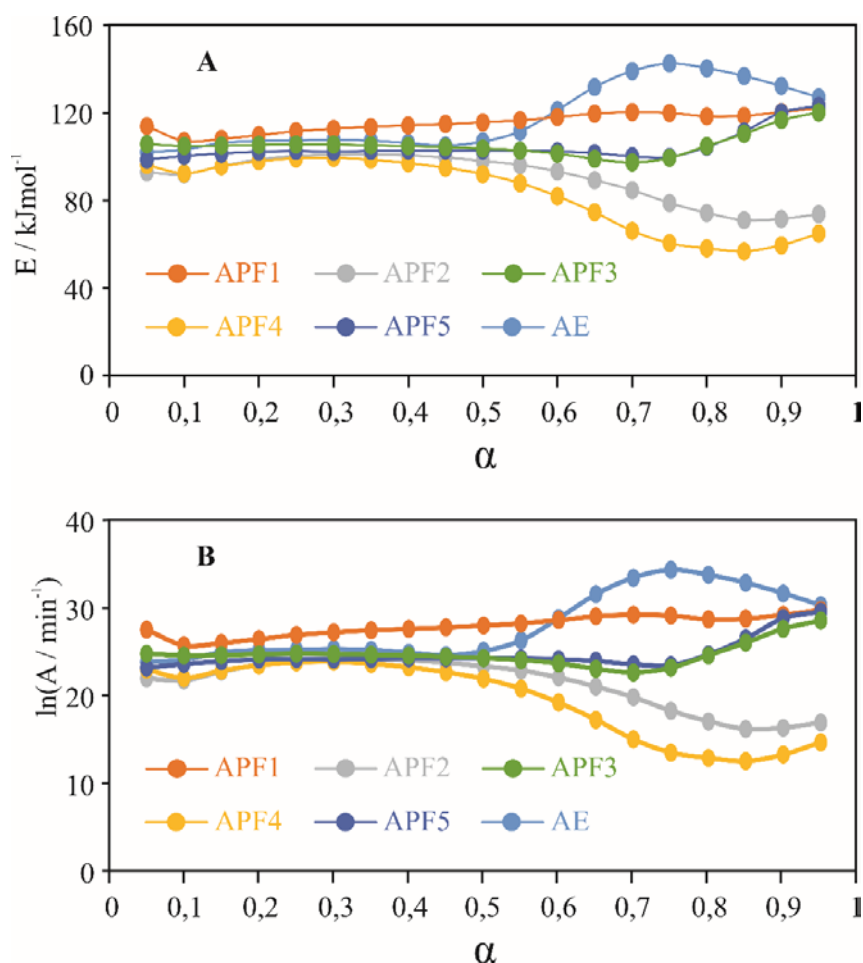
5.2.8 Kinetika termalne degradacije

Brzina samog procesa termalne degradacije često se uzima u obzir kako bi se dobio sveobuhvatniji uvid u proces. U tu svrhu određeni su kinetički parametri (energija aktivacije, preeksponencijalni faktor i konstanta brzine) procesa termalne degradacije. Temperaturni raspon prvog pika procesa termalne degradacije (od 105 - 138 do 246 -

277 °C) APF-ova odabran je za kinetičko ispitivanje. To je od interesa, budući da se prerada hrane, kao što je pečenje, odvija u tom temperaturnom području. Rezultati dobijeni termogravimetrijskom analizom APF-a i AE pri pet različitih brzina zagrevanja (5, 10, 15, 20 i 30 °C min⁻¹) obrađeni su pomoću Fridmanove diferencijalne izokonverzivne metode izračunavanja aktivacionih energija procesa termalne degradacije.

Fridmanova metoda predstavlja efikasnu metodu za procenu aktivacione energije i ne uključuje pojednostavljenu aproksimaciju. Tako dobijena aktivaciona energija je efektivna energija aktivacije celokupnog procesa termalne degradacije, koja predstavlja zbir aktivacionih energija svake pojedinične reakcije tokom degradacije. Efektivna energija aktivacije je funkcija stepena konverzije (u opsegu od 0,05 do 0,95, sa porastom od 0,05). Do stepena konverzije od 0,5 svi uzorci imaju isti trend energija aktivacije. To znači da efektivne energije aktivacije svih uzoraka ne variraju značajno sa povećanjem stepena konverzije. Međutim, takav trend se nastavlja do stepena konverzije od 0,95 samo za uzorak APF1. Efektivna energija aktivacije AE se povećava, dok energija APF2 i APF4 neznatno opada sa povećanjem stepena konverzije iznad 0,5. Efektivna energija aktivacije APF3 i APF5 ostaje konstantna do stepena konverzije od 0,75, kada počinje da se blago povećava (slika 18).

Ovo se može objasniti složenošću organskih jedinjenja prisutnih u analiziranim uzorcima, kao i preovlađujućim prisustvom ugljenih hidrata (tabela 11). Nema značajnih varijacija u vrednostima efektivne energije aktivacije svih uzoraka u opsegu stepena konverzije od 0,05 do 0,5 (105 - 138 do 207 - 216 °C), gde se uglavnom degradiraju jednostavni ugljeni hidrati. Uočene su značajne varijacije u oblastima stepena konverzije iznad 0,5, gde degradacija složenijih organskih jedinjenja (proteina, pektina) počinje da doprinosi efektivnoj energiji aktivacije. Kompenzacioni efekat se koristi za izračunavanje logaritamskih vrednosti preeksponecijalnog faktora i $\ln A$ kao funkcije stepena konverzije (u opsegu od 0,05 do 0,95 sa povećanjem od 0,05) (slika 18B).



Slika 18. Efektivna energija aktivacije(A) i logaritamske vrednosti (B) preeksponencijalnog faktora procesa termalne degradacije uzoraka APF (1-5) i AE kao funkcija stepena konverzije

Kao što se vidi, vrednosti preeksponencijalnih faktora prate trend efektivnih energija aktivacije. Prosečne vrednosti efektivnih E i $\ln A$ svih uzoraka prikazane su u tabeli 19. Na osnovu ANOVA ($p < 0,01$), uzorci se mogu svrstati u tri grupe: 1) AE i APF1 sa najvišim prosečnim vrednostima E i $\ln A$; 2) APF5 i APF3 sa srednjim vrednostima E i $\ln A$; 3). APF2 i APF4 sa najnižim srednjim vrednostima E i $\ln A$. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa vrednostima energije aktivacije poljoprivrednog otpada (Gai et al., 2013). U svojoj studiji, Jo et.al., (2017) utvrdili su da su vrednosti energije aktivacije za otpad od različitih sirovina (žitarice, meso, povrće) iznosile oko 50 kJ mol^{-1} . Niže vrednosti energije aktivacije ukazuju da se otpad sastoji uglavnom od ugljenih hidrata i drugih komponenti, a ne celuloze, hemiceluloze i lignina. Energija aktivacije, kao potencijalna barijera reakciji, može se koristiti za procenu termalne stabilnosti uzoraka. Međutim,

Arenijusova konstanta brzine je mnogo pogodniji parametar za ovu svrhu (Micić et al., 2015; Thurgood et al., 2007), jer pored energije aktivacije, ona uključuje i preeksponencijalni faktor i temperaturu.

Tabela 19. Kinetički parametri APF (1-5) i AE.

Uzorci	E / kJmol^{-1}	$\ln(A / \text{min}^{-1})$	$k_{200} / \text{min}^{-1}$
APF1	116 ± 4^{ab}	28 ± 1^a	0.273
APF2	90 ± 11^c	21 ± 3^c	0.245
APF3	105 ± 5^b	25 ± 1^b	0.146
APF4	83 ± 16^c	20 ± 4^c	0.278
APF5	104 ± 7^b	25 ± 2^b	0.177
AE	118 ± 15^a	28 ± 4^a	0.143

*Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost \pm SD, različita slova kao superscript unutar iste kolone ukazuju na značajne razlike, prema Tukey's HSD test ($p < 0.01$).

Uzimajući u obzir potencijalnu primenu APF kao sastojka obogaćenih konditorskih i pekarskih proizvoda, konstante brzine pri uobičajenoj temperaturi pečenja (200 °C) (k_{200}) izračunate su pomoću Arenijusove jednačine (tabela 19). Prema k_{200} , svi ispitivani uzorci mogu se podeliti u dve grupe. Termalna degradacija uzoraka u grupi sa nižim vrednostima k_{200} (APF3, APF5 i AE) odvija se sporije od degradacije uzoraka u grupi sa višim vrednostima (APF1, APF2 i APF4). To znači da su APF3, APF5 i AE termalno stabilniji od APF1, APF2 i APF4. Ovaj rezultat navodi na zaključak da su uzorci tropa od organski gajenih jabuka termalno stabilniji, ali je za potvrdu istog potrebno analizirati veći broj uzoraka.

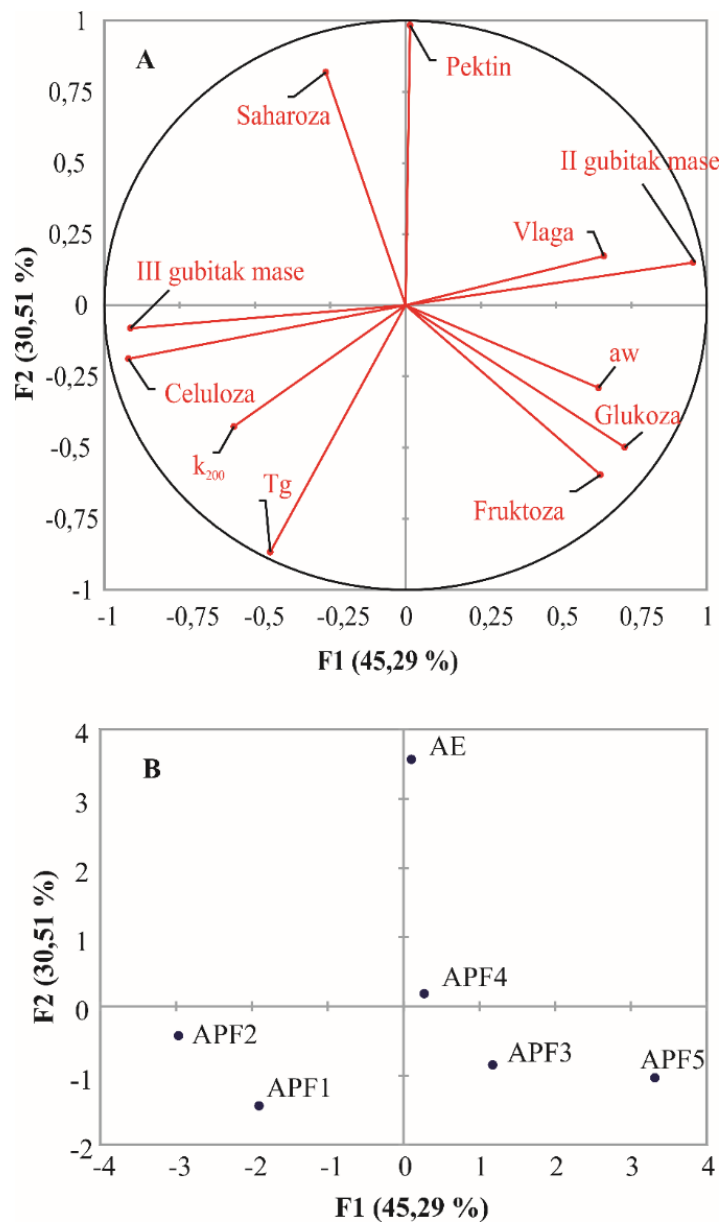
Iako se analizirani uzorci sastoje uglavnom od istih ugljenih hidrata, na ukupnu termalnu stabilnost mogu uticati i druge prateće komponente. Uprkos prisutnosti u manjim koncentracijama, ova jedinjenja mogla bi imati uticaj na toplotno ponašanje. Sastav i prisustvo minornih pratećih komponenata zavisi od sorte, uslova gajenja (Boyer & Liu, 2004) i stepena sazrevanja jabuka (Ferreira Zielinski et al., 2014; Nagy et al., 2004).

Analiza glavnih komponenti korišćena je za integrisanje rezultata hemijske i termalne analize, uspostavljanje mogućih korelacija između izmerenih parametara i klasifikaciju uzoraka u faktorsku ravan. Korišćeni su parametri sa statistički različitim ($p < 0.01$)

vrednostima (celuloza, pektin, glukoza, fruktoza, saharoza, vlaga i a_w (tabela 11), T_g (tabela 17), gubitak mase 2 i gubitak mase 3 (tabela 18), k200 (tabela 19)). Prva dva faktora treba da odgovaraju visokom procentu varijanse da bi se osiguralo da su projekcije zasnovane na prva dva faktora dobra projekcija početne višedimenzionalne tabele. U ovom slučaju prva dva faktora (F1 - 45,29 % i F2 - 30,51 %) predstavljaju 75,8 % početne varijabilnosti podataka. Projekcija početnih parametara u ravni prva dva faktora prikazana je na slici 19.

Parametri koji su daleko od centra i blizu jedan drugom pozitivno koreliraju, ortogonalni ne koreliraju, dok su oni koji se nalaze na suprotnoj strani centra negativno korelirani. Kada su parametri blizu centra, neke informacije se prenose na druge ose (faktore). Korelacioni krug, koji predstavlja korelaciju između početnih parametara i faktora, koristi se u tumačenju značenja faktora.

Slika 19A pokazuje da je prvi faktor (F1) povezan sa drugim gubitkom mase, glukozom i fruktozom (pozitivna korelacija), kao i sa trećim gubitkom mase i celulozom (negativna korelacija). Ovaj rezultat potvrđuje gore navedena objašnjenja gubitka mase 2 i 3 kao posledice degradacije jednostavnih ugljenih hidrata (glukoze i fruktoze) i uglavnom hemiceluloze i celuloze. Negativna korelacija između gubitka mase 2 i 3 ukazuje da jednostavni ugljeni hidrati nastaju razgradnjom složenih tokom zrenja jabuke (Dheilly et al., 2016; Paniagua et al., 2014). Drugi faktor (F2) je u pozitivnoj korelaciji sa pektinom i saharozom, a u negativnoj sa T_g . Opažanje da k200 ne korelira ni sa jednim od testiranih parametara podržava pretpostavku da bi termalna stabilnost APF-ova mogla da zavisi od nekih manjih pratećih komponenti prisutnih u uzorku.



Slika 19. Analiza glavnih komponenti APF1-5 i AE (F1 vs F2 plane): (A) korelacioni krug posmatranih parametara; (B) uzorci raspoređeni u faktorskom prostoru

Uzorci u faktorskoj ravni F1 vs F2 omogućavaju identifikaciju trendova uzoraka i prikazani su na slici 20B. Može se videti da se uzorak AE izdvaja u odnosu na druge uzorke po F2 vrednosti. Razlog za to je verovatno visok sadržaj pektina u AE, jer je F2 visoko pozitivno koreliran sa sadržajem pektina (slika 19A).

5.3 EFEKAT ISHRANE OBOGAĆENE BRAŠNOM OD TROPA JABUKE NA REGULACIJU METABOLIZMA

5.3.1 Potvrda netoksičnosti brašna od tropa jabuke

Životinje su posmatrane 72 h nakon aplikacije 2000 mg / kg APF-a. Tokom ovog perioda nije bilo uginuća ogleđnih životinja, nisu opažene promene u ponašanju, niti znaci toksične reakcije. Rezultati ispitivanja akutne toksičnosti pokazuju da je APF netoksičan u dozi od 2000 mg / kg.

5.3.2 Efikasnost brašna tropa od jabuke kao dijetetskog preparata

Praćen je efekat dodatka dve doze APF-a ishrani sa visokim sadržajem masti na unos hrane, povećanje telesne težine i lipidni i glikemijski status eksperimentalnih životinja. Efekat je upoređen sa efektom masne hrane bez i sa dodatkom antilipemika simvastatina. Efekat standardne hrane je uzet u obzir kao kontrola.

Rezultati dobijeni za grupe koje su konzumirale masnu hranu sa APF, u dve doze (G1 - 10 mg i G2 - 20 mg dnevno) i sa simvastatinom (G3) na unos hrane i povećanje telesne težine prikazani su u tabeli 20 zajedno sa rezultatima dobijenim za grupu koja je konzumirala samo masnu hranu (G4) i kontrolnu grupu (G5).

Prisustvo APF-a je uticalo na srednju potrošnju hrane i telesnu težinu životinja. Uopšteno posmatrano potrošnja hrane u eksperimentalnim grupama je bila znatno niža od potrošnje u kontrolnoj grupi ($p < 0,01$), što ukazuje na sporu adaptaciju životinja na modifikovanu ishranu. Kod G1 i G2 je zapažen značajan efekat na telesnu težinu ($p < 0,01$) u poređenju sa kontrolnom grupom G5. Kod G4 i G1 (niža doza brašna od tropa jabuke) je došlo do manjeg porasta težine ($1,59 \pm 1,08$ i $2,99 \pm 1,37$ g) nego kod G5 ($7,93 \pm 2,03$ g, $p < 0,01$), dok je kod G2 i G3 porast telesne težine znatno veći nego u G4 ($p < 0,01$).

Tabela 20. Poređenje uticaja ishrane masnom hranom sa dodatkom tropa od jabuke (10 i 20 mg) (G1 i G2) i simvastatina (G3) sa uticajem ishrane masnom hranom (G4) i standardnom hranom (G5) na lipidni i glikemijski status miševa C57BL/6J

	G1	G2	G3	G4	G5
Ukupni holesterol (mmol L ⁻¹)	3,50 ± 0,38 ^a	3,73 ± 0,31 ^a	3,60 ± 0,44 ^a	3,73 ± 0,75 ^a	2,55 ± 0,27 ^b
Triacilglicerol (mmol L ⁻¹)	1,10 ± 0,12 ^b	1,45 ± 0,51 ^{ab}	1,24 ± 0,25 ^b	2,01 ± 0,39 ^a	1,36 ± 0,39 ^b
Glukoza (mmol L ⁻¹)	10,38 ± 0,79 ^b	10,74 ± 1,37 ^b	12,09 ± 0,66 ^{ab}	14,24 ± 2,59 ^a	10,31 ± 1,43 ^b
Porast telesne težine (g)	2,99 ± 1,37 ^{cd}	5,40 ± 1,24 ^b	5,05 ± 0,82 ^{bc}	1,59 ± 1,08 ^d	7,93 ± 2,03 ^a
Početa težina (g)	21,96 ± 0,11 ^a	19,53 ± 1,28 ^b	21,33 ± 0,85 ^a	21,40 ± 0,63 ^a	18,56 ± 0,91 ^b
Krajnja težina (g)	24,95 ± 1,39 ^{ab}	24,93 ± 1,53 ^{ab}	26,38 ± 0,70 ^a	22,99 ± 1,24 ^b	26,49 ± 2,11 ^a
Potrošnja hrane (g/danu)	2,01 ± 0,06 ^{bc}	2,25 ± 0,14 ^b	1,82 ± 0,07 ^c	1,78 ± 0,09 ^c	3,22 ± 0,47 ^a
Potrošnja vode (ml/danu)	5,98 ± 0,39 ^{bc}	7,19 ± 0,36 ^a	5,74 ± 0,23 ^c	7,39 ± 0,27 ^a	6,30 ± 0,61 ^b

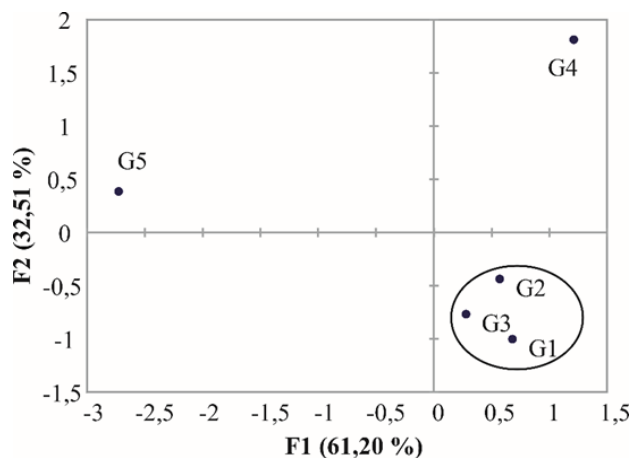
*Prema Tuckeyevom HSD testu ($p < 0.01$) vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± SD, različita slova kao superscript unutar istog reda ukazuju na značajne razlike

Koncentracije triacilglicerola u serumu kod obe grupe miševa koji su uzimali hranu sa dodatkom tropa od jabuke (G1 i G2) su smanjene za 45,3 i 27,9 % u poređenju sa koncentracijom triacilglicerola u serumu (2,01 mmol L⁻¹) kod miševa u grupi G4 koji su uzimali hranu sa visokim sadržajem masti.

Niža doza tropa od jabuka u ishrani imala je isti efekat kao i viša na nivo TAG seruma ($p < 0,01$). Kod miševa koji su hranjeni masnom hranom bez i sa dodatkom i antilipemika simvastatina zapažen je isti pad za 38,3 %. Nivo glukoze kod obe grupe miševa u čijoj ishrani je prisutan APF (G1 i G2) je ostao na istom nivou kao i kod kontrolne grupe hranjene standardnom hranom (G5). Za razliku od grupe koja je dobijala samo masnu hranu (G4) i grupe hranjene masnom hranom sa antilipemikom (G3) kod grupa hranjenih APF-om nije došlo do porasta u odnosu na kontrolnu grupu. I kod G3 grupe je došlo do redukcije glikemije u odnosu na G4, ali je redukcija kod G1 i G2 značajno veća. U poređenju sa G4 smanjenje glikemije kod G1 i G2 iznosilo je 27,1 % i 24,6 %. Nije bilo statistički značajnog uticaja na nivo holesterola kod G1 i G2 u poređenju sa G4, što je u saglasnosti sa prethodno sprovedenom studijom (Bobek et al., 1998). Do porasta koncentracije holestrola je došlo kod sve četiri grupe hranjenje masnom hranom. Porast koncentracije holesterola kod grupe koja je dobijala antilipemik ukazuje na potrebu prilagođavanja doze leka ali ne umanjuje značaj dobijenih rezultata koji se odnose na

efekat APF na smanjenje TAG i glukoze. Na osnovu ANOVA ($p < 0,01$), može se zaključiti sa sigurnošću da postoji uticaj ishrane u kojoj je prisutan APF na pomenute parametre.

Metoda glavnih komponentata je korišćena za pronalaženje mogućih korelacija između izmerenih parametara - varijabli (ukupni holesterol, triacilglicerol, glikemija i povećanje telesne težine) i za klasifikaciju grupa što je predstavljeno u faktorskoj ravni (slika 20).



Slika 20. Analiza glavnih komponenti – grupe (G1, G2, G3, G4 i G5) u faktorskom prostoru

Prve dve glavne komponente (faktori) su predstavljale 91,3 % početne varijabilnosti podataka. Grupe koje su geometrijski blizu su slične. Grupe G1, G2 i G3 su grupisane, tako da se može zaključiti da su one međusobno slične na osnovu posmatranih varijabli, tj. da je dodavanje tropa jabuke u ishranu masnom hranom imalo sličan efekat kao i lek na koncentraciju holesterola i triacilglicerola, glikemije i povećanje telesne težine kod miševa.

Sprovedena studija je svakako pokazala da prisustvo brašna od tropa jabuke u masnoj hrani ima značajan efekat na nivo TAG i glukoze. Dobijeni rezultati ukazuju na mogućnost korišćenja APF u prevenciji metaboličkih poremećaja do kojih dolazi usled nepravilne ishrane, pre svega dijabetesa i hiperlipidemije. Rezultati upoređivanja uticaja različitih doza APF-a na metabolizam omogućili su optimizaciju dnevnog unosa APF-a kao dijetetskog preparata. Utvrđeno je da optimalna doza APF-a, koja ima značajan pozitivan efekat na regulaciju nivoa glukoze i triacilglicerola iznosi 10-30 g / dan.

5.4 TEHNOLOŠKA SVOJSTVA BRAŠNA OD TROPA JABUKE

U cilju dalje praktične primene dobijenog APF-a određene su tehno-funkcionalne karakteristike od kojih zavisi kvalitet finalnog proizvoda sa dodatkom istog.

5.4.1 Raspodela veličine čestica, nasipna i tapkana gustina

Raspodela čestica nakon mlevenja u industrijskom mlinu sa podešavanjem na dve različite granulacije je određena prosejavanjem kroz odgovarajuća laboratorijska sita. Maksimalni težinski procenat za krupno brašno je za veličinu čestica između $500 \mu\text{m} < n < 1 \text{ mm}$ (28,32 %), dok je za sitno brašno raspodela malo drugačija i maksimalni težinski procenat je 27,78 % za veličinu čestica između $160 \mu\text{m} < n < 300 \mu\text{m}$. Ovim postupkom mlevenja dobija se raznolika distribucija čestica kao što je prikazano u tabeli 21.

Tabela 21. Raspodela krupnog i finog APF po sitima

<i>Frakcija</i>	<i>Masa (g) krupno</i>	<i>Masa (g) fino</i>
$\geq 1\text{mm}$	9,05	-
$500\mu\text{m} < n < 1\text{mm}$	28,32	-
$300 \mu\text{m} < n < 500\mu\text{m}$	18,92	8,18
$160 \mu\text{m} < n < 300 \mu\text{m}$	16,92	27,78
$125 \mu\text{m} < n < 160 \mu\text{m}$	9,15	13,65
$90 \mu\text{m} < n < 125 \mu\text{m}$	6,51	10,87
$63 \mu\text{m} < n < 90 \mu\text{m}$	8,10	21,68
$45 \mu\text{m} < n < 63 \mu\text{m}$	1,47	14,91
$n < 45 \mu\text{m}$	-	0,13

Nasipna gustina APF za fino i krupno iznosila je 435 i 459 g L^{-1} a tapkana 632 i 591 g L^{-1} . Slične vrednosti (557 i 447 g L^{-1}) su izmerene za AP prah smanjenog sadržaja šećera čija je veličina čestica bila manja od $150 \mu\text{m}$ (Sahni & Shere, 2017a). Smanjenjem sadržaja vlage smanjuje se nasipna gustina jabučnog praha dobijenog različitim metodama sušenja. Isti trend je primećen i za tapkanu gustinu AP koja je varirala od 430 do 580 g L^{-1} (Jakubczyka et al., 2011). Na osnovu uvida u podatke dostupne za brašno cerealija, može se zaključiti da su vrednosti tapkane gustine APF i pšeničnog brašna (640 g L^{-1}) slične (Oyeyinka et al., 2014).

Nasipna težina APF je pak manja od pšeničnog (Joshi et al., 2015; Kang et al., 2012), pirinčanog (Rosniyana et al., 2016) i kukuruznog brašna (Charrondiere et al., 2012). Niža nasipna gustina APF-a u poređenju sa pšeničnim brašnom može biti rezultat smanjenja sadržaja ugljenih hidrata za koje je poznato da imaju veliku nasipnu gustinu (Gernah et al., 2011). Nasipna gustina brašna je važna osobina, jer utiče na umešavanje, pakovanje i transport (Ocheme et al., 2018). Brašno koje ima niže vrednosti nasipne gustine je pogodnije za pečenje (Oladapo et al., 2017).

5.4.2 Sposobnost vezivanja vode i ulja, kapacitet bubrenja i hidratacije

U skladu sa tehnološkim i funkcionalnim osobinama koje poseduju, sporedni proizvodi industrije prerade voća se mogu koristiti kao funkcionalni dodatak ishrani (O'Shea et al., 2012). U ovom kontekstu u literaturi trop od jabuke je ispitivan kao izvor dijetnih vlakana koja imaju sposobnost vezivanja vode, ugušćivanja, emulgovanja, vezivanja ulja sposobnost bubrenja, itd. Tehnološke osobine kao što su kapacitet vezivanja i zadržavanja vode, kapacitet bubrenja i rastvorljivost su u korelaciji sa fiziološkim efektima. Kapacitet vezivanja vode je doveden u vezu sa laksativnim dejstvom, kapacitet vezivanja ulja, odnosno masti sa redukcijom nivoa holesterola u krvi, kapacitet vezivanja glukoze sa regulacijom nivoa glukoze u krvi, rastvorljivost sa smanjenjem pojave hroničnih poremećaja kao što su koronarna bolest, dijabetes, gojaznost i neke forme kancera (Elleuch et al., 2011).

Kapacitet vezivanja vode dobijenog brašna od tropa jabuke (APF1-5) je u rasponu od 4,41 g do 6,36 vode po gramu uzorka. Kapacitet vezivanja ulja za APF1-5 je od 1,33 do 1,61 g ulja po gramu uzorka.

Vrednosti WHC, OHC, SWC i HD, daju uvid u ponašanje DV tokom prerade hrane i prolaska kroz gastrointestinalni trakt (Dhingra et al., 2012). Sposobnost materijala da veže i zadrži vodu unutar matrice, odnosno vrednost WHC, zavisi od sadržaja i hemijske strukture DV (Elleuch et al., 2011). Literaturne vrednosti WHC za AP se kreću od 1,62 g g⁻¹ (Figuerola et al., 2005) do 6,34 g g⁻¹ (Ktenioudaki et al., 2013). Izmerene vrednosti WHC finog i krupnog APF-a (4,66 i 4,79 g g⁻¹) su u skladu sa prijavljenim podacima za AP

(Cerde-Tapia et al., 2015). Sposobnost vezivanja vode zavisi od načina dobijanja tropa, uslova sušenja, predtretmana kao što je pranje ili beljenje, sastava (prisustva semenke, peteljke), sorte jabuke, itd. Struktura dijetnih vlakana koja čine oko 50 % sastava jabučnog tropa i faktori kao što su poroznost, veličina čestica, pH, temperatura, jonska jačina i vrsta jona prisutnih u rastvoru utiču na sposobnost vezivanja vode (Elleuch et al., 2011). Do promene strukture i razgradnje polisaharida ćelijskog zida ne dolazi na niskim temperaturama dehidratacije, što omogućava dobijanje APF-a čije su vrednosti WHC visoke.

Količina vode potrebne za hidrataciju komponenti brašna da bi se proizvelo testo optimalne konzistencije, jedan je od osnovnih parametara kvaliteta brašna (Bushuk & Békés, 2002). Vrednosti dobijene za APF su upoređene sa prijavljenim podacima za pšenično i brašno žita bez glutena. APF ima više vrednosti WHC od ovsenih mekinja ($2,1 \text{ g g}^{-1}$) (Chen et al., 1988), finog ($1,14 \text{ g g}^{-1}$) (Kohajdová et al., 2011), punomasnog ($1,85 \text{ g g}^{-1}$) i odmašćenog ($1,92 \text{ g g}^{-1}$) (Joshi et al., 2015) pšeničnog brašna, kao i komercijalnog ($0,88 \text{ g g}^{-1}$) (Rosniyana et al., 2016), punomasnog ($1,26 \text{ g g}^{-1}$) i odmašćenog ($1,56 \text{ g g}^{-1}$) (Joshi et al., 2015) pirinčanog i kukuruznog brašna ($1,57 \text{ g g}^{-1}$) (Belorio et al., 2019). Poznato je da se brašna sa visokim vrednostima WHC široko koriste u namirnicama kao što su mesni proizvodi, kremovi i supe za poboljšanje teksture i viskoziteta, a u pečenim proizvodima za poboljšanje svojstava svežine i manipulacije (Raikos et al., 2014).

Izmerene vrednosti OHC ($1,27$ i $1,40 \text{ g g}^{-1}$) za fino i krupno APF su u skladu sa prijavljenim vrednostima (Thibault et al., 1992). Veće vrednosti su zabeležene za kuvani ($1,69 \text{ g g}^{-1}$) (Cerde-Tapia et al., 2015; Rabetafika et al., 2014) i isprani AP ($2,24 \text{ g g}^{-1}$) (Sahni & Shere, 2017a), a niže vrednosti za pirinčano brašno (punomasno $0,75 \text{ g g}^{-1}$ i odmašćeno $1,1 \text{ g g}^{-1}$) (Joshi et al., 2015), suvo mleveno ($0,8 \text{ g g}^{-1}$), mokro mleveno ($0,58 \text{ g g}^{-1}$) i komercijalno ($0,5 \text{ g g}^{-1}$) (Rosniyana et al., 2016). Vrednost OHC zavisi od prisustva lignina, njegove strukture i površinskih svojstava, ukupne gustine naelektrisanja, debljine, hidrofobne prirode i veličine čestica. Povećanje temperature sušenja uzrokuje smanjenje vrednosti OHC (Figuerola et al., 2005; Garau et al., 2007).

Vrednosti za kapacitet hidriranja finog i krupnog APF1 (0,5 i 0,63 g mL⁻¹) su više u poređenju sa prijavljenim podacima (Rana et al., 2015), što se takođe može pripisati uslovima uklanjanja vode koji ne izazivaju skupljanje materijala ćelijskih zidova. Kapacitet bubrenja je 5,5 i 7,0 mL g⁻¹ za fino i krupno APF, dok je kod AP praha sa smanjenim sadržajem šećera bio 7,0 mL g⁻¹ (Sahni & Shere, 2017a). Vrednosti SWC zavise od količine nerastvornih vlakana.

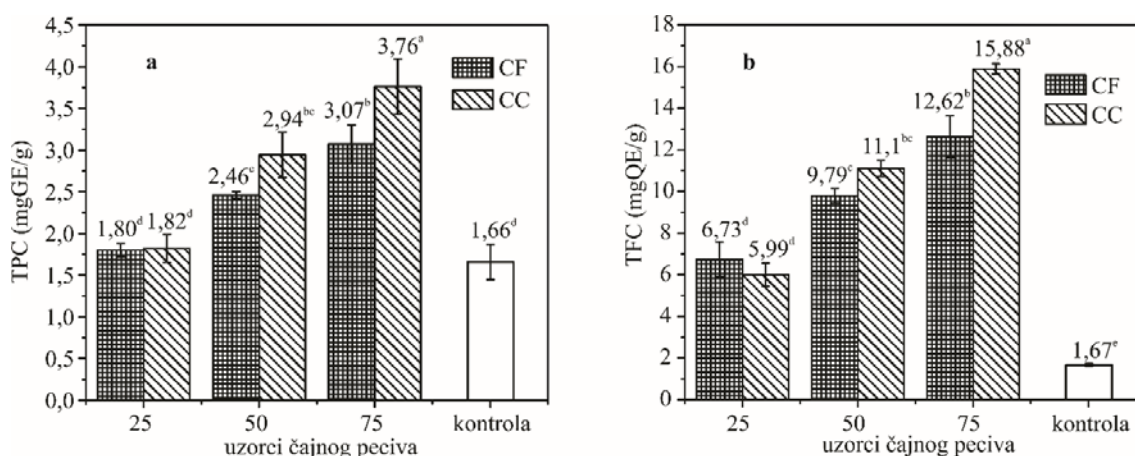
Vrednosti WHC, OHC, SWC i HD su niže za fino mleveno APF. Ovakav efekat veličine čestica na kapacitet hidratacije, apsorpciju masti i emulgujuća svojstva je zapažen ranije (Grover et al., 2003). Mlevenje može uticati na osobine hidratacije DV-a, jer povećanja površine uzrokuje bržu hidrataciju (Sangnark & Noomhorm, 2003). Međutim, tokom mlevenje može doći i do promene i kolapsa matrice vlakana koja zadržavaju vodu što za posledicu ima smanjenu sposobnost zadržavanja vode. I dehidratacija AP i mlevenje osušenog AP na fino i krupno APF očigledno je izvršeno bez uticaja na karakteristike hidratacije vlažnog AP.

Tehnološke osobine APF-a ukazuju na vrlo široku mogućnost njegove primene u prehrambenoj industriji. U ovom radu su APF-om obogaćeni konditorski proizvodi, jer su oni generalno siromašni dijetnim vlaknima i antioksidansima, a masovno se konzumiraju, što omogućava da se njihovim obogaćivanjem značajno utiče na povećanje unosa DV-a. Čajno pecivo je izabrano jer je trajni proizvod sa dugim rokom trajanja, pogodan za konzumiranje u komadu bez prethodne pripreme, više decenija prisutan na tržištu i dobro poznat i omiljen među potrošačima, naročito kod dece. U tom smislu, od značaja je takav proizvod obogatiti u pogledu funkcionalnih sastojaka, uz istovremeno smanjenje sadržaja glutena i postizanje prijatnog mirisa jabuke, odnosno poželjne voćne arome, što se upravo može postići obogaćivanjem APF-om.

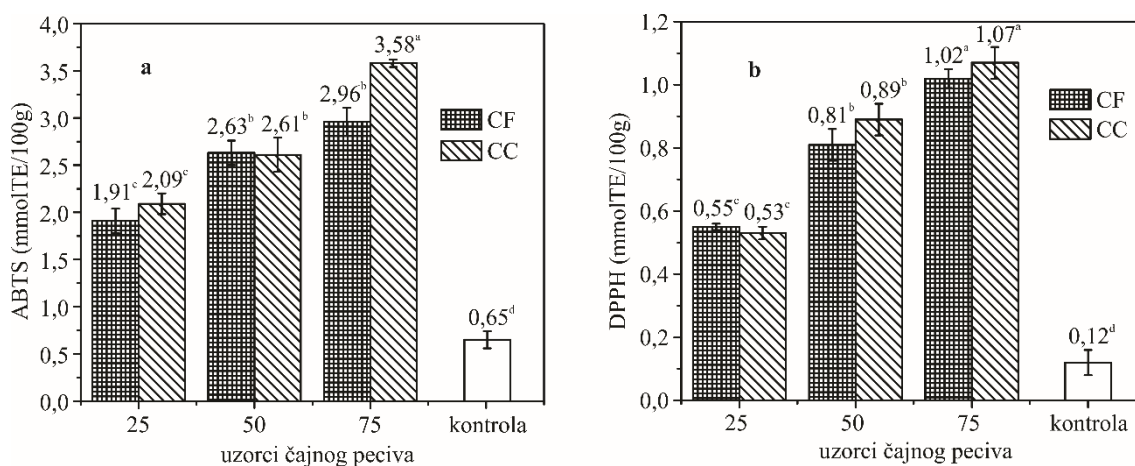
5.5 KARAKTERIZACIJA ČAJNOG PECIVA OBOGAĆENOG BRAŠNOM OD TROPA JABUKE

5.5.1 Sadržaj i aktivnosti polifenolnih jedinjenja čajnog peciva neposredno nakon proizvodnje

Da bi se dokazala primenljivost APF u obogaćivanju konditorskih proizvoda, napravljen je pokušaj da se dodaju veće količine ovog brašna standardnom čajnom pecivu koji postoji na srpskom tržištu, inkorporiranjem/dodavanjem do 75 % APF-a umesto pšeničnog brašna. Čajno pecivo je proizvedeno na industrijskom nivou malog obima, zamenjujući 25, 50 i 75 % mekog pšeničnog brašna sa finim i krupnim APF. Izračunato na osnovu sadržaja DV-a u APF (tabela 11) proizvedeno čajno pecivo u jednom komadu (~ 20 g) sadrži oko 2,4, 4,8 i 7,2 g DV. Funkcionalne karakteristike obogaćenog čajnog peciva određene su na osnovu povećanja sadržaja polifenolnih jedinjenja i flavonoida i antioksidativne aktivnosti. Porast AO aktivnosti keksa određene DPPH i ABTS testom dve nedelje nakon proizvodnje, kao i TPC i TFC, odgovarali su procentu dodatog APF-a. U odnosu na kontrolni uzorak TPC je bio 1,1; 1,8; 2,3 i 1,1; 1,5; 1,9 puta veći za čajno pecivo sa 25, 50, 75 % dodatka krupnog i finog APF, dok je TFC bio 3,6; 6,7; 9,5 i 4,0; 5,9; 7,6 puta veći (slika 21 a,b).



Slika 21. TPC (A) i TFC (B) čajnog peciva u zavisnosti od udela krupnog i finog APF (25, 50 i 75%), dve nedelje nakon proizvodnje (različita slova u superskriptu označavaju značajne razlike, prema Tuckey-vom HSD testu ($p < 0,05$))



Slika 22. AO aktivnosti čajnog peciva izmerena ABTS (a) i DPPH (b) testom u zavisnosti od udela krupnog i finog APF (25, 50 i 75 %), dve nedelje nakon proizvodnje (različita slova u superskriptu označavaju značajne razlike, prema Tuckey-vom HSD testu ($p < 0.05$))

AO aktivnost izmerena ABTS testom je povećana za 3,2; 4,0; 5,5 i 2,9; 4,0; 4,5 puta, dok je aktivnost merena DPPH testom povećana 4,4; 7,4; 8,9 i 4,6; 6,7; 8,5 puta za krupni i fini APF (slika 22 a,b).

Dobijeni rezultati pokazuju da zamena pšeničnog brašna sa APF značajno doprinosi povećanju AO aktivnosti kao i sadržaju polifenola i flavonoida. U isto vreme se svakako smanjuje sadržaj glutena. Treba napomenuti da su svi izmereni parametri veći za čajno pecivo sa krupnim brašnom. Veće čestice verovatno omogućavaju bolje očuvanje polifenola zbog njihove manje izloženosti uticaju okruženja. Dobijen funkcionalni proizvod pored povećanog sadržaja dijetnih vlakana, poseduje i visok sadržaj polifenola i flavonoida, odnosno snažnu AO aktivnost.

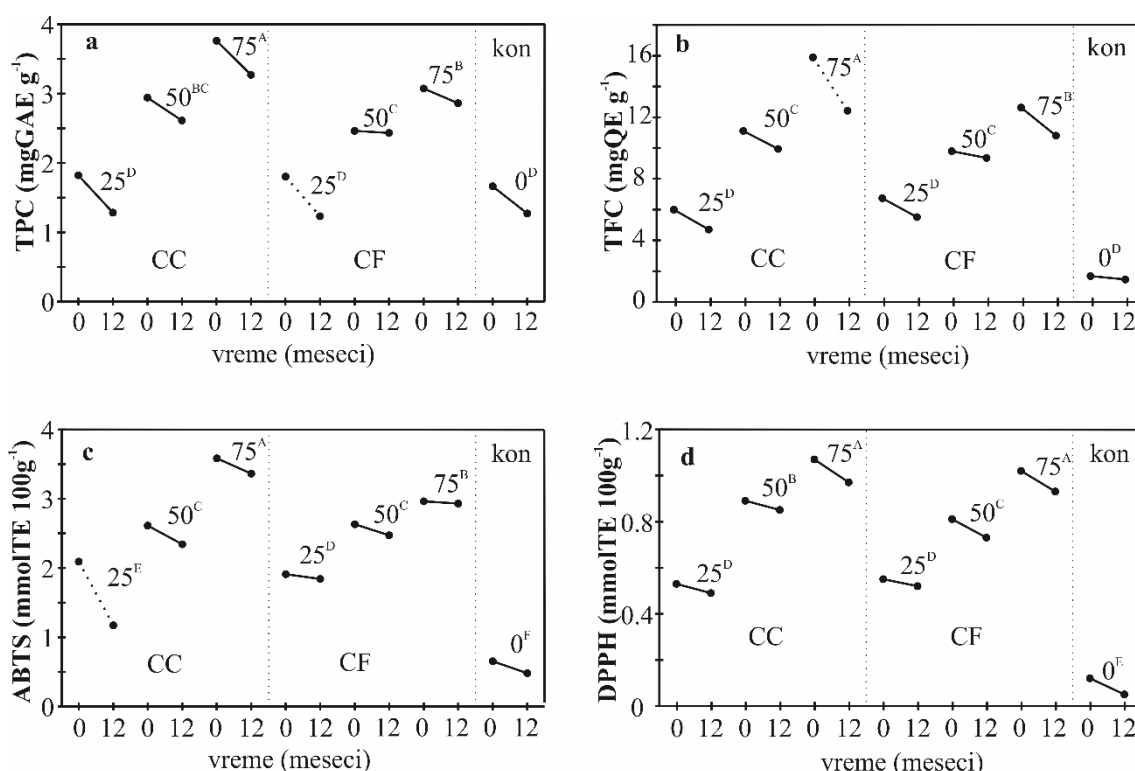
Prethodne studije koje su imale za cilj da utvrde efekat dodavanja sporednih proizvoda industrije prerade voća i povrća u konditorske i pekarske proizvode takođe su pokazale značajan porast aktivnosti AO (Ajila et al., 2008; Tańska et al., 2016). Značajno povećanje TPC i TFC sa povećanjem AP je prijavljeno zajedno sa povećanjem sposobnosti uklanjanja radikala (Mir et al., 2017). Za keks pripremljen sa AP utvrđeno je da imaju veći sadržaj DV i polifenola od kontrolnog proizvoda, dok su antioksidativna svojstva AP iskorišćena

kao prirodna zamena za sintetičke antioksidanse (Paraman et al., 2015; Sudha et al., 2011).

5.5.2 Sadržaj i aktivnosti polifenolnih jedinjenja čajnog peciva nakon skladištenja od godinu dana

Ispitivan je efekat skladištenja na nutritivna i senzorna svojstva čajnog peciva obogaćenog APF - om. Utvrđeno je da i nakon 12 meseci postoji značajna razlika između obogaćenog i standardnog čajnog peciva (kontrolni uzorak) u smislu sadržaja ukupnih polifenola i flavonoida i AO aktivnosti određene ABTS i DPPH testom.

Obogaćeno čajno pecivo i dalje ima mnogo više vrednosti od kontrolnog čajnog peciva. Smanjenje vrednosti TPC-a nakon skladištenja bilo je značajno samo kod CF25 ($p < 0,05$) a vrednosti TFC samo kod CC75 ($p < 0,05$) (slika 23).



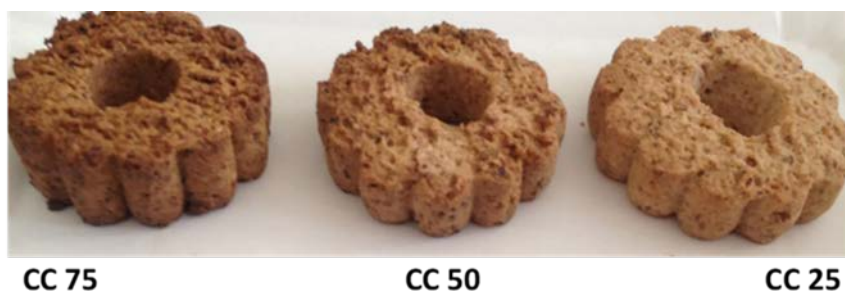
Slika 23. Promena TPC (a), TFC (b) i AO aktivnosti određene ABTS (c) i DPPH (d) testom u toku 12 meseci skladištenja čajnog peciva (CC-krupno, CF – fino) u odnosu udeo APF, * (Različita slova kao superscript ukazuju na značajne razlike prema Tukey's HSD test ($p < 0.05$), isprekidane linije ukazuju na naznačajan pad u vrednosti nakon 12 meseci ($p < 0.05$))

Vrednosti AO svih uzoraka su ostale nepromenjene nakon godinu dana (12 m). Izuzetak je jedino značajno smanjenje AO aktivnosti određene ABTS testom kod uzorka CC25 ($p < 0,05$). Može se zaključiti da je pad bio najmanji kod čajnog peciva sa 50 % udela APF-a. Smanjenje vrednosti za TFC, TPC, ABTS i DPPH kod CC50 (4,5; 1,2; 6,1; 9,9 %) i CF50 (10,5; 11,2; 10,3; 4,5 %) bilo je značajno manje nego u kontrolnom uzorku (12,6, 23,5, 26,2, 58,3 %).

5.6 SENZORNA OCENA ČAJNOG PECIVA SA DODATKOM BRAŠNA OD TROPA JABUKE

5.6.1 Senzorna analiza čajnog peciva nakon proizvodnje

Da bi se novi proizvodi pozicionirali na tržištu pored nutritivne vrednosti neophodno je da budu i senzorno prihvatljivi. Čajno pecivo sa 25, 50 i 75 % APF fine i krupne granulacije, proizvedeni u pogonu fabrike "Gold" iz Mladenovca, senzorno su ocenjeni dve nedelje nakon proizvodnje (0m), (slika 24 i 25).



Slika 24. Izgled čajnog peciva sa različitim udelom APF-a (75, 50 i 25 %) krupne granulacije u odnosu na pšeninično brašno

Rezultati ocene spoljnjeg izgleda, teksture i arome pojedinačno, kao i ukupna ocena prikazani su u tabeli 22. Iz dobijenih rezultata može se videti da je u smislu ukupnog senzornog kvaliteta najbolje ocenjeno čajno pecivo CC25 koje je ocenjeno najvišim ocenama za sva testirana svojstva. Odlikuje ga tipični izgled, odgovarajuća tekstura, s obzirom na sastav, i izražena aroma. U kategoriji „odličnog kvaliteta“ se nalazi i CC50, dok su svi ostali uzorci imali „vrlo dobar kvalitet“, uključujući i kontrolni. Zbog prisustva nedovoljno pečenog sloja u sredini čajnog peciva i nedostatka hrskavosti, uzorak CC75 je dobio najniže ocene.

Tabela 22. Rezultati senzornog ocenjivanja čajnog peciva sa različitim udelima (25, 50, 75 %) finog i krupnog brašna od tropa jabuke, dve nedelje nakon proizvodnje

	<i>izgled</i>	<i>tekstura</i>		<i>aroma</i>		<i>Ukupna ocena</i>
		<i>struktura</i>	<i>žvkljivost</i>	<i>miris</i>	<i>ukus</i>	
<i>O-kontrola</i>	4,81 ± 0,12 ^a	4,44 ± 0,12 ^{ab}	4,16 ± 0,23 ^{bcd}	4,66 ± 0,44 ^{abc}	4,34 ± 0,13 ^{abc}	4,46 ± 0,10 ^b
<i>O-CF25</i>	4,06 ± 0,12 ^{cd}	3,94 ± 0,18 ^{cde}	4,06 ± 0,12 ^{cd}	4,12 ± 0,23 ^{cd}	4,25 ± 0,19 ^{bc}	4,10 ± 0,08 ^{cd}
<i>O-CF50</i>	3,84 ± 0,13 ^{cde}	3,81 ± 0,26 ^{de}	3,75 ± 0,33 ^{def}	4,19 ± 0,22 ^{cd}	4,06 ± 0,12 ^{cd}	3,94 ± 0,10 ^{de}
<i>O-CF75</i>	3,59 ± 0,13 ^{ef}	3,50 ± 0,23 ^{ef}	3,34 ± 0,13 ^{ef}	4,44 ± 0,32 ^{abcd}	3,63 ± 0,44 ^{de}	3,70 ± 0,21 ^{ef}
<i>O-CC25</i>	4,59 ± 0,33 ^{ab}	4,75 ± 0,00 ^a	4,75 ± 0,35 ^a	4,84 ± 0,13 ^a	4,84 ± 0,19 ^a	4,77 ± 0,11 ^a
<i>O-CC50</i>	4,06 ± 0,18 ^{cd}	4,66 ± 0,13 ^a	4,50 ± 0,33 ^{abc}	4,81 ± 0,12 ^a	4,75 ± 0,19 ^{ab}	4,59 ± 0,11 ^{ab}
<i>O-CC75</i>	3,66 ± 0,30 ^{def}	3,94 ± 0,18 ^{cde}	3,84 ± 0,19 ^{de}	4,75 ± 0,19 ^{ab}	4,13 ± 0,40 ^{cd}	4,09 ± 0,14 ^d

* Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± SD, različita slova kao superscript unutar iste kolone ukazuju na značajne razlike, prema Tukey's HSD test (p<0.05).

Pekarski i konditorski proizvodi sa različitim udelom AP su ocenjivani senzorno od strane panela, a sprovedeni su i testovi prihvatanja od strane potrošača. Dodatkom tropa jabuke je postignuta prijatna voćna aroma kod proizvoda s udelom AP do 20% i dobro prihvatanje od strane potrošača (Kohajdová et al., 2011; Sudha et al., 2007). Ocene za senzorna svojstva su se uglavnom smanjivale sa daljim povećanjem udela AP. Prijavljena je manja ili umerena prihvatljivost keksa sa 30, 40 i 50 % AP (Carson et al., 1994; Saeed et al., 2015).

**Slika 25.** Izgled čajnog peciva sa različitim udelom (75, 50 i 25 %) APF-a fine granulacije u odnosu na pšeninično brašno

Dok je fina granulacija imala bolje rezultate od krupne granulacije AP u odnosu na izradu keksa (Sudha et al., 2011), naše istraživanje je pokazalo da čajno pecivo koje sadrži krupni APF poseduje bolja senzorna svojstva pored visoke nutritivne vrednosti.

5.6.2 Senzorna analiza čajnog peciva nakon skladištenja od godinu dana

Kad su u pitanju senzorna svojstva nakon jedne godine (12m) skladištenja uočen je blagi pad ocena, ali su se svi uzorci zadržali u početnoj kategoriji kvaliteta. Smanjenje ukupne ocene je izazvano očekivanim promenama u čajnom pecivu tokom dugog skladištenja, kao što su promene boje ili gubitak mirisa i hrskavosti, a ne dodavanjem APF-a (tabela 23).

Veći ukupni senzorni kvalitet uzoraka CC25 i CC50 u odnosu na kontrolni uzorak u oba perioda testiranja potvrđuje opravdanost izbora udela od 25 do 50 % APF u proizvodnji ove vrste funkcionalnog čajnog peciva i ukazuje na dobre izgledne proizvoda kod ciljne grupe potrošača. U prethodnim studijama je pokazano da je AP prah imao pozitivan uticaj na senzorne osobine keksa tokom skladištenja. Pokazano je da su keksi sa 10 % AP zadržali bolje senzorne osobine i imali veću stabilnost prilikom skladištenja u poređenju sa kontrolnim keksom.

Rezultati prikazani u našoj studiji podržavaju pretpostavku drugih autora da su proizvodi obogaćeni AP-om dovoljno stabilni da se mogu relativno jednostavno upakovati (Sahni & Shere, 2017b).

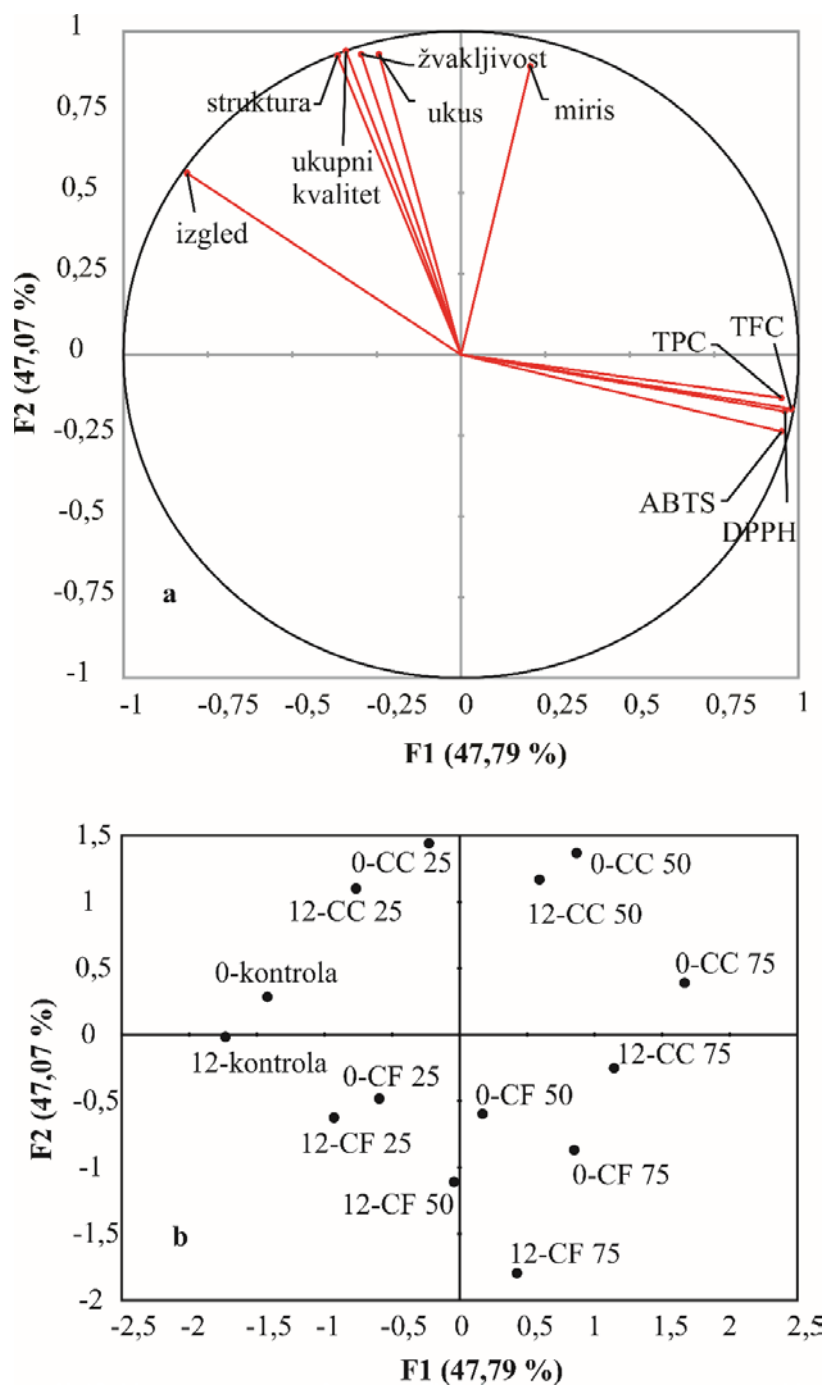
Tabela 23. Senzorne ocene čajnog peciva sa različitim udelima (25, 50, 75 %) finog i krupnog brašna od tropa jabuka nakon 12 meseci skladištenja

	izgled	tekstura		aroma		Ukupni kvalitet
		struktura	žvakljivost	miris	ukus	
12-kontrola	4,81 ± 0,12 ^a	4,41 ± 0,30 ^{abc}	4,13 ± 0,23 ^{bcd}	4,50 ± 0,40 ^{abcd}	4,25 ± 0,30 ^{bc}	4,39 ± 0,18 ^{bc}
12-CF25	4,22 ± 0,21 ^{bc}	4,03 ± 0,36 ^{bcd}	3,94 ± 0,12 ^{cd}	4,13 ± 0,27 ^{cd}	4,13 ± 0,13 ^{cd}	4,08 ± 0,12 ^d
12-CF50	3,91 ± 0,19 ^{cde}	3,72 ± 0,41 ^{de}	3,34 ± 0,27 ^{ef}	4,22 ± 0,21 ^{bcd}	3,63 ± 0,30 ^{de}	3,75 ± 0,18 ^e
12-CF75	3,34 ± 0,30 ^f	3,22 ± 0,39 ^f	3,19 ± 0,32 ^f	4,06 ± 0,44 ^d	3,25 ± 0,52 ^e	3,41 ± 0,26 ^f
12-CC25	4,66 ± 0,30 ^a	4,75 ± 0,19 ^a	4,66 ± 0,44 ^{ab}	4,81 ± 0,22 ^a	4,59 ± 0,30 ^{abc}	4,69 ± 0,10 ^{ab}
12-CC50	4,09 ± 0,13 ^c	4,50 ± 0,19 ^{ab}	4,44 ± 0,55 ^{abc}	4,81 ± 0,22 ^a	4,72 ± 0,25 ^{ab}	4,54 ± 0,17 ^{ab}
12-CC75	3,50 ± 0,19 ^{ef}	3,81 ± 0,26 ^{de}	3,72 ± 0,21 ^{def}	4,66 ± 0,13 ^{abc}	3,69 ± 0,12 ^{de}	3,88 ± 0,13 ^{de}

* Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± SD, različita slova kao superscript unutar iste kolone ukazuju na značajne razlike, prema Tukey's HSD test ($p < 0.05$).

Najmanje promene senzornih i nutritivnih svojstava nakon skladištenja su bile kod uzorka CC50 čajnog peciva sa 50 % krupnog brašna APF koji je u skladu sa tim izabran kao optimalan za dalju industrijsku proizvodnju.

Čajna peciva koje sadrži krupni APF pokazala su bolja senzorna i antioksidativna svojstva nego čajna peciva sa finim APF, kako na početku tako i na kraju perioda skladištenja. Iako je uzorak CC25 dobio najbolje ocene odmah nakon proizvodnje, smanjenje aktivnosti AO i sadržaja polifenola tokom skladištenja bilo je najniže u uzorku CC50. Čajno pecivo CC50 je bolje ocenjeno na osnovu sadržaja polifenolnih jedinjenja i očuvanja antioksidativne aktivnosti tokom skladištenja nego uzorak CC25 i stoga izabrano da bude testirano u pogledu prihvatljivosti od strane potrošača.



Slika 26. Analiza glavnih komponenti (PCA) praćena Varimaks rotacijom uzoraka (F1 vs F2 ravni): (a) korelacioni krug varijabli; (b) uzorci u faktorskoj ravni, (uzorci nakon proizvodnje - prefiks "0-" i nakon 12 meseci - prefiks "12-")

U cilju postizanja sveobuhvatnijeg poređenja između proizvedenog čajnog peciva i dobijanja što je moguće pouzdanije preporuke koji udeo APF-a je najoptimalniji za obogaćivanje čajnog peciva, rezultati antioksidativnih svojstava i senzornih

karakteristika podvrgnuti su multivarijantnoj analizi pomoću Analize glavnih komponenti, koja je praćena Varimax rotacijom. Razmatrane su sledeće varijable: TPC, TFC, ABTS, DPPH, izgled, struktura, žvkljivost, miris, ukus i ukupni kvalitet. Rezultati su pokazali da prve dve glavne komponente (F1 i F2) objašnjavaju 94,86 % ukupne varijanse početnih podataka (F1 objašnjava 47,79 %, a F2 47,07 %) (slika 26). Projekcija inicijalnih varijabli u ravni F1 prema F2 prikazana je na slici 26a. Može se videti da F1 visoko korelira sa varijablama koje su povezane sa sadržajem ukupnih polifenola (TPC) i flavonoida (TFC) i antioksidativnim testovima (ABTS i DPPH). U slučaju F2, najvažnije varijable povezane su sa senzornom percepcijom: struktura, žvkljivost, miris, ukus i ukupni kvalitet. Dakle, dve prve komponente se mogu interpretirati na sledeći način: F1 - antioksidativna svojstva i F2 - senzorna svojstva uzoraka.

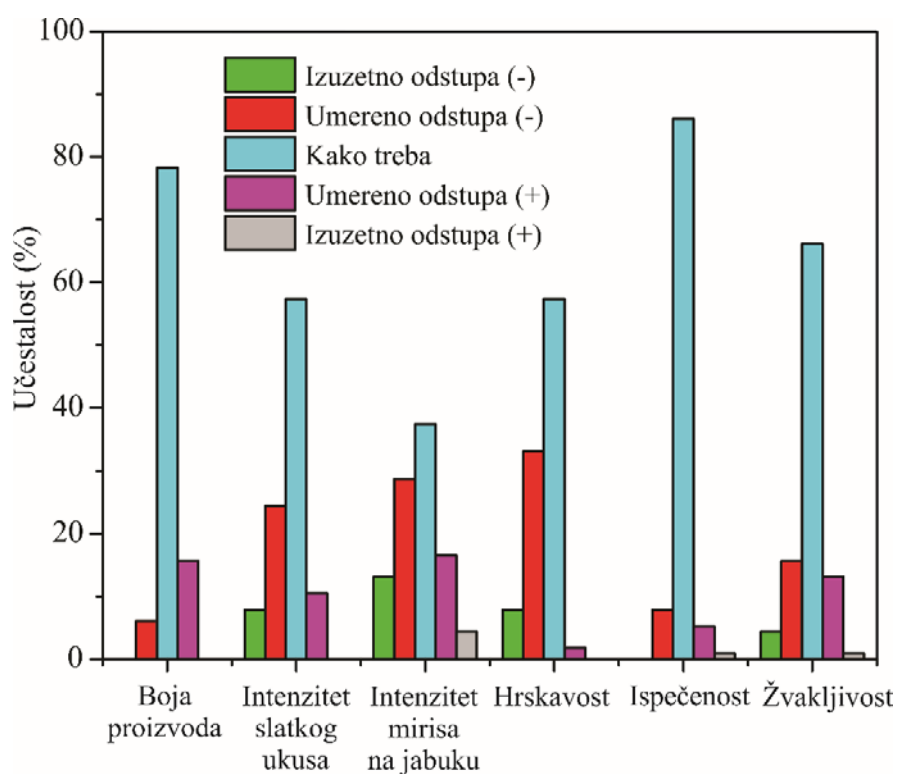
Uzorci nakon proizvodnje (prefiks "0-") i posle 12 meseci (prefiks "12-") u ravni F1 prema F2 prikazani su na slici 26b. Uzorci koji su blizu jedan drugog imaju slične ukupne ispitivane osobine, a uzorci koji su udaljeni su veoma različiti. Da bi se ispitaio uticaj vremena skladištenja na promenu antioksidativnih i senzornih karakteristika uzoraka, posmatra se rastojanje između tačaka koje predstavljaju uzorak na početku i posle 12 meseci. Veća udaljenost pokazuje da je došlo do intenzivnijih promena u analiziranim karakteristikama uzorka sa vremenom. Može se videti da se uzorci CC50 i CF25 najmanje menjaju sa vremenom u smislu antioksidativnih i senzornih svojstava. Rezultati PCA analize potvrđuju nedvosmisleno bolje karakteristike krupnog APF u formulacijama čajnog peciva. U skladu sa uvidom koji omogućava PCA, uzorak CC50 je odabran za dalju proizvodnju i za testiranje prihvatljivosti od strane potrošača hedonskim testom.

5.6.3 Rezultati ispitivanja prihvatljivosti od strane potrošača

Rezultati ispitivanja ukupne prihvatljivosti uzoraka čajnog peciva sa APF-om u okviru metode skaliranja su pokazali da su potrošači (N = 115) na sličan način ocenili ukupnu prihvatljivost, prihvatljivost teksture i ukusa proizvoda i dali srednju ocenu $6,2 \pm 1,8$, dok su miris ocenili srednjom ocenom $5,1 \pm 2,2$. U literaturi su retki navodi za testiranja proizvoda od strane potrošača sa dodatkom AP. Rezultati hedonske analize za keks sa 30, 40 i 50 % AP (Carson et al., 1994) su imali slične ocene bez uočljivih razlika. Svi su

imali niže ocene u poređenju sa čajnim pecivom proizvedenim i testiranim u okviru ove studije. Prosečna ocena za izgled bila je $3,1 \pm 1,1$; aromu, $3,0 \pm 1,0$, teksturu, $3,1 \pm 1,1$ i ukupnu prihvatljivost, $3,0 \pm 1,0$ (upotrebljena je hedonska skala od 8 tačaka 1 = kao ekstremno mi se sviđa i 8 = ekstremno mi se ne sviđa) (Carson et al., 1994).

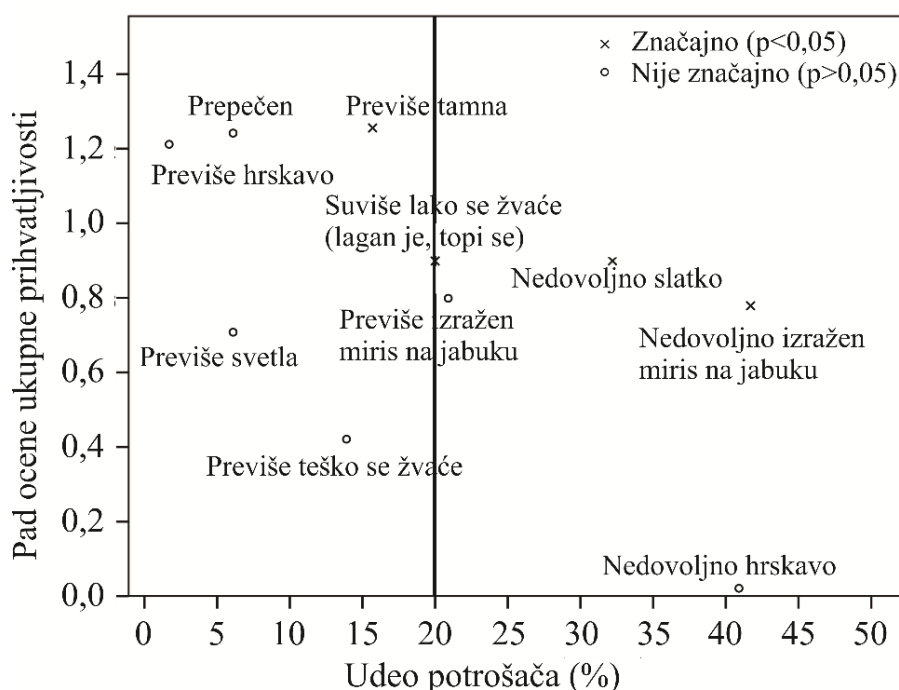
Na slici 27, prikazane su distribucije frekvencija ocena ispitivanih potrošača JAR skalom. Može se uočiti da je veliki udeo potrošača smatra da su ispitivana svojstva onakva kakva treba da budu. Najniže ocene su date za intenzitet mirisa na jabuku, 13 % potrošača je dalo ocenu da izuzetno, a 28,7 % da umereno odstupa.



Slika 27. Dijagram distribucije frekvencija ocena potrošača dobijenih primenom skale “upravo onako kako treba da bude”, (čajno pecivo sa 50% krupnog APF; N=115 testiranih lica)

Podaci dobijeni primenom skale “upravo onako kako treba da bude”- JAR, iskorišćeni su za analizu pada srednje vrednosti ocene ukupne prihvatljivosti proizvoda (eng. mean drop analysis). Rezultati analize pada srednje vrednosti za uzorak CC50 prikazani su na slici 28. Tačka na grafiku koja pokazuje statistički značajan pad srednje vrednosti i procenat potrošača iznad granične tačke je razlog za razmišljanje i sugeriše da proizvod

treba da se modifikuje u odgovarajućem pravcu (Lawless et al., 2010). Sve grupe koje su brojale više ili jednako 20 % od ukupnog broja testiranih potrošača smatrane su značajnim. Za ispitivani proizvod identifikovane su dve velike grupe potrošača ($\geq 20\%$) sa značajnim padom srednje vrednosti ($p < 0.05$). Jedna grupa je smatrala da proizvod nije "dovoljno sladak" (32,2 % ispitanika), a jedna da proizvod ima "slab miris jabuka" (41,7 %). Prosečni hedonski rezultati su bili $4,3 \pm 1,9$ za „prihvatanje mirisa“ i $5,9 \pm 1,5$ za „ukupno prihvatanje“, što je više ili manje u opsegu kategorije „niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa“. Miris jabuka koji treba da izdvaja ovaj proizvod od drugih mogao bi se pojačati izborom sorti jabuka koje će se koristiti u proizvodnji ove vrste čajnog peciva.



Slika 28. Analiza pada srednjih vrednosti za čajno pecivo sa 50 % krupnog APF (N = 115 ispitanika)

Gledajući ukupan broj ispitanika, „ukupna prihvatljivost“, „prihvatljivost teksture“ i „prihvatljivost ukusa“ su bodovane prosečnim ocenama na hedonskoj skali iznad 6 ($6,2 \pm 1,8$), što ukazuje da se proizvod dopao ispitivanim potrošačima.

5.7 MOGUĆNOSTI KOMERCIJALIZACIJE BRAŠNA OD TROPA JABUKE

Rezultati koji su dobijeni u okviru ove disertacije ukazuju da bi dobijeno brašno od tropa jabuke moglo imati značajan potencijal kao prehrambeni proizvod i dijetetski preparat.

Sredstva za zaštitu prava intelektualne svojine (podneta je međunarodna patentna prijava broj prijave - PCT/RS2019/000019), razvoj i komercijalizaciju su obezbeđena kroz realizaciju projekta „Tehnološki postupak za industrijsko dobijanje višenamenskog bezglutenskog brašna od tropa jabuke sa visokim sadržajem dijetnih vlakana, antioksidativnim i antidijabetogenim dejstvom“, broj 1076, u okviru Programa TTF Fonda za inovacionu delatnost. Projekat je u toku i biće realizovan do kraja 2019. godine. Osnova za konkurisanje i dobijanje projekta je proistekla iz rezultata dobijenih tokom izrade disertacije.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovu prikazanih rezultata u ovom istraživanju mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Trop od jabuke koji se sastoji od pokožice, peteljke, koštica i nešto pulpe mešanih i pojedinačnih sorti organski i konvencionalno gajenih jabuka je neposredno nakon industrijske proizvodnje soka presovanjem, osušen na industrijskom nivou, primenom prilagođenog postupka dehidratacije. Na temperaturi koja ne prelazi 55 °C, za 4 do 6 sati, sadržaj vlage je sa ~ 75 % snižen na 4 - 8 %;
2. Nizak sadržaj vlage i aktivnost vode (0,2 - 0,4) dehidririsanog tropa omogućavaju mlevenje kojim se dobija stabilno i trajno bezglutensko brašno (APF) izraženog ukusa i mirisa na jabuku, koje nije higroskopno i ne zgrudvava se tokom stajanja.
3. Zdravstvena, hemijska i mikrobiološka ispravnost APF kao i test akutne oralne toksičnosti (*in vivo*) su potvrdili bezbednost njegove upotrebe, kako u prehrambenoj industriji tako i kao dijetetskog preparata;
4. Brašno tropa jabuke karakteriše visok sadržaj DV (prosečna vrednost je ~ 40 g u 100 g). Uzorci APF i AE se ne razlikuju statistički značajno u odnosu na sadržaj DV i ugljenih hidrata. Brašno tropa jabuke sadrži značajne količine rastvornih vlakana, pre svega pektina. Prisustvo lignoceluloznih vlakana (celuloza, hemiceluloza i lignin) u APF uzorcima potvrđuju FT-IR spektri. Sadržaj DV je mnogostruko viši nego u pšeničnom i brašnu najčešće korišćenih žita bez glutena kao što su kukuruzno, ovseno, prinčano i heljdino;
5. U mineralnom profilu brašna od tropa jabuke od makroelemenata dominira kalijum, a od mikroelemenata bakar. Sadržaj kalijuma (4228 - 6395 mg kg⁻¹) je mnogostruko viši nego u pšeničnom i najčešće korišćenom brašnu žita bez glutena;
6. Sadržaj proteina u APF je u rasponu od 3,2 - 5,8 g /100 g s.m., a sadržaj masti 1,0 - 2,7 g /100 g s.m.;
7. Sadržaj TPC u uzorcima APF-a je u opsegu od 4,6 ± 0,2 do 8,1 ± 0,3 mg GAE g⁻¹. Prema ANOVA uzorci se mogu grupisati u dve grupe, prvu sa većim sadržajem TPC i drugu u kojoj su uzorci APF sa nižim sadržajem i AE. Sadržaj flavonoida je u svim uzorcima

- APF značajno viši od AE. Sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja i flavonoida je mnogostruko viši nego u pšeničnom i brašnu najčešće korišćenih žita bez glutena;
8. Antioksidativna aktivnost APF-a određena standardnim spektrofotometrijskim metodama (DPPH, ABTS) i elektrohemijom (HPMC) je visoka. Na osnovu sve tri metode uzorci se mogu grupisati u dve grupe, grupu sa vrlo visokom AO aktivnošću i grupu sa nešto nižom aktivnošću u koju spada i AE. U pogledu AO aktivnosti brašno tropa jabuke daleko prevazilazi uobičajeno korišćeno brašno od cerealija i pseudocerealija;
 9. HPLC-DAD-MS/MS tehnikom je u APF identifikovano i kvantifikovano 31 polifenolno jedinjenje. Zastupljeni su dihidrokalkoni (floretilin i florizilin), a slede flavonoli i flavonolni glikozidi (kvercetin, kvercetin-3-O-ramnozid, kvercetin-3-O-galaktozid, rutin, izoramnetin, izoramnetin-3-O-rutinozid, kaemferol i kaemferol-7-glukozid), cimetne (kafeinska, p-kumarinska, ferulinska, sinapinska i hlorogena) i hidroksibenzojeve kiseline (galna, protokatehinska, elaginska i p-hidroksibenzojeva). Udeo pomenutih grupa jedinjenja u ukupnom sadržaju polifenola iznosi približno 98 % kod svih uzoraka. Sadržaju dihidrokalkona najviše doprinosi florizilin a sadržaju hidroksicimetnih kiselina hlorogena kiselina;
 10. HPLC-DAD-MS/MS tehnikom nađeno je da najviši sadržaj ukupnih polifenola ima brašno od tropa organski gajenih jabuka, što bi se moglo povezati sa njegovom termalnom stabilnošću;
 11. Koeficijenti korelacije između sadržaja polifenolnih jedinjenja (TPC i TFC) dobijenih standardnim metodama i HPLC-om, kao i *in vitro* antioksidativnog kapaciteta merenog pomoću DPPH, ABTS i HPMC su visoki, što potvrđuje da su polifenolna jedinjenja nosioci antioksidativne aktivnosti. Visoki koeficijenti korelacije između sadržaja najzastupljenijih polifenolnih jedinjenja florizilina i hlorogene kiseline, potvrđuju njihov doprinos ukupnoj AO aktivnosti;
 12. Temperatura staklastog prelaza (T_g) (28 - 38 °C) svih uzoraka APF je iznad uobičajene temperature skladištenja prehrambenih proizvoda ovog tipa, što obezbeđuje njihovu produženu stabilnost;

13. Kinetički parametri procesa termalne razgradnje, energija aktivacije (E) (82 do 115 KJ mol⁻¹), preeksponecijalni faktor (lnA) (24 do 19) i konstanta brzine termalne razgradnje pri temperaturi 200 °C (k₂₀₀) (0,14 do 0,27) daju uvid u ponašanje APF na povišenim temperaturama i potvrđuju stabilnost na temperaturi pečenja koja omogućava primenu u konditorskoj i pekarskoj industriji. Grupisanje uzoraka prema k₂₀₀ pokazuje da je brašno od tropa organski gajene jabuke termalno najstabilnije;
14. Prisustvo APF-a u dijeti baziranoj na masnoj hrani sprečeva pojavu hiperglikemije i hiperlipidemije. Rezultati *in vivo* studije nedvosmisleno potvrđuju antidiabetogeni i antilipemični efekat APF-a i ukazuju na opravdanost njegove primene kao dijetetskog preparata i komponente funkcionalne hrane. Na osnovu njih je određena optimalna dnevna doza APF-a (10-30 g) čijim bi se redovnim konzumiranjem regulisao metabolizam ugljenih hidrata i masti;
15. APF ima viši kapacitet vezivanja vode i ulja u odnosu na pšenično i uobičajeno korišćeno brašno od žita bez glutena, poput pirinčanog. Tehno-funkcionalne karakteristike brašna od tropa jabuke ukazuju na njegovu široku primenljivost u prehrambenoj industriji, dok odsustvo glutena omogućava specifičnu primenu u proizvodnji bezglutenske hrane;
16. Sastav, antioksidativna aktivnost i *in vivo* efekat APF-a, kao i tehno-funkcionalna svojstva dokazuju da tokom primenjenog procesa dehidratacije nije došlo do denaturacije biološki aktivnih molekula prisutnih u svežem tropu jabuke, tj. da su bioaktivni molekuli jabuke zadržali svoju strukturu i funkciju;
17. Brašno tropa jabuke, fine (< 300 μm) i krupne (< 1 %mm) granulacije, je u industrijskim uslovima uspešno upotrebljeno kao zamena za veliki udeo pšeničnog brašna (do 75 %) čime je standardni konditorski proizvod (čajno pecivo), inače siromašan dijetnim vlaknima i antioksidansima, značajno obogaćen;
18. Senzornom analizom je utvrđeno da je prihvatljivo zameniti do 50 % pšeničnog brašna APF-om krupnije granulacije. Čajno pecivo sa do 50 % APF-a krupnije granulacije je imalo značajno poboljšana senzorna svojstva (ukus i miris jabuke, prhkost) i produženu stabilnost u odnosu na kontrolni uzorak tj. komercijalno dostupno čajno pecivo. Naime, tokom skladištenja od 12 meseci ukupni sadržaj

polifenolnih supstanci i flavonoida se nije značajno promenio, dok je antioksidativna aktivnost ostala na približno istom nivou;

19. Čajno pecivo sa 50 % brašna od tropa jabuke ima visok sadržaj DV (~20 g DV u 100 grama), što ga svrstava u kategoriju funkcionalnih proizvoda, kao i dvostruko viši sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja, skoro sedam puta viši sadržaj flavonoida i četiri, odnosno sedam puta višu AO aktivnost određenu ABTS i DPPH testom u odnosu na standardno čajno pecivo proizvedeno bez dodatka APF.
20. Testom prihvatljivosti od strane potrošača u kome je učestvovalo 115 ispitanika, „ukupna prihvatljivost“, „prihvatljivost teksture“ i „prihvatljivost ukusa“ su bodovani prosečnim ocenama iznad 6 (6.2 ± 1.8), što ukazuje da se čajno pecivo sa 50 % APF dopada ispitivanim potrošačima.

Navedeni zaključci predstavljaju nedvosmisleni potvrdu da prisustvo biološki aktivnih komponenata, pre svega DV i polifenolnih jedinjenja kao nosilaca AO aktivnosti, kao i termalna tehno-funkcionalna i senzorna svojstva brašna tropa jabuke, koje je prilagođenim tehnološkim postupkom dobijeno u okviru ove doktorske disertacije, omogućavaju njegovu primenu u obogaćivanju postojećih i kreiranju novih, kako standardnih tako i bezglutenskih funkcionalnih proizvoda, čijim bi se konzumiranjem nadoknadio nedostatak dijetnih vlakana i antioksidanasa u modernoj ishrani a pre svega u bezglutenskoj dijeti. Uticaj brašna na metabolizam omogućava njegovu upotrebu kao dijetetskog preparata namenjenog prevenciji pojave metaboličkih poremećaja, pre svega dijabetesa i arterioskleroze, a posledično i kardiovaskularnih bolesti.

7. LITERATURA

- Abuajah, C. I., Ogbonna, A. C., & Osuji, C. M. (2015). Functional components and medicinal properties of food: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 2522–2529.
- Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldívar, S. O., Gutierrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152, 46–55.
- Adhikari, B., Howes, T., Bhandari, B. R., & Truong, V. (2001). Stickiness in foods: A review of mechanisms and test methods. *International Journal of Food Properties*, 4(1), 1–33.
- Agostoni, C., Bresson, J.-L., Fairweather-Tait, S., Flynn, A., Golly, I., Korhonen, H., ... Verhagen, H. (2010). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, 8(3), 1462.
- Aguilera, J. M., Levi, G., & Karel, M. (1993). Effect of water content on the glass transition and caking of fish protein hydrolyzates. *Biotechnology Progress*, 9(6), 651–654.
- Ajila, C. M., Gassara, F., Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., & Valero, J. R. (2012). Polyphenolic Antioxidant Mobilization in Apple Pomace by Different Methods of Solid-State Fermentation and Evaluation of Its Antioxidant Activity. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7), 2697–2707.
- Ajila, C. M., Leelavathi, K., & Prasada Rao, U. J. S. (2008). Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder. *Journal of Cereal Science*, 48(2), 319–326.
- Alan Imeson. (2010). *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents* (first; Alan Imeson, Ed.). Wiley-Blackwell.
- Almeida, E. A. M. S., Facchi, S. P., Martins, A. F., Nocchi, S., Schuquel, I. T. A., Nakamura, C. V., ... Muniz, E. C. (2015). Synthesis and characterization of pectin derivative with antitumor property against Caco-2 colon cancer cells. *Carbohydrate Polymers*, 115, 139–145.
- Alongi, M., Melchior, S., & Anese, M. (2019). Reducing the glycemic index of short dough biscuits by using apple pomace as a functional ingredient. *LWT*, 100, 300–305.
- Alonso-Salces, R. M., Ndjoko, K., Queiroz, E. F., Ioset, J. R., Hostettmann, K., Berrueta, L. A., ... Vicente, F. (2004). On-line characterisation of apple polyphenols by liquid chromatography coupled with mass spectrometry and ultraviolet absorbance detection. *Journal of Chromatography. A*, 1046(1–2), 89–100.

- AOAC. (2000). Official methods of analysis of AOAC. International 17th edition; Gaithersburg, MD, USA Association of Analytical Communities. AOAC.
- Apples, Fresh: World Markets and Trade. (2018). Retrieved from United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service website: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/fruit.pdf>
- Athmaselvi, K. A., Kumar, C., Balasubramanian, M., & Roy, I. (2014). Thermal, Structural, and Physical Properties of Freeze Dried Tropical Fruit Powder. *Journal of Food Processing, 2014*, 1–10.
- Balasubramanian, S., Devi, A., Singh, K. K., Bosco, S. J. D., & Mohite, A. M. (2016). Application of Glass Transition in Food Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 56, pp. 919–936.
- Baldinelli, A., Dou, X., Buchholz, D., Marinaro, M., Passerini, S., & Barelli, L. (2018). Addressing the energy sustainability of biowaste-derived hard carbon materials for battery electrodes. *Green Chemistry, 20(7)*, 1527–1537.
- Barclay, G. F. (2015). Anatomy and Morphology of Seed Plants. In: *ELS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester*.
- Bates, R. P., Morris, J. R., & Crandall, P. G. (2001). Principle and practises small and mediun scale fruit juice processing. In P. G. C. R.P. Bates, J.R. Morris (Ed.), *Principle and practises small and mediun scale fruit juice processing*. Rome: FAO.
- Bell, J. (1920). *The Utilization of Apple Pomace*. Oregon Agricultural college.
- Belorio, M., Sahagún, M., Gómez, M., Belorio, M., Sahagún, M., & Gómez, M. (2019). Influence of Flour Particle Size Distribution on the Quality of Maize Gluten-Free Cookies. *Foods, 8(2)*, 83.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). *The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “ Antioxidant Power ”: The FRAP Assay. 76, 70–76.*
- Bhandari, B. R., & Howes, T. (1999). Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *Journal of Food Engineering, 40(1)*, 71–79.
- Bhandari, B., & Roos, Y. H. (2017). Non-Equilibrium States and Glass Transitions in Foods. In Bhandari B. H. & Roos Yrjo. (Eds.), *Non - Equilibrium States and Glass Transition in Foods*. Woodhead Publishing.
- Bhushan, S., Kalia, K., Sharma, M., Singh, B., Ahuja, P. S., Reviews, C., ... Te, H. B. (2008). Processing of apple pomace for bioactive molecules. *Critical Reviews in Biotechnology, 28(4)*, 285–296.

- Bobek, P., Ozdin, L., & Hromadova, M. (1998). The effect of dried tomato, grape and apple pomace on the cholesterol metabolism and antioxidative enzymatic system in rats with hypercholesterolemia. *Nahrung*, 42(5), 317–320.
- Bolarinwa, I. F., Orfila, C., & Morgan, M. R. A. (2015). Determination of amygdalin in apple seeds, fresh apples and processed apple juices. *Food Chemistry*, 170, 437–442.
- Bondonno, N. P., Bondonno, C. P., Ward, N. C., Hodgson, J. M., & Croft, K. D. (2017). The cardiovascular health benefits of apples: Whole fruit vs. isolated compounds. *Trends in Food Science and Technology*, 69, 243–256.
- Boyer, J., & Liu, R. H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3(1), 1–15.
- Brijwani, K., Oberoi, H. S., & Vadlani, P. V. (2010). Production of a cellulolytic enzyme system in mixed-culture solid-state fermentation of soybean hulls supplemented with wheat bran. *Process Biochemistry*, 45(1), 120–128.
- Bushuk, W., & Békés, F. (2002). Contribution of Protein to Flour Quality. In R. Salgo, A., Tomoskozi, S. and Lasztity (Ed.), *Novel Raw Materials, Technologies and Products- New Challenge for the Quality Control* (pp. 14–19). Budapest: International Association for Cereal Science and Technology (ICC).
- Candrawinata, V. I., Golding, J. B., Roach, P. D., & Stathopoulos, C. E. (2014). Total phenolic content and antioxidant activity of apple pomace aqueous extract: Effect of time, temperature and water to pomace ratio. *International Food Research Journal*, 21(6), 2337–2344.
- Cao, X., Wang, C., Pei, H., & Sun, B. (2009). Separation and identification of polyphenols in apple pomace by high-speed counter-current chromatography and high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216(19), 4268–4274.
- Carson, K. J., Collins, J. L., & Penfield, M. P. (1994). Unrefined, Dried Apple Pomace as a Potential Food Ingredient. *Journal of Food Science*, 59(6), 1213–1215.
- Cerda-Tapia, A., Pérez-Chabela, M. de L. de L., Pérez-Álvarez, J. Á. Á., Fernández-López, J., & Viuda-Martos, M. (2015). Valorization of Pomace Powder Obtained from Native Mexican Apple (*Malus domestica* var . rayada): Chemical , Techno-functional and Antioxidant Properties. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(3), 310–316.
- Ćetković, G., Čanadanović-Brunet, J., Djilas, S., Savatović, S., Mandić, A., & Tumbas, V. (2008). Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. *Food Chemistry*, 109(2), 340–347.

- Chand, P., Sharma, M., & Pakade, Y. B. (2015). Adsorption studies of Cr + 6 onto low-cost apple juice industry waste from aqueous solution : Equilibrium , kinetics and thermodynamics. *Indian Journal of Chemical Technology*, 22(5), 210–218.
- Chand, P., Shil, A. K., Sharma, M., & Pakade, Y. B. (2014). Improved adsorption of cadmium ions from aqueous solution using chemically modified apple pomace: Mechanism, kinetics, and thermodynamics. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 90, 8–16.
- Charrondiere, U. R., Haytowitz, D., & Stadlmayr, B. (2012). *FAO/INFOODS DensityDatabase) Version2.0(2012)*. Rome.
- Chatterjee, R., Yeh, H.-C., Edelman, D., & Brancati, F. (2011). Potassium and risk of Type 2 diabetes. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, 6(5), 665–672.
- Chen, H, Rubenthaler, G. L., Leung, H. K., & Baranowski, J. . . (1988). Chemical, Physical, and Baking Properties of Apple Fiber Compared with Wheat and Oat Bran'. *Cereal Chemistry*, 65(3), 244–247.
- Chen, Haifeng, Zhang, Y., & Ma, J. (2004). *Patent No. CN2605542 (Y)*.
- Chen, W., Chu, Y. S., Liu, J. L., & Chang, J. S. (2018). Thermal degradation of carbohydrates, proteins and lipids in microalgae analyzed by evolutionary computation. *Energy Conversion and Management*, 160, 209–219.
- Chinnici, F., Bendini, A., Gaiani, A., & Riponi, C. (2004). Radical Scavenging Activities of Peels and Pulpes from cv. Golden Delicious Apples as Related to Their Phenolic Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4684–4689.
- Churala Pal, P. G. (2014). An Overview on the Thermodynamic Techniques used in Food Chemistry. *Modern Chemistry & Applications*, 02(04).
- Cuervo, A., Valdés, L., Salazar, N., de los Reyes-Gavilán, C. G., Ruas-Madiedo, P., Gueimonde, M., & González, S. (2014). Pilot Study of Diet and Microbiota: Interactive Associations of Fibers and Polyphenols with Human Intestinal Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(23), 5330–5336.
- Dheilly, E., Le Gall, S., Guillou, M.-C., Renou, J.-P., Bonnin, E., Orsel, M., & Lahaye, M. (2016). Cell wall dynamics during apple development and storage involves hemicellulose modifications and related expressed genes. *BMC Plant Biology*, 16(1), 1–20.
- Dhillon, G., Brar, S., Kaur, S., & Verma, M. (2013). Screening of agro-industrial wastes for citric acid bioproduction by *Aspergillus niger* NRRL 2001 through solid state fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(7), 1560–1567.

- Dhillon, G. S., Brar, S. K., Verma, M., & Tyagi, R. D. (2011). Apple pomace ultrafiltration sludge - A novel substrate for fungal bioproduction of citric acid: Optimisation studies. *Food Chemistry*, *128*(4), 864–871.
- Dhillon, G. S., Kaur, S., & Brar, S. K. (2013). Perspective of apple processing wastes as low-cost substrates for bioproduction of high value products: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *27*, 789–805.
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., & Patil, R. T. (2012). Dietary fibre in foods: A review. *Journal of Food Science and Technology*, *49*(3), 255–266.
- Dietz, J. H., & Rouse, A. H. (1953). A rapid method for estimating pectic substances in citrus juices. *Journal of Food Science*, *18*(1–6), 169–177.
- Dincer, I., & Dost, S. (1996). A modelling study for moisture diffusivities and moisture transfer coefficients in drying of solid objects. *International Journal of Energy Research*, *20*(6), 531–539.
- Diñeiro García, Y., Valles, B. S., & Picinelli Lobo, A. (2009). Phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: Apple pomace. *Food Chemistry*, *117*(4), 731–738.
- Djilas, S., Čanadanović-Brunet, J., & Četković, G. (2009). By-products of fruits processing as a source of phytochemicals. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, *15*(4), 191–202.
- Elgadir, M. A., Bakar, J., Zaidul, I. S. M. S. M., Rahman, R. A., Abbas, K. A. A., Hashim, D. M. M., & Karim, R. (2009). Thermal behavior of selected starches in presence of other food ingredients studied by differential scanning calorimetry (DSC)-review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *8*(3), 195–201.
- Elkhalifa, A. E. O., Schiffler, B., & Bernhardt, R. (2005). Effect of fermentation on the functional properties of sorghum flour. *Food Chemistry*, *92*(1), 1–5.
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, *124*(2), 411–421.
- Endress, H. U. (1991). The chemistry and technology of pectin. In R. H. Walter (Ed.), *Non-food uses of pectin* (pp. 251–268). San Diego: Academic Press.
- Englyst, K., Quigley, M., Englyst, H., Parmar, B., Damant, A., Elahi, S., & Lawrance, P. (2013). Evaluation of methods of analysis for dietary fibre using real foods and model foods. *Food Chemistry*, *140*(3), 568–573.

- European Commission. (2019). Circular Economy Strategy - Environment - European Commission.
- Fan, M., Dai, D., & Huang, B. (2012). Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Natural Fibres. *Fourier Transform - Materials Analysis, In Tech*, 45–68.
- Ferreira, M. S. L., Santos, M. C. P., Moro, T. M. A., Basto, G. J., Andrade, R. M. S., & Gonçalves, É. C. B. A. (2013). Formulation and characterization of functional foods based on fruit and vegetable residue flour. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 822–830.
- Ferreira Zielinski, A. A., Alberti, A., Maia Braga, C., Marques da Silva, K., Giovanetti Canteri, M. H., Igarashi Mafra, L., ... Wosiacki, G. (2014). Effect of mash maceration and ripening stage of apples on phenolic compounds and antioxidant power of cloudy juices: A study using chemometrics. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 223–229.
- Figuerola, F., Hurtado, M. L., Estévez, A. M., Chiffelle, I., & Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, 91(3), 395–401.
- Fitzpatrick, J. J., Hodnett, M., Twomey, M., Cerqueira, P. S. M., O'Flynn, J., & Roos, Y. H. (2007). Glass transition and the flowability and caking of powders containing amorphous lactose. *Powder Technology*, 178(2), 119–128.
- Friedman, H. L. (1964). Kinetics of thermal degradation of char-forming plastics from thermogravimetry. Application to a phenolic plastic. *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia*, 6(1), 183–195.
- Fromm, M., Loos, H. M., Bayha, S., Carle, R., & Kammerer, D. R. (2013). Recovery and characterisation of coloured phenolic preparations from apple seeds. *Food Chemistry*, 136(3–4).
- Gai, C., Dong, Y., & Zhang, T. (2013). The kinetic analysis of the pyrolysis of agricultural residue under non-isothermal conditions. *Bioresource Technology*, 127, 298–305.
- Gaikwad, K. K., Lee, J. Y., & Lee, Y. S. (2016). Development of polyvinyl alcohol and apple pomace bio-composite film with antioxidant properties for active food packaging application. *Journal of Food Science and Technology*, 53(March), 1608–1619.
- Garau, M. C., Simal, S., Rosselló, C., & Femenia, A. (2007). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. *Canoneta*) by-products. *Food Chemistry*, 104(3), 1014–1024.
- Gašić, U. M., Natić, M. M., Mišić, D. M., Lušić, D. V., Milojković-Opsenica, D. M., Tešić, Ž.

- L., & Lušić, D. (2015). Chemical markers for the authentication of unifloral *Salvia officinalis* L. honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, *44*, 128–138.
- Gazalli, H. (2014). Nutritional Value and Physiological Effect of Apple Pomace. *International Journal of Food Nutrition and Safety*, *5*(1), 11–15.
- Gernah, D. I., Ariahu, C. C., & Ingbian, E. K. (2011). Effects of malting and lactic fermentation on some chemical and functional properties of maize (*Zea mays*). *American Journal of Food Technology*, *6*(5), 404–412.
- Gharibzahedi, S. M. T., & Jafari, S. M. (2017). The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science and Technology*, Vol. 62, pp. 119–132.
- Giomaro, G., Karioti, A., Bilia, A. R., Bucchini, A., Giamperi, L., Ricci, D., & Fraternali, D. (2014). Polyphenols profile and antioxidant activity of skin and pulp of a rare apple from Marche region (Italy). *Chemistry Central Journal*, *8*(1), 45.
- Goldhaber, S. B. (2003). Trace element risk assessment: Essentiality vs. toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *38*(2), 232–242.
- González-Aguilar, G. A., Blancas-Benítez, F. J., Sáyago-Ayerdi, S. G., Gonzalez-Aguilar, Blancas-Benitez, & Sayago-Ayerdi. (2017). Polyphenols associated with dietary fibers in plant foods: molecular interactions and bioaccessibility. *Current Opinion in Food Science*, *13*, 84–88.
- Gordon, M., & Taylor, J. S. (1952). Ideal Copolymers and the Second-Order Transitions of Synthetic Rubbers. I. Noncrystalline Copolymers. *Rubber Chemistry and Technology*, *26*(2), 323–335.
- Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Foltá, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M., ... Màrtín-Belloso, O. (2001). Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(2), 952–957.
- Gorjanović, S., Komes, D., Pastor, F. T., Belščak-Cvitanović, A., Pezo, L., Hečimović, I., & Sužnjević, D. (2012). Antioxidant Capacity of Teas and Herbal Infusions: Polarographic Assessment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(38), 9573–9580.
- Grover, S. S., Chauhan, G. S., & Masoodi, F. A. (2003). Effect of particle size on surface properties of apple pomace. *International Journal of Food Properties*, *6*(1), 1–7.
- Guerrero, M. R. B., Marques Da Silva Paula, M., Zaragoza, M. M., Gutiérrez, J. S., Velderrain, V. G., Ortiz, A. L., & Collins-Martínez, V. (2014). Thermogravimetric study on the pyrolysis kinetics of apple pomace as waste biomass. *International*

Journal of Hydrogen Energy, 39(29), 16619–16627.

Guyot, S., Marnet, N., Sanoner, P., & Drilleau, J.-F. (2003). Variability of the Polyphenolic Composition of Cider Apple (*Malus domestica*) Fruits and Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(21), 6240–6247.

Hager, A. S., Wolter, A., Jacob, F., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2012). Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 56(2), 239–247.

Haghighi, M., & Rezaei, K. (2013). Designing an all-apple-pomace-based functional dessert formulation. *British Food Journal*, 115(3), 409–424.

Han, W., Ma, S., Li, L., Wang, X. X., & Zheng, X. L. (2017). Application and Development Prospects of Dietary Fibers in Flour Products. *Journal of Chemistry*, 2017, 1–8.

Henríquez, C., Speisky, H., Chiffelle, I., Valenzuela, T., Araya, M., Simpson, R., & Almonacid, S. (2010). Development of an ingredient containing apple peel, as a source of polyphenols and dietary fiber. *Journal of Food Science*, 75(6), H172–H181.

Heras-Ramírez, M. E., Quintero-Ramos, A., Camacho-Dávila, A. A., Barnard, J., Talamás-Abbud, R., Torres-Muñoz, J. V., & Salas-Muñoz, E. (2012). Effect of Blanching and Drying Temperature on Polyphenolic Compound Stability and Antioxidant Capacity of Apple Pomace. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2201–2210.

Hervert-Hernández, D., & Goñi, I. (2011). Dietary Polyphenols and Human Gut Microbiota: a Review. *Food Reviews International*, 27(2), 154–169.

Hillier, J., Bezzant, T., & Fletcher, T. H. (2010). Improved Method for the Determination of Kinetic Parameters from Non-isothermal Thermogravimetric Analysis (TGA) Data. *Energy & Fuels*, 24(5), 2841–2847.

Huang Xiaoli, Xulin, X., Xu, W., Xie, X., & Guo, Y. (2017). *Patent No. CN106382791 (A)*.

Hurtta, M., Pitkänen, I., & Knuutinen, J. (2004). Melting behaviour of D-sucrose, D-glucose and D-fructose. *Carbohydrate Research*, 339(13), 2267–2273.

ISO 6865. (2000). Animal Feeding stuff – Determination of crude fibre content – method with intermediate filtration. *Geneve, Switzerland, International Organization for Standardization*.

Jacobs, P. J., Hemdane, S., Dornez, E., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2015). Study of hydration properties of wheat bran as a function of particle size. *Food Chemistry*, 179, 296–304.

- Jakubczyk, E., Ostrowska-Ligeza, E., & Gondek, E. (2010). Moisture sorption characteristics and glass transition temperature of apple puree powder. *International Journal of Food Science and Technology*, *45*(12), 2515–2523.
- Jakubczyka, E., Gondeka, E., Tamborb, K., Jakubczyk, E., Gondek, E., & Tambor, K. (2011). Characteristics of selected functional properties of apple powders obtained by the foam-mat drying method. *Food Process Engineering in a Changing World*, (Proceedings of the 11th International Congress on Engineering and food), 1–6. Athens, Greece.
- Jo, J.-H., Kim, S.-S., Shin, J.-W., Lee, Y.-E., & Yoo, Y.-S. (2017). Pyrolysis Characteristics and Kinetics of Food Wastes. *Energies*, *10*(1191), 1–13.
- Joshi, A. U., Liu, C., & Sathe, S. K. (2015). Functional properties of select seed flours. *LWT - Food Science and Technology*, *60*(1), 325–331.
- Jouppila, K., & Roos, Y. H. (1997). The physical state of amorphous corn starch and its impact on crystallization. *Carbohydrate Polymers*, *32*, 95–104.
- Jung, J., Cavender, G., & Zhao, Y. (2015). Impingement drying for preparing dried apple pomace flour and its fortification in bakery and meat products. *Journal of Food Science and Technology*, *52*, 5568–5578.
- Kačuráková, M., Capek, P., Sasinková, V., Wellner, N., Ebringerová, A., & Kacuráková, M. (2000). FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. *Carbohydrate Polymers*, *43*(2), 195–203.
- Kalinowska, M., Bielawska, A., Lewandowska-Siwkiewicz, H., Priebe, W., & Lewandowski, W. (2014). Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. *Plant Physiology and Biochemistry*, *84*(2), 169–188.
- Kammerer, D. R., Kammerer, J., Valet, R., & Carle, R. (2014). Recovery of polyphenols from the by-products of plant food processing and application as valuable food ingredients. *Food Research International*, *65*(PA), 2–12.
- Kaneda, H., Kobayashi, N., Furusho, S., Sahara, H., & Koshino, S. (1995). Reducing activity and flavour stability of beer. *Master Brewers Association of the Americas Technical Quarterly*, *32*(2), 90–94.
- Kang, H.-M., Lee, J.-H., Kim, R.-H., Yun, J.-H., & Chun, B.-S. (2012). Characterization of Wheat Flour Treated by Supercritical Carbon Dioxide. *APCBEE Procedia*, *2*, 12–16. Retrieved from www.sciencedirect.com
- Karkle, E. L., Alavi, S., & Dogan, H. (2012). Cellular architecture and its relationship with mechanical properties in expanded extrudates containing apple pomace. *Food*

Research International, 46(1), 10–21.

Kohajdová, Z., Karovičová, J., Jurasová, M., & Kukurová, K. (2011). Effect of the addition of commercial apple fibre powder on the baking and sensory properties of cookies. *Acta Chimica Slovaca*, 4(2), 88–97.

Ktenioudaki, A., O'Shea, N., & Gallagher, E. (2013). Rheological properties of wheat dough supplemented with functional by-products of food processing: Brewer's spent grain and apple pomace. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 362–368.

Kumar, S., & Sharma, P. (2017). Process protocol for mechanical separation of fruit core and seeds from apple fruits. *International Journal of Farm Sciences*, 7(1), 147–153.

Lapsley, K., Escher, F., & Hoehn, E. (1992). The cellular structure of selected apple varieties. *Food Structure*, 11(4), 339–349.

Lavelli, V., & Corti, S. (2011). Phloridzin and other phytochemicals in apple pomace: Stability evaluation upon dehydration and storage of dried product. *Food Chemistry*, 129(4), 1578–1583.

Lavelli, Vera, & Kerr, W. (2012). Apple pomace is a good matrix for phytochemical retention. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(22), 5660–5666.

Lavelli, Vera, & Vantaggi, C. (2009). Rate of antioxidant degradation and color variations in dehydrated apples as related to water activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4733–4738.

Lawless, HT, & Heymann. (2010). Sensory Evaluation of Food Principles and Practices Second Edition. In *Springer Science+Business Media, LLC*.

Le Bourvellec, C., Bouzerzour, K., Ginies, C., Regis, S., Plé, Y., & Renard, C. M. G. C. (2011). Phenolic and polysaccharidic composition of applesauce is close to that of apple flesh. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(4–5), 537–547.

Leal, G. F., Ramos, L. A., Barrett, D. H., Curvelo, A. A. S., & Rodella, C. B. (2015). A thermogravimetric analysis (TGA) method to determine the catalytic conversion of cellulose from carbon-supported hydrogenolysis process. *Thermochimica Acta*, 616, 9–13.

Lee, K. W., Kim, Y. J., Kim, D.-O., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Major Phenolics in Apple and Their Contribution to the Total Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6516–6520.

Liu, G., Ying, D., Guo, B., Cheng, L. J., May, B., Bird, T., ... Augustin, M. (2019). Extrusion of apple pomace increases antioxidant activity upon in vitro digestion. *Food & Function*, 10(2), 951–963.

- Liu, X., Yu, L., Xie, F., Li, M., Chen, L., & Li, X. (2010). Kinetics and mechanism of thermal decomposition of corn starches with different amylose/amylopectin ratios. *Starch/Staerke*, 62(3–4), 139–146.
- Lu, Y., & Foo, L. Y. (1997). Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. *Food Chemistry*, 59(2), 187–194.
- Lu, Y., & Foo, L. Y. (2000). Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry*, 68(1), 81–85.
- Lukaski, H. C. (2004, July). Vitamin and mineral status: Effects on physical performance. *Nutrition*, Vol. 20, pp. 632–644.
- Makarova, E., Górnaś, P., Konrade, I., Tirzite, D., Cirule, H., Gulbe, A., ... Dambrova, M. (2015). Acute anti-hyperglycaemic effects of an unripe apple preparation containing phlorizin in healthy volunteers: a preliminary study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(3), 560–568.
- Maragò, E., Iacopini, P., Camangi, F., Scattino, C., Ranieri, A., Stefani, A., & Sebastiani, L. (2015). Phenolic profile and antioxidant activity in apple juice and pomace: effects of different storage conditions. *EDP Sciences*, 70(4), 213–223.
- Masoodi, F. A., & Chauhan, G. S. (1998). Use of apple pomace as a source of dietary fiber in wheat bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 22(4), 255–263.
- Masoodi, F. A., & Chauman, G. S. (2002). Use of Apple Pomace as A Source of Dietary Fibre in cakes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 57, 121–128.
- Masumoto, S., Akimoto, Y., Oike, H., & Kobori, M. (2009). Dietary Phloridzin Reduces Blood Glucose Levels and Reverses Sglt1 Expression in the Small Intestine in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4651–4656.
- May, C. D. (1990). Industrial pectins: Sources, production and applications. *Carbohydrate Polymers*, 12(1), 79–99.
- Miceli-Garcia, L. G. (2014). Pectin From Apple Pomace: Extraction, Characterization, and Utilization in Encapsulating Alpha-Tocopherol Acetate. *Dissertations & Theses in Food Science and Technology Food*, 40, 6–68.
- Micić, D. M., Ostojić, S. B., Simonović, M. B., Krstić, G., Pezo, L. L., & Simonović, B. R. (2015). Kinetics of blackberry and raspberry seed oils oxidation by DSC. *Thermochimica Acta*, 601, 39–44.
- Min, B., Bae, I. Y., Lee, H. G., Yoo, S.-H., & Lee, S. (2010). Utilization of pectin-enriched materials from apple pomace as a fat replacer in a model food system. *Bioresource*

- Technology*, 101(14), 5414–5418.
- Mir, S. A., Bosco, S. J. D., Shah, M. A., Santhalakshmy, S., & Mir, M. M. (2017). Effect of apple pomace on quality characteristics of brown rice based cracker. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16(1), 25–32.
- Mirabella, N., Castellani, V., & Sala, S. (2014). Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review. *Journal of Cleaner Production*, 65, 28–41.
- Naczek, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography. A*, 1054(1–2), 95–111.
- Nagy, P., Bakonyi, G., Bongers, T., Kádár, I., Fábrián, M., & Kiss, I. (2004). Effects of microelements on soil nematode assemblages seven years after contaminating an agricultural field. *Science of the Total Environment*, 320(2–3), 131–143.
- Nawirska, A., & Kwaśniewska, M. (2005). Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. *Food Chemistry*, 91(2), 221–225.
- Nayak, B., Liu, R. H., & Tang, J. (2015). Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7), 887–918.
- Nešić, A., Ružić, J., Gordić, M., Ostojić, S., Micić, D., & Onjia, A. (2017). Pectin-polyvinylpyrrolidone films: A sustainable approach to the development of biobased packaging materials. *Composites Part B: Engineering*, 110, 56–61.
- O’Shea, N., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2012). Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 1–10.
- O’Shea, N., Ktenioudaki, A., Smyth, T. ., McLoughlin, P., Doran, L., Auty, M. A. ., ... Gallagher, E. (2015). Physicochemical assessment of two fruit by-products as functional ingredients: Apple and orange pomace. *Journal of Food Engineering*, 153, 89–95.
- Oberoi, H. S., Chavan, Y., Bansal, S., & Dhillon, G. S. (2010). Production of cellulases through solid state fermentation using kinnow pulp as a major substrate. *Food and Bioprocess Technology*, 3(4), 528–536.
- Ocheme, O. B., Adedeji, O. E., Chinma, C. E., Yakubu, C. M., & Ajibo, U. H. (2018). Proximate composition, functional, and pasting properties of wheat and groundnut protein concentrate flour blends. *Food Science & Nutrition*, 6(5), 1173–1178.
- Oladapo, A. ., Adepeju, A. ., Akinyele, A. ., & Adepeju, D. . (2017). The Proximate,

- Functional and Anti-Nutritional Properties of Three Selected Varieties of Maize (Yellow, White and Pop Corn) Flour. *International Journal of Scientific Engineering and Science*, 1(2), 23–26.
- Olson, M. L., Kargacin, M. E., Ward, C. a, & Kargacin, G. J. (2007). Effects of phloretin and phloridzin on Ca²⁺ handling, the action potential, and ion currents in rat ventricular myocytes. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 321(3), 921–929.
- Opyd, P., Jurgoński, A., Juśkiewicz, J., Milala, J., Zduńczyk, Z., & Król, B. (2017). Nutritional and Health-Related Effects of a Diet Containing Apple Seed Meal in Rats: The Case of Amygdalin. *Nutrients*, 9(1091), 1–12.
- Oyeyinka, S. A., Oyeyinka, A. T., Opaleke, D. O., & Ramota, O. (2014). *Cake production from wheat (triticum aestivum) and cowpea (vigna unguiculata) flours using date fruit as a sweetener*. 15(1), 20–28.
- Paniagua, C., Posé, S., Morris, V. J., Kirby, A. R., Quesada, M. A., & Mercado, J. A. (2014). Fruit softening and pectin disassembly: An overview of nanostructural pectin modifications assessed by atomic force microscopy. *Annals of Botany*, 114(6), 1375–1383.
- Paraman, I., Sharif, M. K., Supriyadi, S., & Rizvi, S. (2015). Agro-food industry byproducts into value-added extruded foods. *Food and Bioproducts Processing*, 96, 78–85.
- Parisi, O. I., Puoci, F., Restuccia, D., Farina, G., Iemma, F., & Picci, N. (2013). Polyphenols and Their Formulations: Different Strategies to Overcome the Drawbacks Associated with Their Poor Stability and Bioavailability. In S. Z. Ronald Ross Watson, Victor R. Preedy (Ed.), *Polyphenols in Human Health and Disease* (Vol. 1, pp. 29–45). Academic press in Elsevier Inc.
- Parniakov, O., Bals, O., Barba, F. J., Mykhailyk, V., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2017). Application of differential scanning calorimetry to estimate quality and nutritional properties of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(3), 362–385.
- Persic, M., Mikulic-Petkovsek, M., Slatnar, A., & Veberic, R. (2017). Chemical composition of apple fruit, juice and pomace and the correlation between phenolic content, enzymatic activity and browning. *LWT - Food Science and Technology*, 82, 23–31. Retrieved from <http>
- Petrović, M., Suznjević, D., Pastor, F., Veljović, M., Pezo, L., Antić, M., & Gorjanović, S. (2016). Antioxidant Capacity Determination of Complex Samples and Individual Phenolics - Multilateral Approach. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 19(1), 58–65.

- Pham, T. P. T., Kaushik, R., Parshetti, G. K., Mahmood, R., & Balasubramanian, R. (2015, April 1). Food waste-to-energy conversion technologies: Current status and future directions. *Waste Management*, Vol. 38, pp. 399–408. Pergamon.
- Plaza, M., Kariuki, J., & Turner, C. (2014). Quantification of individual phenolic compounds' contribution to antioxidant capacity in apple: A novel analytical tool based on liquid chromatography with diode array, electrochemical, and charged aerosol detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(2), 409–418.
- Queji, M. D., Wosiacki, G., Cordeiro, G. A., Peralta-Zamora, P. G., & Nagata, N. (2010). Determination of simple sugars, malic acid and total phenolic compounds in apple pomace by infrared spectroscopy and PLSR. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(3), 602–609.
- Rabetafika, H. N., Bchir, B., Aguedo, M., Paquot, M., & Blecker, C. (2014). Effects of Processing on the Compositions and Physicochemical Properties of Fibre Concentrate from Cooked Fruit Pomaces. *Food and Bioprocess Technology*, 7(3), 749–760.
- Raikos, V., Neacsu, M., Russell, W., & Duthie, G. (2014). Comparative study of the functional properties of lupin, green pea, fava bean, hemp, and buckwheat flours as affected by pH. *Food Science and Nutrition*, 2(6), 802–810.
- Rana, S., & Bhushan, S. (2016). Apple phenolics as nutraceuticals: assessment, analysis and application. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1727–1738.
- Rana, S., Gupta, S., Rana, A., & Bhushan, S. (2015). Functional properties , phenolic constituents and antioxidant potential of industrial apple pomace for utilization as active food ingredient. *Food Science and Human Wellness*, 4(4), 180–187.
- Rana, S., Rana, A., Gulati, A., & Bhushan, S. (2014). RP-HPLC-DAD Determination of Phenolics in Industrial Apple Pomace. *Food Analytical Methods*, 7(7), 1424–1432.
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: A review. *Journal of Food Engineering*, 49, 311–319.
- Raudone, L., Raudonis, R., Liaudanskas, M., Viskelis, J., Pukalskas, A., & Janulis, V. (2016). Phenolic Profiles and Contribution of Individual Compounds to Antioxidant Activity of Apple Powders. *Journal of Food Science*, 81(5), C1055–C1061.
- Ravn-Haren, G., Dragsted, L. O., Buch-Andersen, T., Jensen, E. N., Jensen, R. I., Németh-Balogh, M., ... Bügel, S. (2013). Intake of whole apples or clear apple juice has contrasting effects on plasma lipids in healthy volunteers. *European Journal of Nutrition*, 52(8), 1875–1889.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).

- Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay - electron-transfer reactions with organic compounds in solutions containing nitrite or nitrate. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- Reis, S. F., Rai, D. K., & Abu-Ghannam, N. (2014). Apple pomace as a potential ingredient for the development of new functional foods. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(7), 1743–1750.
- Renard, C. M. G. C., Dupont, N., & Guillermin, P. (2007). Concentrations and characteristics of procyanidins and other phenolics in apples during fruit growth. *Phytochemistry*, 68(8), 1128–1138.
- Renard, C. M. G. C., Watrelot, A. A., & Le Bourvellec, C. (2017). Interactions between polyphenols and polysaccharides: Mechanisms and consequences in food processing and digestion. *Trends in Food Science and Technology*, Vol. 60, pp. 43–51. Elsevier Ltd.
- Republički zavod za statistiku Srbije. (2018). In *Rodna površina, proizvodnja i prosečan prinov voćnjaka*.
- Reyes, A., Vega, R. V., & Bruna, R. D. (2010). Effect of operating conditions in atmospheric freeze drying of carrot particles in a pulsed fluidized bed. *Drying Technology*, 28(10), 1185–1192.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996, January 1). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 20, pp. 933–956. Pergamon.
- Robertson, J. A., Monredon, F. D. d., Dysseler, P., Guillon, F., Amadò, R., & Thibault, J.-F. (2000). Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: A European collaborative study. *LWT - Food Science and Technology*, 33(2), 72–79.
- Roos, Y. H. (2003). Thermal analysis, state transitions and food quality. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 71(1), 197–203.
- Roos, Y. H. (1998). Phase transitions and structure of solid food matrices. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 3(6), 651–656.
- Roos, Yrjö H., & Karel, M. (1991). Plasticizing Effect of Water on Thermal Behavior and Crystallization of Amorphous Food Models. *Journal of Food Science*, 56(1), 38–43.
- Roos, Yrjö H. (2008). Water Activity and Glass Transition. In *Water Activity in Foods* (pp. 29–45). Oxford, UK, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Rosniyana, A., Hazila, K. K., Norin, S., & Abdullah, S. (2016). Characteristics of local rice flour (MR 220) produced by wet and dry milling methods. *J. Trop. Agric. and Fd.*

- Sc, 44(1), 147–155.
- Saavedra-Leos, M. Z., Alvarez-Salas, C., Esneider-Alcalá, M. A., Toxqui-Terán, A., Pérez-García, S. A., & Ruiz-Cabrera, M. A. (2012). Towards an improved calorimetric methodology for glass transition temperature determination in amorphous sugars. *CYTA - Journal of Food*, 10(4), 258–267.
- Sablani, S. S., Kasapis, S., & Rahman, M. S. (2007). Evaluating water activity and glass transition concepts for food stability. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 266–271.
- Sacilik, K., & Elicin, A. K. (2006). The thin layer drying characteristics of organic apple slices. *Journal of Food Engineering*, 73(3), 281–289.
- Saeed, M., Inam-Ur-Raheem, M., Shakeel, A., Wasim Aslam, H. K., Siddique Raza, M., Razzaq, Z., ... Shoaib, M. (2015). Effect of Water Chest Nut and Apple Pomace Powder on the Quality Parameters of Cookies. *Journal of Global Innovations in Agricultural and Social Sciences*, 3(4), 142–145.
- Sahni, P., & Shere, D. M. (2017a). Comparative Evaluation of Physico-chemical and Functional Properties of Apple, Carrot and Beetroot Pomace Powders. *Intl. J. Food. Ferment. Technol*, 7(2), 317–323.
- Sahni, P., & Shere, D. M. (2017b). Effect of Different Packaging Materials on Sensory Attributes of Fibre Rich Cookies during Storage. *Int. J. Pure App. Biosci*, 5(6), 265–272.
- Saltveit, M. E. (2017). Synthesis and metabolism of phenolic compounds. In *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health: Second Edition* (Vol. 1, pp. 115–123). Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- Sánchez-Rabaneda, F., Jáuregui, O., Lamuela-Raventós, R. M., Viladomat, F., Bastida, J., & Codina, C. (2004). Qualitative analysis of phenolic compounds in apple pomace using liquid chromatography coupled to mass spectrometry in tandem mode. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18(5), 553–563.
- Sangnark, A., & Noomhorm, A. (2003). Effect of particle sizes on functional properties of dietary fibre prepared from sugarcane bagasse. *Food Chemistry*.
- Saura-Calixto, F. (2011). Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: An essential physiological function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 43–49.
- Schieber, A., Hilt, P., Endreß, H. U., Rentschler, C., & Carle, R. (2003). A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4(1), 99–107.
- Schraidt, M. (2009). Appendix L: Penalty analysis or mean drop analysis. In L. Rothman

- & M. J. Parker (Eds.), *ASTM Manual Series: MNL 63 - Just-About-Right (JAR) scales: Design, usage, benefits and risks* (pp. 50–53). Bridgeport, NJ, USA: ASTM International - American Society for Testing and Materials.
- Shalini, R. (2010). *Apple pomace drying - drying characteristics of apple pomace* (R. Shalini, Ed.). Pantnagar: Lambert Academic Publishing.
- Shalini, R., & Gupta, D. K. (2010). Utilization of pomace from apple processing industries: A review. *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 47, pp. 365–371.
- Shao, X., Bai, N., He, K., Ho, C. T., Yang, C. S., & Sang, S. (2008). Apple polyphenols, phloretin and phloridzin: New trapping agents of reactive dicarbonyl species. *Chemical Research in Toxicology*, 21(10), 2042–2050.
- Sharma, P. C., Gupta, A., & Issar, K. (2017). Effect of Packaging and Storage on Dried Apple Pomace and Fiber Extracted from Pomace. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), 1–10.
- Sharma, P., Ramchiary, M., Samyori, D., & Das, A. B. (2016). Study on the phytochemical properties of pineapple fruit leather processed by extrusion cooking. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 534–543.
- Silalai, N., & Roos, Y. H. (2010). Roles of water and solids composition in the control of glass transition and stickiness of milk powders. *Journal of Food Science*, 75(5).
- Silas Granato Villas Boas, N. G. (2018). *Patent No. 20180146688*. United States Patent and Trademark Office.
- Singleton & Rossi. (1965). Singleton V L & Rossi J A Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viniculture*, 16, 144–158.
- Skinner, R. C., Gigliotti, J. C., Ku, K. M., & Tou, J. C. (2018). A comprehensive analysis of the composition, health benefits, and safety of apple pomace. *Nutrition Reviews*, 76(12), 893–909.
- Sudha, M. L., Baskaran, V., & Leelavathi, K. (2007). Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry*, 104(2), 686–692.
- Sudha, M. L., Baskaran, V., & Leelavathi, K. (2011). Apple Pomace (by-Product of Fruit Juice Industry) as a Flour Fortification Strategy. In *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 395–405). Elsevier Inc.
- Sudha, M. L., Dharmesh, S. M., Pynam, H., Bhimangouder, S. V., Eipson, S. W., Somasundaram, R., & Nanjarajurs, S. M. (2016). Antioxidant and cyto/DNA

- protective properties of apple pomace enriched bakery products. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1909–1918.
- Sun, L., Sun, J., Meng, Y., Yang, X., & Guo, Y. (2017). Purification, characterization, antioxidant and antitumour activities of polysaccharides from apple peel pomace obtained by pre-pressing separation. *International Journal of Food Engineering*, 13(3), 1–14.
- Sun, Z. T., Tian, L. M., Liu, C., & Du, J. H. (2009). Bioconversion of apple pomace into a multienzyme bio-feed by two mixed strains of *Aspergillus niger* in solid state fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology*, 12(1), 1–13.
- Sužnjević, D. Ž., Pastor, F. T., & Gorjanović, S. Ž. (2011). Polarographic study of hydrogen peroxide anodic current and its application to antioxidant activity determination. *Talanta*, 85(3), 1398–1403.
- Szymanska-Chargot, M., Chylinska, M., Kruk, B., & Zdunek, A. (2015). Combining FT-IR spectroscopy and multivariate analysis for qualitative and quantitative analysis of the cell wall composition changes during apples development. *Carbohydrate Polymers*, 115, 93–103.
- Tambunan, A. H., Yudistira, Kisdiyani, & Hernani. (2001). Freeze drying characteristics of medicinal herbs. *Drying Technology*, 19(2), 325–331.
- Tańska, M., Roszkowska, B., Czaplicki, S., Borowska, E. J., Bojarska, J., & Dąbrowska, A. (2016). Effect of Fruit Pomace Addition on Shortbread Cookies to Improve Their Physical and Nutritional Values. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(3), 307–313.
- The European Parliament and the Council of the European Union. (2011). Regulation (EU) No 1169/2011. *Official Journal of the European Union*, 304(1169), 18–63.
- Thibault, J.-F., Lahaye, M., & Guillon, F. (1992). Physico-chemical Properties of Food Plant Cell Walls. In T. F. Schweizer & C. A. Edwards (Eds.), *Dietary Fibre - A Component of Food* (ILSI Human, pp. 21–39). London: Springer, London.
- Thurgood, J., Ward, R., & Martini, S. (2007). Oxidation kinetics of soybean oil/anhydrous milk fat blends: A differential scanning calorimetry study. *Food Research International*, 40(8), 1030–1037.
- Tressler, D. K., & Maynard, A. J. (1954). *The chemistry and technology of fruit and vegetable juice production*. New York: Avi Pub. Co.
- Tseng, A., & Zhao, Y. (2012). Effect of Different Drying Methods and Storage Time on the Retention of Bioactive Compounds and Antibacterial Activity of Wine Grape Pomace (Pinot Noir and Merlot). *Journal of Food Science*, 77(9), H192–H201.

- United States Department of Agriculture. (2018). In *Apples, Fresh: World Markets and Trade*.
- Van Der Sluis, A. A., Dekker, M., Skrede, G., Jongen, W. M. F. W., & Sluis, A. van der. (2002). Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 1. Effect of existing production methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), 7211–7219.
- Varzakas, T., Zakyntinos, G., & Verpoort, F. (2016). Plant Food Residues as a Source of Nutraceuticals and Functional Foods. *Foods*, 5(4), 88.
- Vendruscolo, F., Albuquerque, P. M., Streit, F., Esposito, E., & Ninow, J. L. (2008). Apple pomace: a versatile substrate for biotechnological applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(1), 1–12.
- Veselinović, N., & Veselinović, M. (2009). *Patent No. RS20070441 (A)*. Republic of Serbia, The Intellectual Property Office.
- Vicente, A. R., Manganaris, G. ., Sozzi, G. ., & Crisosto, C. H. (2009). Nutritional Quality of Fruits and Vegetables. In B. B. and S. E. P. Wojciech J. Florkowski, Robert L. Shewfelt (Ed.), *Postharvest Handling: A Systems Approach, Second Edition* (second, pp. 58–93). Elsevier Inc. Academic Press.
- Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D., & Mattivi, F. (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6532–6538.
- Vyazovkin, S. (2015). Isoconversional kinetics of thermally stimulated processes. In *Isoconversional Kinetics of Thermally Stimulated Processes*. Springer International Publishing.
- Vyazovkin, S., Burnham, A. K., Criado, J. M., Pérez-maqueda, L. A., Popescu, C., & Sbirrazzuoli, N. (2011). ICTAC Kinetics Committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data. *Thermochimica Acta*, 520(1–2), 1–19.
- Vyazovkin, S., Chrissafis, K., Di Lorenzo, M. L., Koga, N., Pijolat, M., Roduit, B., ... Suñol, J. J. (2014). ICTAC Kinetics Committee recommendations for collecting experimental thermal analysis data for kinetic computations. *Thermochimica Acta*, 590, 1–23.
- Waghmare, A. G., & Arya, S. S. (2014). Use of fruit by-products in the preparation of hypoglycemic thepla: Indian unleavened vegetable flat bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 1198–1206.
- Waldbauer, K., McKinnon, R., & Kopp, B. (2017). Apple Pomace as Potential Source of Natural Active Compounds. *Planta Medica*, 83(12/13), 994–1010.

- Wang, H. J., & Thomas, R. L. (1989). Direct Use of Apple Pomace in Bakery Products. *Journal of Food Science*, 54(3), 618–620.
- Wang, J., Li, Y. Z., Chen, R. R., Bao, J. Y., & Yang, G. M. (2007). Comparison of volatiles of banana powder dehydrated by vacuum belt drying, freeze-drying and air-drying. *Food Chemistry*, 104(4), 1516–1521.
- Wang, X., Kristo, E., & LaPointe, G. (2019). The effect of apple pomace on the texture, rheology and microstructure of set type yogurt. *Food Hydrocolloids*, 91, 83–91.
- Wang, Y., & Truong, T. (2016). Glass Transition and Crystallization in Foods. In *Non-Equilibrium States and Glass Transitions in Foods: Processing Effects and Product-Specific Implications* (pp. 153–172).
- Willemina, C. M. A. (2011). Polyphenols in Apples and Their Interactions With Vascular. University of East Anglia.
- Winiczenko, R., Górnicki, K., Kaleta, A., Janaszek-Mańkowska, M., Choińska, A., & Trajer, J. (2018). Apple cubes drying and rehydration. Multiobjective optimization of the processes. *Sustainability (Switzerland)*, 10(11), 4126.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Laskowski, P. (2008). Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6520–6530.
- Wolfe, K. L., & Liu, R. H. (2003). Apple peels as a value-added food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(6), 1676–1683.
- Worrall, J. J., & Yang, C. S. (1992). Shiitake and Oyster Mushroom Production on Apple Pomace and Sawdust. *HortScience*, 27(10), 1131–1133.
- Wu, L., Orikasa, T., Ogawa, Y., & Tagawa, A. (2007). Vacuum drying characteristics of eggplants. *Journal of Food Engineering*, 83(3), 422–429.
- Xu, Y., Fan, M., Ran, J., Zhang, T., Sun, H., Dong, M., ... Zheng, H. (2016). Variation in phenolic compounds and antioxidant activity in apple seeds of seven cultivars. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(3), 379–388.
- Yan, H. (2012). Vacuum belt dried apple pomace powder as a value-added food ingredient. University of Georgia, ATHENS, GEORGIA.
- Yan, Huitong, & Kerr, W. L. (2013). Total phenolics content, anthocyanins, and dietary fiber content of apple pomace powders produced by vacuum-belt drying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(6), 1499–1504.
- Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D. H., & Zheng, C. (2007). Characteristics of

- hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, 86(12–13), 1781–1788.
- Yangilar, F. (2013). The Application of Dietary Fibre in Food Industry: Structural Features, Effects on Health and Definition, Obtaining and Analysis of Dietary Fibre: A Review. *Journal of Food and Nutrition Research*, 1(3), 13–23.
- Yeng, L. C., Wahit, M. U., & Othman, N. (2015). Thermal and flexural properties of regenerated cellulose(RC)/poly(3- hydroxybutyrate)(PHB)biocomposites. *Jurnal Teknologi*, 75(11), 107–112.
- Younas, M. B., Rakha, A., Sohail, M., Rashid, S., & Ishtiaq, H. (2015). Physicochemical and sensory assessment of apple pomace enriched muffins. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 25(4), 224–234.
- Younis, K., & Ahmad, S. (2015). Waste utilization of apple pomace as a source of functional ingredient in buffalo meat sausage. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1–10.
- Zhang, L., Zhu, M., Shi, T., Guo, C., Huang, Y., Chen, Y., & Xie, M. (2017). Recovery of dietary fiber and polyphenol from grape juice pomace and evaluation of their functional properties and polyphenol compositions. *Food Funct.*, 8(1), 341–351.
- Zhishen, Mengcheng, J. (1999). The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559.
- Zlatanović, S, Ostojić, S, Micić, D, Vukosavljević, P. (2018). Glass transition of dehydrated apple pomace with different water content. In Željko Čupić and Slobodan Anić (Ed.), *14th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry* (Vol. 2, pp. 1023–1026). Belgrade: Society of Physical Chemists of Serbia.
- Zlatanović, S., Ostojić, S., Micić, D., Rankov, S., Dodevska, M., Vukosavljević, P., & Gorjanović, S. (2019). Thermal behaviour and degradation kinetics of apple pomace flours. *Thermochimica Acta*, 673, 17–25.

BIOGRAFIJA

Snežana J. Zlatanović je rođena 4. januara 1967. godine u Užicu, Republika Srbija. Osnovnu i srednju školu je završila u Beogradu 1985. Iste godine upisala je fakultet za Fizičku hemiju u Beogradu. Diplomirala je 1992.godine. U Institutu za opštu i fizičku hemiju (IOFH) u Beogradu je zaposlena od 1993. godine. Radi kao istraživač saradnik u Laboratoriji za termalnu analizu. Tokom dosadašnjeg rada bavila se različitim aspektima kvaliteta i bezbednosti hrane i učestvovala kako na projektima finansiranim od strane Ministarstva za nauku, tako i na primenjenim projektima realizovanim u IOFH.

U školskoj 2015/2016 godini upisala je doktorske studije na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, smer Prehrambena tehnologija, broj. Trenutno je angažovana na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja pod naslovom „Osmotska dehidracija hrane, energetski i ekološki aspekti održive proizvodnje“, Evidencioni broj projekta 31055, oblast tehnološkog razvoja.

Do sada je u saradnji sa drugim autorima objavila 11 naučnih radova, od kojih se 7 nalaze u međunarodnim časopisima sa SCI liste, 3 tehnička rešenja i više saopštenja na domaćim i međunarodnim skupovima..

PRILOZI

Prilog 1. Odobrenje za *in vivo* ispitivanje

Република Србија
МИНИСТАРСТВО ПОЉОПРИВРЕДЕ И
ЗАШТИТЕ ЖИВОТНЕ СРЕДИНЕ
-УПРАВА ЗА ВЕТЕРИНУ-
Број: 323-07-00617/2017-05
Датум: 01.02.2017. године
Београд

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
БЕОГРАД - ЗЕМЉИ

ПРИМЉЕНО: 05 FEB 2017

Орг. јед.	Број	Правос.	Вреднос.
13	22/65-2		

Министарство пољопривреде и заштите животне средине Републике Србије-Управа за ветерину, на основу члана 34. Закона о добробити животиња ("Службени гласник РС" бр. 41/09), члана 192. Закона о општем управном поступку ("Службени гласник СРЈ" бр. 33/97 и 31/2001 и "Службени гласник РС" бр. 30/2010) и Решења о овлашћењу министра пољопривреде и заштите животне средине Републике Србије, 119-01-51/6/2016-09, од 12.08.2016. године, решавајући о захтеву Пољопривредног факултета, Универзитета у Београду за издавање Решења о одобрењу спровођења огледа на животињама, доноси:

РЕШЕЊЕ

УСВАЈА СЕ захтев Пољопривредног, Универзитета у Београду, ул. Немањина 6, Београд и издаје се Решење о одобрењу спровођења огледа на животињама под називом:

"Испитивање ефеката тропа од јабука на липидни и гликемијски статус мишева С57BL/6Ј".

Образложење

Пољопривредни факултет, Универзитета у Београду, ул. Немањина 6, Београд, обратио се овом министарству дана 27.01.2017. године, захтевом за одобрење огледа, под називом: "Испитивање ефеката тропа од јабука на липидни и гликемијски статус мишева С57BL/6Ј".

Подносилац пријаве је Министарству, уз захтев, доставио документацију прописану Законом о добробити животиња ("Службени гласник РС" бр. 41/09) и Правилником о условима за упис у регистар за огледе на животињама и садржини и начину вођења тог Регистра, програму обуке о добробити огледних животиња обрасцу захтева за одобрење спровођења огледа на животињама, начину неге, поступања и лишавању живота огледних животиња, као и садржини и начину вођења евиденције о држању, репродукцији, промету, односно спровођењу огледа на животињама ("Службени гласник РС", бр. 39/10) и то: податке о називу и седишту правог лица, попуњен захтев за издавање решења о одобрењу спровођења огледа на животињама, стручно мишљење Етичке комисије о спровођењу предметног огледа, Решење о упису у Регистар за огледе на животињама.

Приликом решавања по захтеву, на основу увида у приложену документацију, утврђено је да су се стекли услови за доношење решења као у диспозитиву, сходно одредбама члана 192. Закона о општем управном поступку.

Поука о правном средству: Ово решење је коначно у управном поступку. Против овог решења се може покренути управни спор подношењем тужбе Управном суду Србије у року од 30 дана од дана пријема решења.



Доставити:

1. Пољопривредни факултет, Универзитета у Београду, Немањина 6, 11000 Београд
2. Реп. ветеринарска инспекција, Велислава Вуловића 1а/4, 11000 Београд
3. Евиденција,
4. Архива

Prilog 2. Izveštaj o ispitivanju



Heroja Pinkija br. 49
26300 Vršac

ENOLOŠKA STANICA VRŠAC DOO VRŠAC

Matični broj: 08009988
 PIB : 100914389
 Broj tekućeg računa:
 Vojvodanska banka 355-1011347-53
 Credit Agricole banka 330-22000536-94
 Trezor 840-346723-90

info@enoloskastanica.com
 tel: 013/821 600; 821-601
 fax: 013/832-792

Datum stampe: 28.10.2016

Strana 1 od 1

Izveštaj o ispitivanju del. br. 03-3685

Podnosilac zahteva: ENOLOŠKA STANICA VRŠAC DOO, Heroja Pinkija 49, Vršac

Broj zahteva: /

Datum zahteva:

JCI broj: /

Uzorkovao: Podnosilac zahteva

Datum prijema: 21.10.16

Datum početka ispitivanja: 21.10.16

Datum završetka ispitivanja: 28.10.16

Uzorak: Anl. br. 7158 OSUŠENI TROP JABUKE

Uvoznik: /, /, /

Ino dobavljač: /, /, /

Spedicija: /

Vrsta prevoza: /

FS inspektor: /

Broj res. FSI: /

Obim analize: Fizičko-hemijska analiza, Senzorna analiza, Mikrobiološka analiza

Prilog:

Na osnovu rezultata obavljenih laboratorijskih ispitivanja dostavljenih uzoraka, ocenjuje se da proizvod

ODGOVARA

Zakonu o bezbednosti hrane ('Sl.glasnik RS', br.41/09), odnosno ispunjavaju uslove propisane bližim Pravilnicima navedenim u Izveštaju o ispitivanju, u odnosu na ispitane parametre.



Dr Rajna Dušanov
specijalista higijene

IZJAVA I: *Rezultati ispitivanja se odnose samo na ispitivani uzorak.*

IZJAVA II: *Ovaj izveštaj se ne sme umnožavati, izuzev u celini, bez pismene saglasnosti laboratorije.*

Prilog 3. Primer ocenjivačkog lista za senzorno ocenjivanje čajnog peciva sa različitim dodatkom brašna od tropa jabuke fine/krupne granulacije

Izračunati pokazatelji	Ispitivana svojstva kvaliteta					% od maksimalno mogućeg kvaliteta	Ponderisana srednja vrednost ocene
	IZGLED	TEKSTURA		AROMA			
	Vizuelno ocenjeno svojstvo boje, površine, veličine i oblika	Vizuelno ocenjena struktura i ispečenost, palpatorno ocenjen prelom	Oralno ocenjena žvakljivost	Olfaktorno ocenjen miris	Oralno ocenjen ukus		
	KOEFIČIJENT VAŽNOSTI (KV)						
	3.00	4.00	4.00	4.00	5.00		
X_{sr}							
S_d							
C_v							

Prilog 4. Ocenjivački list A i B

A Hedonska skala korišćena za ispitivanje stepena prihvatljivosti odabranih senzornih svojstava

OCENJIVAČKI LISTIĆ

Šifra uzorka _____

1. Pomoću prikazane skale ocenite u kojoj meri vam se dopada proizvod kao celina (unošenjem znaka X u odgovarajuće kućište).

➤ **U kojoj meri vam se dopada proizvod kao celina:**

uopšte mi se ne dopada	ne dopada mi se	niti mi se dopada, niti mi se ne dopada	dopada mi se	izuzetno mi se dopada
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

➤ **U kojoj meri vam se dopada struktura proizvoda:**

uopšte mi se ne dopada	ne dopada mi se	niti mi se dopada, niti mi se ne dopada	dopada mi se	izuzetno mi se dopada
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

➤ **U kojoj meri vam se dopada ukus proizvoda:**

uopšte mi se ne dopada	ne dopada mi se	niti mi se dopada, niti mi se ne dopada	dopada mi se	izuzetno mi se dopada
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

➤ **U kojoj meri vam se dopada miris proizvoda:**

uopšte mi se ne dopada	ne dopada mi se	niti mi se dopada, niti mi se ne dopada	dopada mi se	izuzetno mi se dopada
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

B. Skala "upravo onako kako bi trebalo da bude"

2. Pomoću prikazane skale ocenite pojedina senzorna svojstva proizvoda (unošenjem znaka X u odgovarajuće kućište).➤ **Kako biste ocenili boju proizvoda?**

previše tamna		tamna		kako treba		svetla		previše svetla
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

➤ **Kako biste ocenili intenzitet slatkog ukusa proizvoda?**

nedovoljno slatko		srednje		kako treba		srednje		previše slatko
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

➤ **Kao biste ocenili intenzitet mirisa (na jabuku) proizvoda?**

nedovoljno izražen		srednje		kako treba		srednje		previše izražen
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

➤ **Kako biste ocenili hrskavost proizvoda?**

nedovoljno hrskavo		srednje		kako treba		srednje		previše hrskavo
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

➤ **Kako biste ocenili ispečenost proizvoda?**

nedovoljno pečen		srednje		kako treba		srednje		prepečen
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

➤ **Kako biste ocenili žvakljivost proizvoda?**

suviše lako se žvaće (lagan je, topi se)		srednje		kako treba		srednje		previše teško se žvaće
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Prilog 5.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Snežana J. Zlatanović

Broj indeksa 15/34

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom „***Termalna, hemijska i funkcionalna svojstva tropa od jabuke i mogućnosti primene u prehrambenoj industriji***“

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

Potpis autora

U Beogradu, _____

Prilog 6.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Snežana J. Zlatanović

Broj indeksa 15/34

Studijski program Prehrambena tehnologija

Naslov rada „**Termalna, hemijska i funkcionalna svojstva tropa od jabuke i mogućnosti primene u prehrambenoj industriji**“

Mentor Prof. dr Predrag Vukosavljević

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

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

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

Potpis autora

U Beogradu, _____

Prilog 7.**Izjava o korišćenju**

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

„Termalna, hemijska i funkcionalna svojstva tropa od jabuke i mogućnosti primene u prehrambenoj industriji“

koja je moje autorsko delo.

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

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

1. Autorstvo (CC BY)

2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)

5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.

Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

Potpis autora

U Beogradu, _____

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