

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Kosana M. Šobot

**OPTIMIZACIJA PROCESA OSMOTSKE
DEHIDRACIJE LISTOVA SREMUŠA (*Allium
ursinum* L.) U MELASI ŠEĆERNE REPE I
NJIHOV UTICAJ NA SVOJSTVA
KVALITETA KEKSA**

doktorska disertacija

Beograd, 2023

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Kosana M. Šobot

**OPTIMIZATION OF THE PROCESS OF
OSMOTIC DEHYDRATION OF WILD GARLIC
(*Allium ursinum* L.) LEAVES IN SUGAR BEET
MOLASSES AND THEIR INFLUENCE ON THE
QUALITY PROPERTIES OF BISCUIT**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Mentori:

dr Jovanka Laličić-Petronijević, vanredni profesor

Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Vladimir Filipović, naučni savetnik

Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu

Članovi komisije:

dr Milica Nićetin, naučni saradnik

Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu

dr Margarita Dodevska, viši naučni saradnik

Institut za javno zdravlje Srbije dr Milan Jovanović Batut, Beograd

dr Violeta Knežević, naučni saradnik

Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu

Datum odbrane: _____

OPTIMIZACIJA PROCESA OSMOTSKE DEHIDRACIJE LISTOVA SREMUŠA (*Allium ursinum* L.) U MELASI ŠEĆERNE REPE I NJIHOV UTICAJ NA SVOJSTVA KVALITETA KEKSA

Sažetak

Predmet ove doktorske disertacije je ispitivanje mogućnosti dobijanja inovativnog prehrambenog proizvoda, koji bi doprineo proširenju postojećeg asortimana konditorskih proizvoda u tipu keksa za potrošače koji vode računa o ishrani, uz istovremeno pronalaženje upotrebne vrednosti nusproizvoda prehrambene industrije, u cilju iskorišćenja njihovih preostalih nutritivnih benefita i smanjenja otpada. Kreiran je novi, nutritivno obogaćen keks na bazi speltinog brašna, sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša (*Allium ursinum* L.), kroz čiju proizvodnju je revalorizovan sporedni proizvod industrije šećera –melasa šećerne repe.

Sremuš (*Allium ursinum* L.) je od davnina poznat kao lekovita biljka, izuzetnih antimikrobnih i antioksidativnih svojstava. Sumporna i fenolna jedinjenja su u listovima sremuša prisutna u velikoj meri, a njihovom značajnom bioaktivnom i nutritivnom potencijalu doprinosi i prisustvo brojnih minerala, dijetnih vlakana, isparljivih jedinjenja, pigmenta itd. Kao dodatak keksu, pre svega u nutritivnom smislu, listovi sremuša su obećavajuća sirovina, pri čemu su ograničavajući faktori visok sadržaj vode i kratka sezonska dostupnost ove biljke. Osmotskom dehidracijom listova sremuša dobija se dehidrisani poluproizvod produžene održivosti, znatno većeg sadržaja suve materije, koji se može dodati u većoj količini u sirovinski sastav keksa ne narušavajući strukturu testa i koji je dostupan tokom dužeg vremenskog perioda za proizvodnju slanog keksa.

Osmotska dehidracija, pored toga što je efikasan metod za smanjenje sadržaja vode u prehrambenim sirovinama (i preko 50%), ima prednosti i sa ekonomskog, ekološkog i nutritivnog aspekta kao što su: odvijanje pri niskim procesnim temperaturama, niska potrošnja energenata i minimalno tretiranje polazne sirovine. Melasa šećerne repe, visokokoncentrovana tečna mešavina šećera i mnogobrojnih vrednih jedinjenja poput minerala, betaina, polifenola i dr., se može jednostavno implementirati kao sredstvo za osmotsku dehidraciju. Zbog svoje dostupnosti i povoljnog nutritivnog sastava kojim obogaćuje dehidrisani materijal, se pokazala kao odlična alternativa uobičajenim osmotskim rastvorima.

Tokom prve faze eksperimentalnog rada sproveden je postupak osmotske dehidracije listova sremuša u dva osmotska rastvora: vodenom rastvoru mešavine saharoze i natrijum hlorida i melasi šećerne repe pri temperaturama od 20°C, 35°C i 50°C i vremenu trajanja procesa od 1, 2,5 i 4 sata. Ispitan je uticaj primenjenog osmotskog rastvora, temperature i dužine osmotske dehidracije na parametre koji opisuju prenos mase tokom procesa. Definisani su optimalni uslovi za izvođenje procesa, a potom analiziran njihov uticaj na mikrobiološka, nutritivna i antioksidativna svojstva osmotski dehidrisanih listova sremuša. Na osnovu ispitivanja uticaja osmotske dehidracije pri izabranim optimalnim uslovima (20°C, 4 h) i upotrebljenog rastvora na osnovni hemijski sastav, sadržaj ukupnih fenola i tiosulfinata, kao i na mikrobiološki profil listova sremuša, melasa šećerne repe se pokazala kao superiorniji osmotski rastvor u odnosu na vodeni rastvor saharoze i natrijum hlorida.

Prema usvojenom eksperimentalnom planu formulisan je sirovinski sastav slanog keksa od integralnog speltinog brašna, koji je uključivao dodavanje svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša na 20°C, u trajanju od 4 sata, u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida i melasi šećerne repe, u količini od 0%, 1,25% i 2,5%, računato na brašno, kao i dodavanje organa u količini 0%, 0,5% i 1%, računato na brašno.

U toku druge faze eksperimentalnog rada izvršena je karakterizacija dobijenih uzoraka keksa u pogledu teksturalnih i senzornih karakteristika, instrumentalno određene boje, osnovnog hemijskog sastava i sadržaja mineralnih materija, ukupnog sadržaja fenola, flavonoida i tiosulfinata, kvalitativnog i kvantitativnog profila fenolnih jedinjenja, ukupne antioksidativne aktivnosti, sadržaja betaina i dijetnih vlakana, kao i antioksidativnosti nakon *in vitro* digestije, a u zavisnosti od udela i vrste dodataka u sirovinskom sastavu ispitivanog uzorka keksa.

Keks sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi je pokazao bolje nutritivne (hemijski i mineralni sastav), funkcionalne (antioksidativnost, sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i tiosulfinata) i teksturalne (čvrstoća i lomljivost) karakteristike u odnosu na keks sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova u vodenom rastvoru šećera i soli, što ide u prilog efikasnosti i opravdanosti postupka osmotske dehidracije listova sremuša u nusproizvodu industrije šećera- melasi. Na osnovu rezultata senzorne analize se može zaključiti da je ukus slanog keksa sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u melasi prijatan i prihvatljiv ocenjivačima, ali kompleksniji u odnosu na ostale uzorke keksa, zbog toga što povećava vrednosti deskriptora ukusa imirisa keksa na karamel, kao i deskriptora za zeljast miris. Kvalitativna i kvantitativna analiza fenolnog profila svežeg sremuša potvrdila je prisustvo derivata kamferola kao najdominantnijih, zatim derivata katehina, kao i derivata ferulne i hlorogenskih kiselina. Osmotska dehidracija u rastvoru saharoze i natrijum hlorida je uticala na smanjene početne koncentracije detektovanih derivata fenola, dok je osmotska dehidracija u melasi doprinela povećanju njihove koncentracije. Dodatak listova sremuša dehidrisanih u melasi u količini od 2,5% doprineo je većem sadržaju betaina u keksu u odnosu na kontrolni keks za 1,56 puta. Porcija od 100 g keksa od celog zrna brašna spelte sa dodatkom listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi obezbeđuje unos 843 mg betaina, što je više od preporučene dnevne doze koja iznosi 500 mg, prema preporuci Evropske komisije (Commission Regulation EU No. 432/2012). U odnosu na keks bez dodataka, sremuš osmotski dehidrisan u melasi je doprineo povećanju sadržaja ukupnih dijetnih vlakana u finalnom proizvodu za 10,27%, dok se udeo nerastvorljivih vlakana nije menjao. Istraživanja su pokazala da je najmanja aktivnost uklanjanja ABTS radikala nakon digestije zabeležena kod kontrolnog uzorka keksa (40%), a najveća kod keksa obogaćenog osmotski dehidrisanim listovima sremuša u melasi (63%).

Generalno, rezultati su pokazali da je moguća energetska efikasna i ekološki prihvatljiva proizvodnja slanog keksa od integralnog speltinog brašna, obogaćenog dodatkom listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi šećerne repe, pri čemu se poboljšava nutritivni i funkcionalni profil keksa, bez negativnih efekata na njegove teksturalne i senzorne karakteristike.

Ključne reči: listovi sremuša, osmotska dehidracija, melasa šećerne repe, keks, fenolna jedinjenja, antioksidativnost, betain, minerali, dijetna vlakna.

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Prehrambena tehnologija

UDK:664.844:635.26]:664.681(043.3)

OPTIMIZATION OF THE PROCESS OF OSMOTIC DEHYDRATION OF WILD GARLIC (*Allium ursinum* L.) LEAVES IN SUGAR BEET MOLASSES AND THEIR INFLUENCE ON THE QUALITY PROPERTIES OF BISCUIT

Abstract

The subject of this doctoral dissertation is the possibility of obtaining an innovative food product, which would contribute to the expansion of the existing assortment of confectionery products in the type of biscuits for consumers who care about nutrition, while at the same time finding the use value of the by-products of the food industry, in order to use its remaining nutritional benefits and reduce it. A new, nutritionally enriched biscuit based on spelt flour was created, through the production of which the secondary product of the sugar industry, sugar beet molasses, was revalued.

Wild garlic (*Allium ursinum* L.) has long been known as a medicinal plant with exceptional antimicrobial and antioxidant properties. Sulfuric and phenolic compounds are present in wild garlic leaves to a large extent, and the presence of numerous minerals, dietary fibers, volatile compounds, pigments, etc. also contributes to their great bioactive and nutritional importance. As an addition to biscuits, primarily in terms of nutrition, wild garlic leaves are a potentially good raw material, with the limiting factor being the high water content and short seasonal availability of this plant. By osmotic dehydration of wild garlic leaves, a dehydrated semi-product of prolonged sustainability is obtained, with a significantly higher content of dry matter, which can be added in a larger amount to the raw composition of biscuits without damaging the structure of the dough and which is available for a longer period of time for the production of salty biscuits.

Osmotic dehydration, an effective method for reducing the water content in food raw materials (over 50%), has advantages from the economic, ecological and nutritional aspects, such as: low process temperature, low energy consumption and minimum treatment of raw material. Sugar beet molasses, a highly concentrated liquid mixture of sugar and numerous valuable compounds such as minerals, betaine, polyphenols, can be easily implemented in the osmotic dehydration process, and due to its favorable nutritional composition, which enriches the dehydrated material, it has proven to be an excellent alternative to the usual osmotic solutions.

During the first phase of the experimental work, the procedure of osmotic dehydration of wild garlic leaves was carried out in two osmotic solutions: an aqueous solution of sucrose and sodium chloride and sugar beet molasses, at the following process parameters: temperature 20°C, 35°C and 50°C and a duration of the process of 1, 2.5 and 4 hours. The influence of the applied osmotic solution, temperature and duration of osmotic dehydration on the parameter describing the mass transfer during the process was examined. Based on the examination of the effect of osmotic dehydration (20°C, 4 h) and the used solution on the content of chemical and mineral components, total phenols and thiosulfates, as well as on the microbiological profile of wild garlic osmotically dehydrated leaves, sugar beet molasses proved to be a superior osmotic solution compared to an aqueous solution of sucrose and sodium chloride.

According to the adopted experimental plan, the composition of salty biscuit from spelt wholegrain flour was formulated, which included the addition of fresh and osmotic dehydrated leaves of wild garlic at 20°C, for 4 hours, in an aqueous solution of sucrose and sodium chloride and sugar beet molasses, in the amount of 0 %, 1.25% and 2.5%, based on flour, and the addition of oregano in the amount of 0%, 0.5% and 1%, based on flour.

During the second phase of the experimental work, the obtained biscuit samples were characterized in terms of textural and sensory characteristics, instrumentally determined color, basic

chemical composition and content of mineral substances, total content of phenols, flavonoids and thiosulfinates, qualitative and quantitative profile of phenolic compounds, total antioxidant activity, content of betaine and dietary fiber, and antioxidant capacity after *in vitro* digestion, and depending on the share and type of additives in the raw composition of the tested biscuit sample.

The biscuit with the addition of osmotically dehydrated leaves in molasses showed better nutritional (chemical and mineral composition), functional (antioxidation, total phenols, flavonoids and thiosulfinates) and textural (firmness and brittleness) characteristics compared to the biscuit with the addition of osmotically dehydrated leaves in sugar and salt solution, which supports the efficiency and justification of the procedure of osmotic dehydration of wild garlic leaves in the by-product of the sugar industry - molasses. Based on the results of the sensory analysis, it can be concluded that the taste of salty biscuits with osmotically dehydrated wild garlic leaves in molasses is pleasant and acceptable to the evaluators, but more complex compared to other biscuit samples, because it increases the values of the descriptors for the biscuit's taste and smell to caramel, as well as the descriptor for herbaceous odor. Qualitative and quantitative analysis of the phenolic profile of fresh wild garlic confirmed the presence of kaempferol derivatives as the most dominant, followed by catechin derivatives, as well as ferulic and chlorogenic acid derivatives. Osmotic dehydration in a solution of sucrose and sodium chloride affected the reduced initial concentrations of detected phenol derivatives, while osmotic dehydration in molasses contributed to an increase in their concentration. The addition of wild garlic leaves dehydrated in molasses in the amount of 2.5% contributed to a higher content of betaine in the biscuit compared to the control biscuit by 1.56 times. A portion of 100 g of biscuits made from wholegrain spelt flour with the addition of wild garlic osmotically dehydrated in molasses provides an intake of 843 mg of betaine, which is more than the recommended daily dose of 500 mg, according to the recommendation of the European Commission (Commission Regulation EU No. 432/2012). Compared to biscuits without additives, wild garlic osmotically dehydrated in molasses contributed to an increase in the content of total dietary fiber in the final product by 10.27%, while the share of insoluble fiber was not affected. Research has shown that the lowest ABTS radical removal activity after digestion was recorded in the control biscuit sample (40%), and the highest in the biscuit enriched with osmotically dehydrated sedum leaves in molasses (63%).

In general, the results showed that it is possible, in an energy-efficient and environmentally friendly way to produce salty biscuits from wholegrain spelt flour, enriched with the addition of wild garlic leaves osmotically dehydrated in sugar beet molasses, with an improved nutritional and functional profile.

Keywords: wild garlic leaves, osmotic dehydration, sugar beet molasses, biscuit, phenolic compounds, antioxidant, betaine, minerals, dietary fiber.

Scientific field: Biotechnical sciences

Specific scientific field: Food technology

UDK:664.844:635.26]:664.681(043.3)

Izjave zahvalnosti

Iskrenu zahvalnost dugujem mentorima, prof. dr Jovanki Laličić-Petronijević i dr Vladimiru Filipoviću na strpljenju, sugestijama, nesebičnoj podršci i pomoći.

Članovima komisije, dr Milici Nićetin, dr Margariti Dodevskoj i dr Violeti Knežević, na pomoći i korisnim savetima, koji su doprineli poboljšanju kvaliteta ove doktorske disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem i docentu dr Ivani Lončarević, dr Aleni Stupar i dr Jovani Kojić na velikoj pomoći tokom celog procesa izvođenja oglada.

Zahvaljujem se Viktoru, Aleksandru i Juliji za sve što su učinili za mene, na svim poljima.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
Osmotska dehidracija	3
Faktori uticaja na prenos mase tokom osmotske dehidracije	4
Melasa šećerne repe	5
Antioksidativna svojstva melase	7
Sremuš kao sirovina za osmotsku dehidraciju i dodatak keksu	8
Botaničke karakteristike sremuša	8
Nutritivni značaj sremuša	9
Farmakološki značaj sremuša	10
Anitimikrobna aktivnost sremuša	11
Hemijski sastav sremuša	11
Sumporne komponentne sremuša	12
Fenolne komponente u sremušu	13
Mineralne komponente u sremušu	16
Keks	17
Spelta	18
Hemijski sastav spelte	19
Tehnološka svojstva speltinog brašna	20
Betain	21
Origano	24
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	27
4. MATERIJAL I METODE	28
Materijal	28
Sremuš kao sirovina za proces osmotske dehidracije i pripremu keksa	28
Sirovine za pripremu rastvora za osmotsku dehidraciju	29
Materijal za izradu slanog keksa	29
Postupak osmotske dehidracije	29
Priprema keksa	30
Metode	31
Određivanje mase uzoraka	31

Određivanje sadržaja suve materije	31
Kalkulacija parametara osmotske dehidracije	32
4.4. 4. Određivanje vrednosti aktivnosti vode (a_w)	32
Ispitivanje mikrobiološkog profila.....	32
Ispitivanja hemijskog sastava	33
Određivanje sadržaja minerala.....	33
Određivanje sadržaja ukupnih fenola, flavonoida i tiosulfata.....	33
Priprema ekstrakata za određivanje sadržaja fenolna i flavonoida	33
Spektrofotometrijsko određivanje sadržaja ukupnih polifenola.....	33
Spektrofotometrijsko određivanje sadržaja ukupnih flavonoida.....	34
Identifikacija i kvantifikacija polifenola tečnom hromatografijom (HPLC-DAD)....	34
Određivanje ukupnih tiosulfina.....	34
4 4.9. Određivanja antioksidativne aktivnosti	35
Instrumentalno određivanje karakteristika kvaliteta boje uzoraka keksa	35
Instrumentalno određivanje teksture uzoraka keksa	36
Senzorna analiza uzoraka keksa	36
Određivanje sadržaja betaina	36
Određivanja sadržaja dijetnih vlakana.....	37
Metoda <i>in vitro</i> digestije	37
Statistička analiza	38
5. REZULTATI I DISKUSIJA	39
Uticaj odabranih procesnih parametara osmotske dehidracije listova sremuša na posmatrane odzive procesa	39
Kinetički parametri osmotske dehidracije listova sremuša (WL i SG).....	40
Sadržaja suve materije (DMC) u osmotski dehidrisanim listovima sremuša.....	43
Aktivnost vode (a_w) u osmotski dehidrisanim listovima sremuša	43
Statistička značajnost uticaja procesnih parametara na odzive osmotske dehidracije listova sremuša.....	45
Uticaj osmotske dehidracije na mikrobiološki profil listova sremuša	50
Uticaj osmotske dehidracije na hemijski sastav listova sremuša	51
Uticaj osmotske dehidracije na antioksidativnu aktivnost listova sremuša	54
Uticaj osmotske dehidracije na ukupne fenole, flavonoide i tiosulfinate u listovima sremuša	55
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na pojedina svojstva keksa	58

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na teksturu keksa.....	58
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na promenu boje keksa.....	65
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na promenu hemijskog sastava keksa	72
. Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na promenu mineralnog sastava keksa	81
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na antioksidativna svojstva keksa	89
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na senzorna svojstva keksa.....	93
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na ukupne fenole, flavonoide i tiosufinate u keksu	96
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na kvalitativni i kvantitativni profil polifenola u keksu.....	97
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na promenu sadržaja betaina u keksu.....	100
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na promenu sadržaja dijetnih vlakana u keksu.....	101
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na antioksidativnu aktivnost keksa nakon <i>in vitro</i> digestije	102
6. ZAKLJUČAK	104
7. LITERATURA	108

1. UVOD

Savremeni nutritivni pravci u prehrambenoj industriji zasnivaju se na principima uravnotežene, zdrave ishrane i podržavaju obogaćivanje proizvoda u cilju unapređenja njihove nutritivne i funkcionalne vrednosti. Postoji rastuća potražnja za inovativnim prehrambenim proizvodima koji sadrže bioaktivne komponente sa dokazanim pozitivnim delovanjem na ljudsko zdravlje.

Prilikom koncipiranja nove vrste proizvoda potrebno je, pored poboljšanja krajnjeg kvaliteta sa nutritivnog i zdravstvenog aspekta, voditi računa da teksturalna i senzorna svojstva budu u skladu sa očekivanjima potrošača. Pored toga, bitno je usmeriti pažnju na ekonomičnost samog postupka proizvodnje, koja se ogleda u nižim energetske troškovima i korišćenju alternativnih sirovina, koje su jeftinije u odnosu na komercijalno dostupne. U poslednje vreme, u posebnoj fokusu je mogućnost upotrebe sekundarnih proizvoda prehrambene industrije i agroindustrijskih ostataka, kao izvora prirodnih antioksidanata i drugih potencijalno funkcionalnih sastojaka, koji mogu obogatiti razne prehrambene proizvode. Na ovaj način bi se povećala upotrebna vrednost nusproizvoda prehrambene industrije, a smanjio ekološki problem njihovog odlaganja.

Keks je poznat i rado konzumiran proizvod u celom svetu, među svim starosnim grupama potrošača, zbog svog dugog roka trajanja i pristupačne cene. Međutim, ova vrsta proizvoda najčešće je siromašna mineralnim materijama, bioaktivnim jedinjenjima i dijetnim vlaknima. Ipak, u pogledu poboljšanja nutritivnog profila i funkcionalnosti proizvoda, keks bi mogao da bude dobar kandidat, jednostavnim dodatkom nutritivno vrednih sirovina ili bioaktivnih sastojaka u njegov sirovinski sastav. Glavni izazov prilikom proizvodnje novog proizvoda, keksa obogaćenog funkcionalnim komponentama, je da uprkos dodavanju aktivnih sastojaka ne dođe do -opadanja kvaliteta očekivanog od strane potrošača.

Sremuš (*Allium ursinum* L.) se od davnina koristi u tradicionalnoj medicini kao lekovita biljka koja jača snagu i regeneriše organizam. Poslednjih godina listovi sremuša sve više dobijaju na nutritivnom i farmakološkom značaju, jer su brojna naučna istraživanja potvrdila njihova izuzetna antimikrobna i antioksidativna svojstva. Funkcionalnim i bioaktivnim svojstvima listova sremuša najviše doprinose prisutna sumporna i fenolna jedinjenja, a takođe i minerali, vitamini, dijetna vlakna, isparljiva jedinjenja, pigmenti itd.

Sremuš je potencijalno dobra sirovina za inkorporiranje u keks u cilju unapređenja njegovog nutritivnog sastava, ali usled visokog sadržaja vode u svežim listovima i kratke sezone dostupnosti, u literaturi nisu pronađeni podaci o upotrebi svežeg sremuša u konditorskim proizvodima, kao što je slani keks. Uključivanjem metoda dehidracije bi se produžila dostupnost sremuša kao sezone sirovine, i dobio dehidrisani poluproizvod produžene održivosti, koji bi bio dostupan tokom dužeg vremenskog perioda za proizvodnju slanog keksa. Takođe, uklanjanjem vode iz listova svežeg sremuša, dobijaju se dehidrisani listovi znatno većeg sadržaja suve materije koji se mogu dodati u većoj količini u sirovinski sastav keksa, bez narušavanja strukture testa.

Osmotska dehidracija kao efikasan metod za smanjenje sadržaja vode u različitim biološkim materijalima (i preko 50%), ima mnogo prednosti sa ekonomskog, ekološkog i nutritivnog aspekta kao što su: niske procesne temperature, prihvatljiv otpadni materijal, niska potrošnja energenata i minimalno tretiranje polazne sirovine. Melasa šećerne repe, visokokoncentrovana tečna mešavina

šećera i mnogih vrednih jedinjenja poput minerala, betaina, polifenola, koja zaostaje nakon industrijske prerade šećerne repe, se može upotrebiti kao osmotski rastvor u procesu osmotske dehidracije. Kao sporedni proizvod prehrambene industrije koji dobija svoju upotrebnu vrednost, usled jednostavne i jeftine implementacije u procesu osmotske dehidracije i zbog svog povoljnog nutritivnog sastava kojim obogaćuje dehidrisani materijal, melasa šećerne repe se pokazala kao odlična alternativa uobičajenim osmotskim rastvorima.

2. PREGLED LITERATURE

Osmotska dehidracija

Voće, povrće i lekovite biljke, kao izvori vrednih sastojaka su važni u ishrani ljudi, ali su izuzetno sklони mikrobiološkom kvarenju usled visokog sadržaja vode, uglavnom većeg od 80% (Embascado, 2015; Leahu i sar., 2020). Smanjivanje sadržaja vlage tokom sušenja, a samim tim i vrednosti aktivnosti vode, omogućava da se mikrobiološka aktivnost u biljnom materijalu stabilizuje, kao i da se kontrolišu i drugi štetni procesi koji dovode do kvarenja, poput enzimskih i neenzimskih reakcija, lipidne oksidacije, tamnjenja i sl. (Kaur i sar., 2022).

Konvektivno sušenje, kao najzastupljeniji vid sušenja negativno utiče na kvalitet osušenog proizvoda tako što menja njegovu boju i ukus, dovodi do deformacija u strukturi (skupljanja i očvršćavanje površine) i uzrokuje gubitke nutrijenata (Yadav i Singh, 2014). Neželjene promene originalnog ukusa i arome, teksture, boje i nutritivnog sastava polazne sirovine u velikoj meri se mogu izbeći primenom osmotske dehidracije, koja ne zahteva visoke radne temperature. Pored toga, ukupna energetska potrošnja u procesu osmotske dehidracije je dva do tri puta manja u odnosu na konvektivno sušenje (Hereida i sar., 2009; Mišljenović i sar., 2012; Champawat i sar., 2019).

Brojne studije su pokazale da se osmotskom dehidracijom dobijaju delimično osušene namirnice u kojima je početni sadržaj vlage smanjen i do 50%, sa minimalnim oštećenjima ćelija i strukture tkiva i visokim nivoom zadržavanja nutrijenata i ukusa (Osorio i sar., 2007; Akbarian i sar., 2014). Osmotski dehidrisano voće i povrće može da se upotrebi za direktno konzumiranje ilikao sastojak različitih prehrambenih proizvoda (sladoleda, želea, soseva, jogurta, raznih pekarskih i snek proizvoda) (Ahmed i sar., 2016).

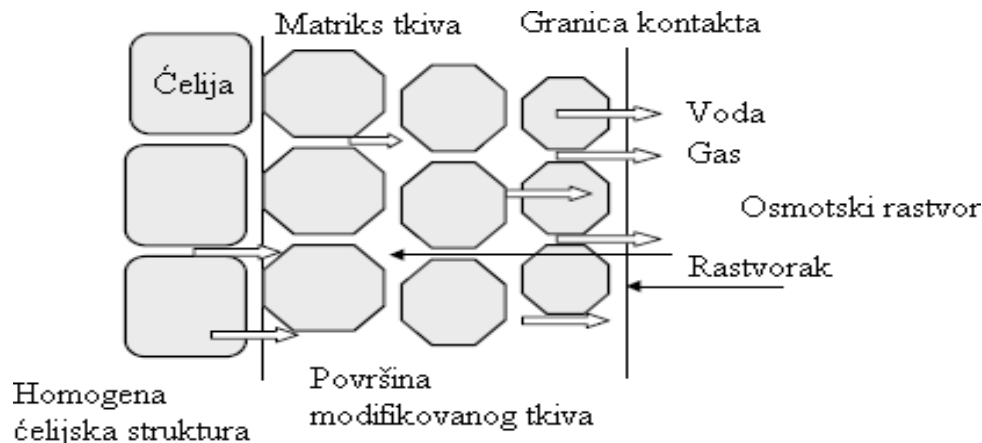
Osmotska dehidracija podrazumeva potapanje svežeg biljnog ili životinjskog materijala u visokokoncentrovane osmotske rastvore, pri čemu nastaje fenomen multikomponentnog masenog transfera između materijala i rastvora, usled razlika u njihovim osmotskim pritiscima i koncentracijama (Tonon i sar., 2007; Devic i sar., 2012). Polupropustljiva priroda ćelijskih membrana i mala veličina molekula vode uslovljavaju difuziono oticanje vode iz potopljenog materijala u okolni hipertonični rastvor (slika 1).

Istovremeno, zajedno sa vodom dolazi do isticanja niskomolekularnih komponenti prisutnih u ćelijskom soku kao što su minerali, organske kiseline, bojene i aromatične materije iz materijala u rastvor koji ga okružuje. Gubitak vode je posebno intenzivan na početku procesa, kada je najveći koncentracioni gradijent sa suprotnih strana membrana, površinskih slojeva tkiva koje se dehidrira, a nakon 6 sati procesa vodeni tok se znatno usporava i približava ravnotežnim uslovima (Filipović i sar., 2012; Ahmed i sar., 2016).

U suprotnom pravcu od transfera vode, odigrava se difuzija rastvorenih supstanci iz osmotskog rastvora u tretirani materijal (slika 1). Ovaj tok nije toliko izražen u inicijalnom stadijumu, ali kako proces dehidracije napreduje, impregnacija prehrambenog materijala osmoaktivnim supstancama iz rastvora je sve veća.

Dva dominantna masena toka su izdvajanje vode iz materijala potopljenog u osmotski rastvor i usvajanje dela suve materije iz rastvora od strane materijala podvrgnutog osmotskom tretmanu. U odnosu na ove tokove, isticanje minerala i drugih komponenata iz ćelijskog soka materijala je

kvantitativno neznatno, ali ipak ima uticaj na finalni nutritivni kvalitet osmotski dehidrisane namirnice. Voda iz prehrambene sirovine se uklanja uglavnom kapilarnim tokom ili dizufijom, dok se druga dva masena toka odvijaju isključivo difuzijom (Koprivica i sar., 2014; Yadav i Singh 2014; Kvapil i sar., 2020).



Slika 1. Šematska ilustracija masenih tokova tokom procesa osmotske dehidracije (Filipović, 2020)

Osmotska dehidracija je energetski nezahtevan proces koji se može efikasno odvijati i na sobnoj temperaturi, a s obzirom da se voda iz prehrambenog materijala uklanja u tečnom stanju, nije potrebna dodatna energija za fazni prelaz (Filipović i sar., 2017). Prednost u poređenju sa konvencionalnim metodama sušenja ogleda se i u tome što je namirnica tokom procesa konstantno potopljena u osmotski medijum, pa biljno ili životinjsko tkivo nije izloženo kiseoniku, što isključuje potrebu za antioksidansima i konzervansima, koji ga štite od nepoželjnih oksidativnih i enzimskih promena (Akbarian i sar., 2014; Landim i sar., 2016). U slučaju da se osmotska dehidracija koristi kao predtretman, u značajnoj meri skraćuje vreme i smanjuje potrebnu energiju u narednim koracima sušenja (Nowicka i sar. 2015; Filipović i sar., 2022).

Faktori uticaja na prenos mase tokom osmotske dehidracije

Faktori koji mogu uticati na veći stepen dehidracije sirovine su:

- visoke koncentracije osmotskog rastvora sa rastvorenim supstancama manjih molekula,
- primena većih temperatura i mešanja tokom procesa,
- uključivanje pomoćnih tehnika poput pulsno električnog polja, visokog pritiska, ultrazvuka, centrifugalne sile i sl., koje povećavaju permeabilnost ćelijske membrane i brzinu masenog transfera (Ahmed i sar., 2016).

Povećanje temperature ubrzava gubitak vode iz materijala, dok na usvajanje rastvorenih supstanci iz osmotskog medijuma manje utiče. Veći i brži gubitak vode na višim temperaturama povezan je sa narušavanjem strukture ćelijske membrane i smanjenim visozitetom rastvora, što olakšava maseni transport za vreme procesa (Šuput i sar., 2015; Almeida i sar., 2015). Na osnovu literaturnih podataka, temperatura procesa do 50°C ograničava pogoršanje ukusa, teksture, gubitak termolabilnih komponenti i pojavu enzimskog tamnjenja, dok je 60°C granična temperature iznad koje dolazi do oštećenja tkiva koje se dehidrira (Akbarian i sar., 2014).

Kako bi se izbeglo veće lokalno razblaženje osmotskog rastvoradifundovanom vodom iz materijala, koje će posleđično uticati na smanjenje pogonske sile tokom procesa, preporučljiv je veći odnos materijal/osmotski rastvor (1:10 do 1:60). Neki istraživači su koristili znatno niže odnose (1:2 do 1:5) u cilju posmatranja masenog transfera, putem promena u koncentraciji rastvora, kao i iz praktičnih i ekonomičnih razloga (Akbarian i sar., 2014; Kvapil i sar., 2020).

Kako bi se poboljšao maseni transfer, i sprečilo isplivavanje uzoraka materijala koji se dehidrira na površinu viskoznog osmotskog rastvora, čime se ometa kontakt između materijala i rastvora, poželjno je primeniti operaciju mešanja tokom procesa. Mešanjem ili cirkulacijom osmotskog rastvora oko uzorka postiže se bolja homegenizacija vode difundovane iz uzorka sa rastvorom i održava visok koncentracioni gradijent i konstantan kontakt površine uzorka i rastvora.

Vrsta, zrelost, struktura i kompaktnost tkiva materijala koji se osmotski dehidrira, kao i oblik, veličina, odnos specifične površina i debljine uzorka, takođe utiču na intenzitet prenosa mase tokom procesa (Rastogi i sar., 2002; Akbarian i sar., 2014).

Cena, senzorna kompatibilnost sa krajnjim proizvodom i dodatni konzervišući efekat su faktori koji se uzimaju u obzir prilikom odabira osmotskog rastvora za određeni prehrambeni materijal (Ahmed i sar., 2016). Dve najčešće korišćene rastvorene supstance za pripremu osmotskih rastvora su šećer (saharoza, fruktoza, glukozni sirup, sorbitol, maltodekstrin), za dehidraciju voća i so (natrijum hlorid, kalcijum hlorid) za osmotsku dehidraciju povrća i mesa. Mnogi autori su pokazali da se kombinacijom šećera i soli dobijaju najbolji osmotski rastvori u smislu efikasnosti procesa (veći gubitak vode i manje usvajanje suve materije iz rastvora), pogodnosti pripreme rastvora (postizanje veće koncentracije bez dostizanja granice zasićenja) i uticaja na ukus osmotski dehidrisane sirovine. Dodavanje soli u rastvor saharoze smanjuje aktivnost vode dobijenog osmotskog rastvora, a molekuli soli zbog svojih malih težina dublje penetriraju u tkivo koje se dehidrira i ometaju formiranje sloja saharoze na površini materijala, što olakšava maseni transfer (Serenio i sar., 2001; Mirzay i sar., 2018; Champawat i sar., 2019; Kvapil i sar., 2020).

Skorija istraživanja su pokazala da melasa šećerne repe može da se upotrebi kao vrlo efikasan osmotski rastvor za osmotsku dehidraciju voća, povrća i mesa (Filipović i sar., 2012; Koprivica i sar., 2014; Kaur i sar., 2022). Melasa je jeftina sirovina, dostupna u velikim količinama, a i pored visokog sadržaja suve materije nalazi se u tečnom stanju, pa je sa tehnološkog stanovišta njena implementacija u procesu osmotske dehidracije jednostavna i može se koristiti kao osmotski rastvor bez prethodne pripreme. Ipak bogati nutritivni sastav melase i mogućnost obogaćivanja osmotski dehidrisanih proizvoda mineralima i drugim vrednim jedinjenjima iz melase je najvažnija prednost njene primene u osmotskom tretmanu (Mišljenović i sar., 2012; Lončar i sar., 2022).

Melasa šećerne repe

Melasa je gusti, tamni, viskozni sirup koji zaostaje kao nusproizvod nakon industrijske prerade šećerne repe (*Beta vulgaris* var. *saccharifera*) ili šećerne trske (*Saccharum officinarum* L.), kada iz ove sirovine više nije moguće izdvojiti šećer na ekonomičan način. To je polikomponentni sistem, sa širokim varijacijama u nutritivnom sadržaju, u zavisnosti od sastava i kvaliteta početne sirovine, kao i različitih tehnoloških procedura primenjenih tokom faza ekstrakcije, čišćenja, uparavanja i kristalizacije (Šimurina i sar., 2006; Mišljenović i sar., 2012; Shafiqa-Atikah i sar., 2020).

Melasa je tečni koncentrat fermentabilnih šećera (saharoza, glukoza i fruktoza) i nešećernih komponenata koje se nisu istaložile tokom čišćenja difuzionog soka, kao i jedinjenja dobijenih

hemijskim i enzimskim reakcijama tokom prerade, kao što su mlečna kiselina, kratkolančane masne kiseline, produkti Majardovih reakcija i Štrekerove degradacije. Prema istraživanju različitih autora, sadržaj suve materije u melasi je visok i kreće se u rasponu od 74-85%. Od oko 50% prisutnih ukupnih šećera, saharoza je najzastupljenija, dok se u manjim količinama mogu naći rafinoza (1%), glukoza (0,25%) i fruktoza (0,25%) (Filipčev i sar., 2012; Koprivica i sar., 2014; Šarić i sar., 2016). Da bi se melasa smatrala adekvatnom, važeća nacionalna regulativa, Pravilnik o prehrambenim aditivima (Službeni glasnik RS, 53/2018) propisuje da minimalni sadržaj suve materije mora biti 76,3%, sadržaj šećera ne sme biti manji od 46%, pH ne manji od 6,8, a maksimalno dozvoljena količina sadržaja sumpor dioksida iznosi 70 mg/kg.

Preko 200 raznovrsnih, nešećernih jedinjenja doprinosi podobnosti i kvalitativnom profilu melase kao sirovine u prehrambenoj, prerađivačkoj i fermentativnoj industriji. Nešećerne komponente melase (oko 30% u melasi) mogu se podeliti u tri glavne grupe: neorganska jedinjenja (oko 33%), organska azotna jedinjenja (oko 40%) i organska jedinjenja bez azota (oko 20%). Od ukupnih azotnih materija u melasi, jednu trećinu predstavlja betain (preko 6%), a ostatak čine proteini (oko 5%), amidi, slobodne amino kiseline (oko 4%), melanoidini (oko 1,5%), holin, purin, pirimidin, citozin, gvanozin i u malom procentu soli amonijaka (Jevtić-Mučibabić i sar., 2011; Krulj i sar., 2014). Aminokiselina koja u najvećem procentu ulazi u sastav proteina melase je glutaminska kiselina, a od esencijalnih aminokiselina moguće je prisustvo valina, lizina, fenilalanina, izoleucina i leucina. U bezazotne organske komponente u melasi šećerne repe ubrajaju se organske kiseline, pektini, galaktani, dekstrani, levani, arabani, proizvodi karamelizacije. Najdominantnija organska kiselina u melasi je mlečna kiselina, zatim oksalna, a u manjim količinama se mogu naći i isparljive kiseline (mravlja, sirćetna, propionska i buterna) i njihova jedinjenja (Šarić i sar., 2016; Filipčev i sar., 2016a). Važne nešećerne komponente melase čine i vitamini B kompleksa (inozitol, tiamin, riboflavin, biotin) i druga bioaktivna jedinjenja poput flavonoida. U najvažnija neorganska jedinjenja u melasi šećerne repe spadaju minerali od kojih je daleko najzastupljeniji kalijum (u proseku 3,6%), zatim natrijum, kalcijum, magnezijum, i mikroelementi gvožđe i bakar (tabela 1). Mineralne komponente u melasi su rastvorene i lako se apsorbuju u organizmu (Sauvant i sar., 2004; Koprivica i sar., 2014; Nićetin i sar., 2019).

Tabela 1. Sastav pojedinih mineralnih komponenata u melasi šećerne repe

Sadržaj minerala (mg/100g)					Referenca
K	Na	Ca	Mg	Fe	
3920	680	100	50	11,7	Sauvant i sar., 2004.
3920	1300	100	320	11,7	Grbeša, 2004.
4060	591	185	86	4,4	Nićetin i sar., 2019.

Melasa sadrži sve neophodne nutrijente (fermentabilne šećere, azotne materije, minerale, vitamine) za ishranu i rast kvasaca i drugih mikroorganizama, pa se obilato koristi kao fermentabilna sirovina ili podloga u industrijama za proizvodnju etanola, pekarskog kvasca, limunske kiseline, lizina, natrijum-glutaminata, antibiotika i enzima. U prehrambenoj industriji se melasa šećerne trske koristi najviše u pekarskoj i konditorskoj industriji, kao prirodni zaslađivač i zdravija zamena saharoze, prirodni kolorant u proizvodima koji zahtevaju tamniju boju ili maskiranje nepoželjnih nijansi, ili za poboljšanje krajnje arome nekih proizvoda sa kojima se dobro uklapa njen slatko-gorak ukus na karamel. Primena melase šećerne repe u prehrambene svrhe je ograničena zbog oštrije arome i neprivlačnog, zemljanog ukusa (Mišljenović i sar., 2012; Krulj i sar., 2014; Šarić i sar., 2016). Ipak, brojne studije supkazale da je moguće inkorporirati melasu šećerne repe u razne prehrambene proizvode, bez većeg narušavanja njihovog ukusa i senzorne prihvatljivosti (Filipčev i sar., 2010; Filipović i sar., 2022; Lončar i sar., 2022). Melasa šećerne repe je dodata u proizvode poput hleba, u udelima od 5 do 10% (računato na količinu brašna), zatim čajnog peciva 5-20% i kao zamena za medu

formalaciji biskvita (Šimurina i sar., 2006; Filipčev i sar., 2010; Filipčev i sar., 2012). Navedeni prehrambeni proizvodi obogaćeni melasom pokazali su unapređen mineralni i antioksidativni profil (Filipčev i sar., 2010, 2012, 2016a).

Antioksidativna svojstva melase

Među aditivima koji se koriste u svrhu konzerviranja u prehrambenoj industriji, za sintetičke antioksidanate (posebno butilhidroksianizol -BHA i butilhidroksitoluen -BHT) je dokazano da mogu da imaju toksične i kancerogene efekte, pa su tehnološki pravci okrenuti ka otkrivanju i istraživanju prirodnih konzervanasa hrane, kako bi se ograničila upotreba sintetičkih antioksidanata (Caleja i sar., 2017; Shafiqua-Atikah i sar., 2020). Prirodni antioksidansi iz hrane su jedinjenja koja mogu značajno da uspore ili čak spreče oksidaciona oštećenja, a pored toga što čuvaju svežinu i produžavaju rok upotrebe hrane, imaju i pozitivno fiziološko delovanje na ljudsko zdravlje (Zhang i sar., 2017). Naročito značajna je mogućnost iskorišćenja agroindustrijskih ostataka, sporednih produkata u prehrambenim industrijama i ostataka tokom prerade, kao što su tropovi voća, ljuske žita, semenke i pokožice voća i povrća, melasa šećerne repe i trske i dr., kao izvora prirodnih bioaktivnih jedinjenja (Guimarães i sar., 2007; Zhang i sar., 2017). Dokazano je da ovi sekundarni proizvodi industrijske prerade mogu sadržati znatne količine fenolnih jedinjenja koje je moguće uspešno ekstrahovati i njima obogatiti razne prehrambene proizvode (Zhang i sar., 2017; Molina-Cortés i sar., 2020). Na ovaj način pored nutritivne i zdravstvene dobiti, rešava se i ekološki problem nagomilavanja otpada iz prehrambene industrije.

Eksperimentalna potvrda da melasa poseduje obećavajući antioksidativni potencijal u radu Molina-Cortés i sar. (2020), otvara novu perspektivu u kojoj se otpadni proizvod industrije šećera, transformiše u vredan prehrambeni materijal sa potencijalnim terapijskim značajem. Iako antioksidativnost melase šećerne repe i trske nije u velikom obimu istraživana, do sada izvedene studije nedvosmisleno potvrđuju da je melasa odličan izvor prirodnih antioksidanata (Payet i sar., 2006; Takara i sar., 2007; Guimarães i sar., 2007).

Pored brojnih nutritivno vrednih jedinjenja u melasi zaostaju i antioksidativne komponente iz sirovine (šećerne repe ili trske), kao što su fenolna jedinjenja. Takođe, antioksidativna jedinjenja mogu da se generišu i tokom procesa industrijske prerade, što se pre svega odnosi na obojene proizvode termalne ili alkalne degradacije šećera i Majardovih reakcija (melanoidine). Produkti neenzimskog tamnjenja –melanoidini, formiraju se u velikom broju, kao posledica reakcija redukujućih šećera i aminokiselina, u rasponu od malih organskih komponenti do kompleksnih aromatičnih polimera (Guimarães i sar., 2007; Valli i sar., 2012). Upravo melanoidini su u najvećoj meri odgovorni za boju i ukus melase, a potvrđeno je da imaju antioksidativna svojstva, ometaju lipidnu oksidaciju i blagotvorno deluju na ljudski imuni sistem (Borelli i sar., 2002; Milutinović i sar., 2013).

Obojeni produkti iz melase šećerne repe uglavnom nastaju za vreme industrijske obrade, alkalnom razgradnjom invertnog šećera i stvaranjem melanoidina, dok su koloranti šećerne trske uglavnom biljni pigmenti i polisaharidi povezani sa fenolima, što je mogući uzrok veće ukupne antioksidativnosti melase šećerne trske. Valli i sar. (2012) su utvrdili da koncentracija melase šećerne trske potrebna da inhibira količinu DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikala za 50% iznosi 1,47 mg/ml, dok je za melasu šećerne repe ova vrednost veća i iznosi 7,25 mg/ml.

Ipak glavni nosioci koji najviše doprinose ukupnom antioksidativnom kapacitetu melase su fenolna jedinjenja. Maestro-Durán i sar. (1996) su potvrdili prisustvo 8 fenolnih kiselina u melasi šećerne repe, od kojih su šest benzojeve kiseline (galna, protokatehinska, *p*-hidroksibenzoeva,

salicilna, vanilinska i siringinska) i dve cimetne kiseline (*p*-kumarinska i ferulinska). Takođe su identifikovali i fenolne aldehide (protokatehinski aldehid, hidroksibenzaldehid i vanilinski aldehid) i fenolni alkohol (gvajakol). Poredeći fenolni sastav melasa šećerne repe i trske, Valli i sar. (2012) su došli do zaključka da su najzastupljenija fenolna jedinjenja u melasi šećerne repe ferulna kiselina, *p*-hidroksibenzoeva kiselina, vanilin, luteolin i kamferol i hidroksibenzoev aldehid, dok su ista jedinjenja u manjoj meri zastupljena u melasi šećerne trske, u kojoj dominira siringinska kiselina. U ekstraktima melase šećerne trske Guimarães i sar. (2007) identifikovali su ferulnu, siringinsku, vanilinsku i *p*-hidroksibenzoevu kiselinu, Shafiga-Atikah i sar. (2020) apigenin, kininsku, taninsku i galnu kiselinu, a Asikin i sar. (2013) takođe i glukozide apigenina (šaftozide), *p*-hidroksibenzoev aldehid i *p*-hidroksi-acetonfenon. Fenolni profilu ekstraktima melase šećerne repe, prema istraživanju Chen i sar., 2016, uključuje sledeće fenole i glukozide antocijana: galna, *p*-hidroksibenzoeva, vanilinska, siringinska i ferulna kiselina, katehin, cijanidin-3-O-rutinozid, cijanidin-3-O-glukozid, delfinidin-3-O-rutinozid i delfinidin-3-O-glukozid.

Pored visoke antioksidativne aktivnosti, neke studije su potvrdile anti-inflamatorno, antimikrobno i antikancerogeno delovanje melase kao i njeno zaštitno dejstvo protiv oksidativnih oštećenja DNK (Guimarães i sar., 2007; Asikin i sar., 2013; Chen i sar., 2017). U istraživanju Chen i sar., 2015 dokazano je da galna kiselina, cijanidin-3-O-glikozid hlorid i epikatehin, izolovani iz melase šećerne repe, u velikom procentu utiču na inhibiciju kancerogenih ćelija debelog creva, dojke i jetre, pri čemu jecijanidin-3-O-glikozid hlorid ispoljio najjači citotoksični efekat. Prema nekim autorima, betain koji je u melasi zastupljen i do 6% i negov prekursor holin (oko 1%), takođe predstavljaju nosioce antioksidativnog kapaciteta, štite funkciju jetre, ćelije od apoptoze i organizam od dejstva slobodnih radikala (Ganesan i sar., 2007; Ross i sar., 2014).

Uključivanje melase u razne formulacije hrane, pokazalo se kao povoljno u smislu povećanja ukupne antioksidativnosti dobijenih proizvoda. Filipčev i sar. (2010), pokazali su da je hleb sa melasom šećerne repe kao suplementom (udeo od 5-15% računato na brašno) pokazao jači antioksidativni kapacitet u odnosu na kontrolni hleb. Dodatak melase šećerne repe (10-30%) doprineo je poboljšanom antioksidativnom statusu bezglutenskog keksa obogaćenog melasom, kao i povećanju sadržaja većine identifikovanih fenolnih jedinjenja u keksu, kao što su katehin, *p*-kumarinska, galnai ferulna kiselina (Filipčev i sar., 2015a).

Sremuš kao sirovina za osmotsku dehidraciju i dodatak keksu

Botaničke karakteristike sremuša

Allium je najveći i najrepresentativniji rod porodice *Alliaceae*, koji broji preko 600 biljaka različitog ukusa, oblika i boje ali sličnog biohemijskog, fitohemijskog i nutritivnog sastava. Pored dobro poznatog crnog i belog luka, postoji još nekoliko vrsta koje se zbog specifičnog ukusa i mirisa koriste u kulinarstvu, a zbog lekovitih svojstava u narodnoj medicini, među kojima je i sremuš (*Allium ursinum* L.) (Pejatović i sar., 2017). Sremuš predstavlja višegodišnju zeljastu biljku, široko rasprostranjenu u Evropi i Aziji, ali se ne može naći u većini oblasti u Rusiji i retko u mediteranskim regijama (Pavlović i sar., 2017; Krivokapić i sar., 2020). Samoniklo raste na plodnom zemljištu, vlažnim i senovitim mestima, najčešće ispod listopadnog drveća, blizu reka, potoka i močvara, u dolinama i visoravnima do 1900 m nadmorske visine (Ivanova i sar., 2009; Sobolewska i sar., 2015).

U Srbiji, sremuš formira gustu populaciju u bukovim šumama sa vlažnim i humusnim zemljištem, a za vreme vegetativnog perioda desetina hektara šumskog područja prekrivene su ovom biljkom. U formiranoj gustoj populaciji sremuš je dominantna vrsta, dok su druge biljke ili oskudnog rasta ili potpuno odsutne. Ova pojava ukazuje na aleopatski efekat sremuša. U površinskim slojevima

zemljišta akumuliraju se fenolni fitotoksini iz sremuša, koji inhibitorno deluju na klijanje, rast i fiziološke procese ostalih biljnih vrsta u zajednici (Đurđević i sar., 2004; Oszmiański i sar., 2013).



Slika 2. Izgled sremuša (*Allium ursinum* L.) (<https://www.bastabalkana>)

Kultivacija ove biljke je relativno zahtevna zbog specifičnih klimatskih i zemljišnih uslova, kao i sporog rasta i niske stope klijanja (Voća i sar., 2022). Aktivna faza rasta sremuša počinje u rano proleće, krajem februara ili početkom marta i traje narednih tri do četiri meseca (Tomšik i sar., 2016b; Krivokapić i sar., 2020). Lukovica je uska i dugačka od 1,5 do 6 cm (Schmitt i sar., 2005). Zeljasti deo biljke može da poraste do 50 cm visine, razvija 2-3 lista koja su kraća od uspravne stabljike, eliptičnog oblika koji se sužava pri dnu, ravne i glatke površine, sa zašiljenim vrhovima (Błażewicz-Woźniak i Michowska, 2011). Na vrhovima stabljike formiraju se štitaste cvasti koje se mogu sastojati od 3-30 snežnobelih cvetova, zvezdastog oblika (slika 2). Očekivani period cvetanja počinje u aprilu i završava se u prvoj polovini maja (Krivokapić i sar., 2020). Ponovni rast biljke odvija se posredstvom semena, a vegetativna regeneracija se dešava u zanemarljivoj meri (Sobolewska i sar., 2015). Seme je crno, 2-3mm široko, i skupljeno u trihotomskoj kapsuli (Oszmiański i sar., 2013).

Nutritivni značaj sremuša

S obzirom da sremuš još uvek nije kultivisan, i pored toga što ima dugu istoriju upotrebe u tradicionalnoj medicini, bio je zapostavljen u ljudskoj ishrani do pre nekoliko godina, kada je poraslo interesovanje i potražnja za prirodnim, lekovitim biljkama (Oszmiański i sar., 2013). Svež sremuš se može konzumirati kao salata, kivan kao povrće, a osušen kao začim, jer su svi delovi biljke jestivi i nutritivno bogati (Krivokapić i sar., 2018). U poslednje dve decenije povećano je konzumiranje i upotreba ove začinske biljke kao dodatka ishrani zbog brojnih dokazanih zdravstvenih benefita (Krivokapić i sar., 2020). Upotreba sremuša postaje sve popularnija u Nemačkoj i Češkoj, gde se u lokalnim marketima prodaje kao svež, ukišljen, usoljen (Bârlă i sar., 2014). Osušen sremuš, kao začinski dodatak raznim jelima, sosevima, namazima i siru, zastupljen je u kuhinjama centralne Evrope i Kine, u Rusiji je uobičajeno da se dodaje supama, a u Nemačkoj u salate (Sobolewska i sar.,

2015; Lachowicz i sar., 2017). U svom istraživanju, autori Voća i sar. (2022) sugeriraju da je za prehrambene svrhe najbolje lišće sremuša ubrano tokom faze cvetanja (najveći sadržaj fenola, pigmenta, vitamina), dok je za medicinske svrhe korisnije lišće sakupljeno neposredno pre faze cvetanja (veći sadržaj sumpornih jedinjenja i ukupna antioksidativnost). U nekim studijama predlaže se da se u ishrani i prehrambenim proizvodima kao zamena za beli luk koristi sremuš, s obzirom da sadrži znatne količine hlorofila koji za vreme digestije vezuje azot i sprečava razvoj izraženog mirisa, karakterističnog za beli luk (Oszmiański i sar., 2013).

Biljke i njihovi ekstrakti bogati fenolima su od rastućeg interesa u prehrambenoj industriji, zbog toga što sprečavaju oksidativnu degradaciju lipida i poboljšavaju kvalitet i nutritivnu vrednost hrane (Coccimiglio i sar., 2016). Brojne studije su dokazale da konzumiranje sremuša doprinosi ukupnom unosu flavonoida i time smanjuje rizik od pojave bolesti srca, šloga, kancera i drugih hroničnih oboljenja kod ljudi (Wu i sar., 2009). Antioksidativna aktivnost sremuša povezuje se sa brojnim sumpornim jedinjenjima i njihovim prekursorima, kao i drugim prisutnim bioaktivnim komponentama kao što su polifenoli, mikroelementi, dijetna vlakna (Parvu i sar., 2010). Uprkos činjenici da se sremuš može koristiti kao potencijalni izvor komponenti korisnih u lečenju mnogih bolesti, termalna nestabilnost organosumpornih jedinjenja i snažan miris ograničavaju njegovu praktičnu upotrebu kao aditiva ili konzervansa u hrani (Ivanova i sar., 2009).

Farmakološki značaj sremuša

Postoje dokazi da je sremuš korišćen za tretiranje mnogih bolesti i stanja, još iz perioda mezolita (Krivokapić i sar., 2018). Moderne farmakološke studije su potvrdile opravdanost upotrebe sremuša u tradicionalnoj medicini, gde terapijsku svrhu pronalazi u tretmanu glavobolje, stomaćnih tegoba, inflamacije, dijareje i plućnih bolesti (Ivanova i sar., 2009). Sremuš aktivira enzime za ukljanjanje teških metala, pesticida, herbicida i drugih toksičnih jedinjenja iz ljudskog organizma i na taj način ispoljava detoksično dejstvo (Lachowicz i sar., 2017). Eksperimentalne i kliničke studije potvrdile su pozitivan efekat sremuša na kardiovaskularni sistem (Schmitt i sar., 2005). Relevantna literatura je pokazala da konzumiranje sremuša značajno snižava krvni pritisak, nivo insulina, ukupni holesterol i trigliceride (Sobolewska i sar., 2015; Voća i sar., 2022).

Otkriveno je da *A. ursinum* poseduje više zdravstvenih prednosti u odnosu na *A. sativum* u *in vivo* i *in vitro* studijama, ali se dejstvo slabije ispoljava, pa ga je potrebno uneti u većim količinama (Pavlović i sar., 2017). Dokazano je da sremuš u odnosu na beli luk ima jači uticaj na snižavanje krvnog pritiska, kao i da dodatak 1% ekstrakta sremuša može značajno da smanji ukupan nivo holesterola i poveća nivo dobrog holesterola (*engl.* HDL-high-density lipoprotein) kod pacova (Preuss i sar., 2001).

In vitro testovi su dokazali da prisustvo flavonoida u sremušu, β -glukozida i β -neohesperidoze kamferola ima ulogu usporavajućeg agenta u agregaciji trombocita, štiteći organizam od ateroskleroze i mogućeg infarkta (Oszmiański i sar., 2013). Takođe, zahvaljujući prisustvu kamferolai njegovih derivata, sremuš ima zaštitnu ulogu protiv srčanih bolesti i kancera i štiti ćelije i DNK od oksidativnih oštećenja (Tomšik i sar., 2017). Dokazano je da ekstrakti sremuša utiču na inhibiciju proliferacije i indukuju apoptozu (programiranu smrt) malignih ćelija želuca (Bârlă i sar., 2014; Pavlović i sar., 2017). Na modelu pacova je demonstriran pozitivan uticaj sremuša na lečenje hipertenzije i hroničnog oboljenja bubrega (Krivokapić i sar., 2018). Pavlović i sar. (2017) su u svom istraživanju dokazali da sremuš može biti efikasan i u lečenju gastrointestinalnih poremećaja.

Anitimikrobna aktivnost sremuša

Brojne studije podržale suodavno poznatu činjenicu u tradicionalnoj medicini, da se sremuš može smatrati snažnim anitimikrobnim sredstvom (Sobolewska i sar., 2015). Antimikrobni potencijal sremuša najviše se pripisuje sumpornim jedinjenjima, naročito alicinu sa dokazanim antifugalnim efektom (Parvu i sar., 2011; Bârlă i sar., 2014). Zahvaljujući visokom sadržaju aliina, alicina i drugih sumpornih komponenata, sremuš poseduje antibakterijska, antiparazitska i antigljivična svojstva (Oszmiański i sar., 2013).

U radovima koji su proučavali antimikrobnu aktivnost ekstrakata sremuša, pokazano je da ona direktno zavisi od ispitivanog dela biljke, vrste ekstrakcije, primenjenog rastvarača, kao i tipa analiziranih mikroorganizma (Gîtin i sar., 2012; Krivokapić i sar., 2020). Ekstrakti pripremljeni od svežih listova i cvetova sremuša poseduju antifugalnu i antibakterijsku aktivnost, pre svega orijentisanu na Gram-pozitivne bakterije (Mihaylova i sar., 2014). Pored toga, dokazano je da i vodeni ekstrakt lukovice sremuša pokazuje antibakterijska, antigljivična i antiparazitska svojstva (Krivokapić i sar., 2018).

Na rezultate antimikrobnih testova uticala je odabrana ekstrakciona procedura i aktivni sekundarni metaboliti koji su se formirali za vreme rasta sremuša, kao odgovor na oksidacioni stres (Pavlović i sar., 2017). Prema nekim istraživanjima, metanolni ekstrakt je efikasan u suzbijanju bakterija kao što su: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escheichia Coli*, *Proteus mirabilis* i *Salmonella enteritidis*, i sledećih gljivica: *Cladosporium* spp., *Aspergillus niger*, *Rhizopus nigricans*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium expansum*, *Candida lipolytica*, *Mycoderma*, *Saccharomycopsis fibuligera*, dok je sa druge strane vodeni ekstrakt efikasan samo protiv *B. subtilis* (Sobolewska i sar., 2015; Krivokapić i sar. 2018). Hloroformni i acetonski ekstrakti lišća sremuša pokazali su dobru inhibiciju *S. aureus*, dok se za suzbijanje *E. coli* nisu pokazali efikasnim (Ivanova i sar., 2015). S obzirom da je metanolni ekstrakt pokazao mnogo jači inhibitorni efekat protiv mikroba u odnosu na vodeni ekstrakt, za postizanje adekvatne antimikrobne aktivnosti u nekom supstratu potrebne su veće koncentracije vodenog ekstrakta sremuša (Krivokapić i sar., 2020).

U istraživanju Pavlović i sar., (2017), antimikrobna aktivnost ekstrakata uzoraka sremuša opadala je prema sledećem redosledu apsolutni etanol > apsolutni metanol > 70% etanol > destilovana voda > vodeni metanol. Isti autori otkrili su da je među svim testiranim uzorcima najizraženija suzbijajuća aktivnost prema bakteriji *S. enteritidis*, što svrstava sremuš u red saveznika za prevenciju i lečenje oboljenja salmoneloze. Takođe, etanolni ekstrakti lišća sremuša poseduju jako inhibitorno dejstvo na rast bakterija *E. coli*, *S. aureus* i *Salmonella enterica* (Sapunjićeva i sar., 2012). U rasponu koncentracija od 0,5 do 4 mg/ml, ekstrakti lišća sremuša inhibirajuće deluju na rast gljivica iz roda *Candida* spp. (Sobolewska i sar., 2015; Pavlović i sar., 2017).

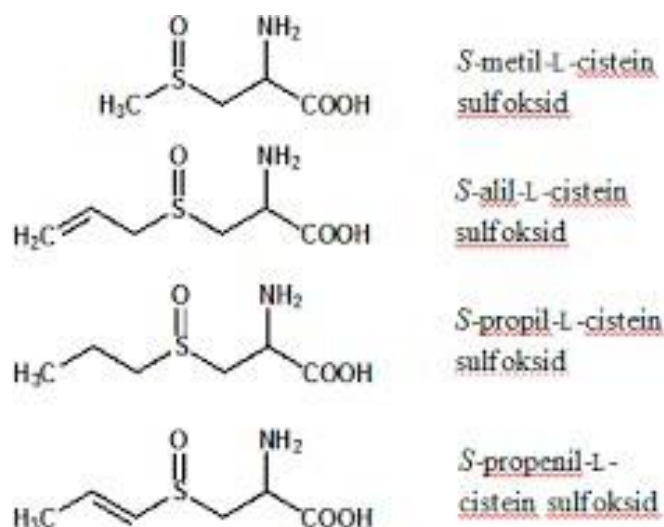
Hemijski sastav sremuša

U dosadašnjim istraživanjima iz sremuša je izolovano nekoliko klasa bioaktivnih jedinjenja, među kojima su kvantitativno i kvalitativno najdominantnija sumporna i fenolna jedinjenja (Krivokapić i sar., 2020). Biološki aktivnim svojstvima sremuša poput antioksidativnog, antimikrobnog i citostatičnog doprinose i prisutni vitamini, terpenoidi, karotenoidi, fitoestrogeni, minerali, dijetna vlakna, saponin, lecitin, isparljiva jedinjenja (Pejatović i sar., 2017; Pavlović i sar., 2017). U ovoj biljnoj vrsti se u manjim količinama mogu naći i drugi hemijski konstituenti kao što su: steroidni glikozidi, lektin, polisaharidi, masne kiseline (palmitinska, linolenska, oleinska, palmitoleinska, stearinska, α -linolenska i miristinska kiselina) aminokiseline (asparagin, glutamin, asparaginska kiselina, glutaminska kiselina, arginin, alanin, glicin, treonin) (Krivokapić i sar., 2020). Lišće sremuša sadrži pigmentna jedinjenja, posebno hlorofil i karotenoide, vitamine kao što je vitamin

C, i mikroelemente od kojih je gvožđe najzastupljenije (Voća i sar., 2022). Gođevac i sar., (2008) su identifikovali preko 20 jedinjenja u etarskom ulju sremuša, od čega su najdominantnija frakcija bili disulfidi (54,7%), zatim trisulfidi (37%), tetrasulfidi (4,7%) i nesulfidne komponente (1%).

Sumporne komponentne sremuša

Hemijske komponente prisutne u sremušu, za koje se smatra da najviše doprinose terapeutskom potencijalu ove biljke su sumporna jedinjenja (Ivanova i sar., 2009). Karakterističan miris i ukus potiče od aliina i γ -glutamilcisteina, koji su predstavnici grupe farmakološki aktivnih organosumpornih jedinjenja i S-alk(en)il-l-cistein sulfoksida (slika 3) (Krivokapić i sar., 2018). U sremušu je dokazan prisustvo metiina ((+)-S-metil-l-cistein-sulfoksida), aliina ((+)-S-2-alil-l-cistein-sulfoksida), izoaliina ((+)-S-(1-propenil)-l-cistein-sulfoksida), propiina ((+)-S-propil-l-cistein-sulfoksida) i etiina (S-etil-l-cistein-sulfoksida). Pošto su metiin i aliin prisutni u najvećim količinama, smatra se da sremuš pripada metiin/aliin tipu *Allium* vrsta (sadrži uglavnom mešavinu jedinjenja aliina ((+)-S-2-alil-l-cistein-sulfoksida) i metiina ((+)-S-metil-l-cistein-sulfoksida) (Tomšik i sar., 2016; Voća i sar., 2022).



Slika 3. Cistein sulfoksidi u sremušu (metiin, aliin, propiin, izoaliin) (Sobolewska i sar., 2015)

Kvantitativni profil cistein sulfoksida zavisi od dela biljke i vremena berbe, a najveće koncentracije ovih jedinjenja postižu se sakupljanjem sremuša u martu i aprilu (Schmitt i sar., 2005; Krivokapić i sar., 2018). Njihov ukupan sadržaj u lišću, sakupljenom u aprilu, izražen u mg/100g sveže mase je bio 101,9, od čega metiina 60, aliina 40, propiina 1,2, etiina 0,4 i izoaliina u tragovima (Sobolewska i sar., 2015). U narednim nedeljama, do polovine maja, aliin postaje dominantna komponenta (73 mg/100g), a sadržaj metiina se smanjuje na oko 15 mg/100g (Schmitt i sar., 2015). Za cistein sulfoksidge, kao i njihove produkte degradacije, posebno one koji potiču od aliina, se veruje da su odgovorni za antibiotska, antioksidativna, antidijabetska i antikancerogena svojstva sremuša (Sobolewska i sar., 2015).

Narušavanje strukture biljke vodi ka hidrolizi ovih neisparljivih sekundarnih metabolita i formiranju isparljivih ale(en)il-tiosulfinata, kao što su alicin i u masti rastvorljiva alil sumporna jedinjenja dialil disulfid i dialil trisulfid, stvarajući ukus karakterističan za *Allium* vrste i povećavajući terapijski potencijal sremuša (Tomšik i sar., 2016b). U biljnoj ćeliji sremuša, cistein sulfoksidi su lokalizovani u citoplazmi, dok su hidrolitički enzimi alinaze smešteni u vakuolama. Degradacija

ćelijske strukture rezultuje oslobađanjem cistein sulfoksida i njihovom hidrolizom, što se dešava nakon oštećenja tkiva, kada se biljka usitnjava, melje, ili je podvrgnuta nekom drugom procesu, i u slučaju izloženosti nekom patogenu (Sobolewska i sar., 2015; Pejatović i sar., 2017). Putem ove reakcije pod uticajem enzima alinaze na aliin nastaje i alicin (alil 2-propenetijsulfinit ili dialil tiosulfinit), glavni predstavnik sremuša koji pripada grupi tiosulfinata.

U nekim istraživanjima pokazan je pozitivan efekat alicina na hipertenziju i bolesti bubrega na modelima pacova (Krivokapić i sar., 2018). Visoke koncentracije isparljivih jedinjenja kao što su sulfidi i disulfidi, imaju direktan uticaj na kvalitet sremuša kao lekovite biljke i začina (Schmitt i sar., 2005; Bârlă i sar., 2014). U lišću sremuša, najveće količine isparljivih jedinjenja i njihovih prekursora pronađene su u martu i aprilu, neposredno pre cvetanja (Pejatović i sar., 2017).

Ipak, tiosulfinati su nestabilni i brzo se raspadaju na (poli) sulfide, ditine, aojene itd. Sumporna jedinjenja sa najvećom količinom alil polisulfida se mogu identifikovati takođe u esencijalnom ulju sremuša (Krivokapić i sar., 2018). *A. ursinum* ima više aktivnih supstanci, veće količine aojena (kao degradirane forme alicina), γ -glutamil peptida i adenzina nego *A. sativum*. Neke od aktivnih supstanci prisutnih u sremušu, nisu pronađene u belom luku, ili se nalaze u jako malim količinama. Preuss i sar. (2001) čak tvrde da *A. ursinum* ima jače terapeutsko dejstvo u poređenju sa *A. sativum* (Oszmiański i sar., 2013).

Postoje dokazi da odabrani rastvarač za ekstrakciju sremuša veoma utiče na koncentraciju i farmakološku aktivnost ekstrakta sremuša (Krivokapić i sar., 2018). Polarnost rastvarača, njegov denaturišući efekat na alinazu, različita reaktivnost cistein sulfoksida, čini rastvarač manje ili više efikasnim za ekstrakciju. Ukoliko je rastvarač efikasniji u smanjenju aktivnosti enzima, može se očekivati veća količina cistein sulfoksida u ekstraktu. U radu Pavlović i sar. (2017), najniža koncentracija cistein sulfoksida je nađena u 70% etanolnom ekstraktu, najniža količina metiina u vodenom ekstraktu, dok je najveća količina aliina i izoaliina otkrivena u ekstraktu u kom je apsolutni etanol korišćen kao rastvarač.

Literaturni podaci pokazuju da su organosumporna i neisparljiva S-alk(en)il cistein sulfoksidna jedinjenja termolabilna i da prilikom izlaganja toploti prolaze kroz neenzimske transformacije. Produženo trajanje termalnog tretmana za samo 30 min smanjuje koncentraciju alil polisulfida (Krivokapić i sar., 2020). Tokom skladištenja dolazi do bržeg gubitka isparljivih sumpornih jedinjenja, nego što je to slučaj sa fenolnim jedinjenjima, pa se predlaže ekstrakcija na sobnoj temperaturi ili neki vid sušenja koji ne zahteva visoke temperature, kako bi se očuvala farmakološka vrednost listova sremuša (Tomšik i sar., 2017).

Fenolne komponente u sremušu

Brojna istraživanja su potvrdila da na tip fenolnih jedinjenja koja će se ekstrahovati, kao i na njihov prinos u velikoj meri utiče postupak ekstrakcije, odabrani rastvarač, i deo biljke koji se koristi za ekstrakciju (Pejatović i sar., 2017). Iako je potvrđeno da svi anatomski delovi sremuša poseduju antioksidativna svojstva, najveća aktivnost izmerena je u lišću, pre svega zbog visokog sadržaja flavonoida (Bârlă i sar., 2014). U odnosu na ostale delove biljke, najizraženiju antioksidativnost listovi sremuša duguju visokoj aktivnosti antioksidativnih enzima katalaze i peroksidaze koje utiču na smanjenje H_2O_2 i drugih organskih peroksida i na taj način štite ćelije proteina i membrane od oksidacije. Listovi poseduju takođe i velike količine neenzimskih antioksidanasa kao što su flavonoidi, glutation i karotenoidi (Štajner i sar., 2008; Krivokapić i sar., 2020). Oszmiański i sar. (2013) su utvrdili da postoje kvalitativne razlike u fenolnim frakcijama između zakišeljanih

metanolnih ekstrakata zelenog i žutog lišća, stabljike i semena sremuša, sugerišući da je sadržaj derivata kempferola bio najveći u žutom lišću, a zatim u zelenim listovima. Sadržaj ukupnih flavonoida u zavisnosti od dela biljke je znatno varirao: seme – 73,14 mg/100g suve materije, stabljika – 206,07 mg/100 g suve materije, zeleno lišće -1,856.31 mg/100g, žuto lišće - 2,362.96 mg/100g suve materije. U radu Đurđević i sar. (2004), dobijeni ukupan sadržaj fenola lukovice (3,30 mg/g suve materije) je manji u poređenju sa lišćem sremuša (4,34 mg/g suve materije).

Takođe, na antioksidativnu aktivnost i fenolni profil sremuša utiče sezona branja, stepen zrelosti, fiziološke promene u periodu razvoja biljke, vremenski uslovi koji preovlađuju u početnoj i završnoj fazi rasta biljke, agrotehničke mere, kao i vreme i uslovi skladištenja sremuša (Lachowicz i sar., 2017). Poredeći različite morfološke delove sremuša ubranog u martu i junu, Lachowicz i sar., (2017) su zaključili da je lišće najbogatiji, a lukovica najsiromašniji izvor polifenolnih jedinjenja, s tim što sadržaj fenolnih jedinjenja za sve delove (osim cveta) dostiže svoj maksimum u junu, tj. koncentracija fenola raste sa sazrevanjem. U odnosu na uzorke sakupljene u martu, sadržaj fenola u junu je bio veći za 19% u lišću, 20% u stabljici i 21% u lukovici. U istraživanjima Mihaylova i sar. (2014) i Mahmutović i sar (2009), maksimalan ukupan sadržaj fenola u listovima sremuša zabeležen je u maju, tokom perioda cvetanja, i iznosio je 60,9 mg/100g svežeg sremuša i 128,9 mg/100g svežeg sremuša, redom. U zavisnosti od sorte i lokaliteta rasta biljke količina bioaktivnih komponenata i fenola u sremušu može značajno da varira. Błażewicz-Woźniak i Michowska (2011) su pokazali da je suma svih flavonoida i O-dihidroksifenila varirala u rasponu od 318,50 do 788,20 mg/100 g suve materije lišća za ‘Dukla’ ekotip i od 342,90 do 709,00 mg/100 g suve materije lišća za ‘Roztocze’ ekotip.

Pored razlike u lokalitetima, variranja u količinama fenolasaopštenih od različitih autora mogu biti posledica i različitosti u pripremi uzoraka (suva ili sveža biljna masa), metodama ekstrakcije i primenjenog rastvarača (Krivokapić i sar., 2017). U radu Pejatović i sar. (2017), potvrđeno je da je koncentracija ukupnih flavonoida u sremušu direktno zavisila od biljnog staništa i vrste rastvarača za ekstrakciju. Ispitivani su uzorci sa dve različite lokacije, pri čemu je sveže lišće upotrebljeno za pripremu tinkture, a osušeno za pripremu metanolnih i etanolnih ekstrakata. Količine ukupnih fenola izražene po ekvivalentu galne kiseline, kretale su se u intervalu od 1,3 do 1,8 g GAE/100g suvog lišća za ekotip Čemerno (Bosna i Hercegovina) i 1,0 do 2,1 g GAE/100g suvog lišća za ekotip Gornje Lipovo (Crna Gora). Najveće vrednosti fenola otkrivene su u metanolnom ekstraktu za oba ispitivana staništa, dok je najniži fenolni sastav pronađen u tradicionalnoj tinkturi sremuša. Rezultati istraživanja Krivokapića i sar. (2020) ukazuju da je najveća antioksidativna aktivnost (određena DPPH metodom) postignuta u metanolnom ekstraktu sremuša, a hloroform se pokazao kao najefikasniji rastvarač u pogledu sadržaja ukupnih fenola.

Od vrste i polarnosti rastvarača zavisi ne samo količina ukupnih fenola u ekstraktu određena spektrofotometrijski, nego i kvalitativan i kvantitativan sastav ekstrahovanih flavonoida i drugih fenolnih jedinjenja, koji se najčešće određuje različitim metodama tečne hromatografije visokog pritiska (HPLC) (Krivokapić i sar., 2020). Pomoću HPLC analize, Pavlović i sar. (2017) su identifikovali i kvantifikovali flavonoide 3,7-kamferol-diglukozid i kamferol 3-glukozid, i ferulnu kiselinu (u tragovima) u svih pet ispitivanih ekstrakata sremuša (ekstrakti dobijeni istom ekstrakcionom procedurom ali upotrebom različitih rastvarača: 70% etanol, 96% etanol, destilovana voda, vodeni metanol i čisti metanol). Po količini najzastupljenije fenolno jedinjenje u svim analiziranim ekstraktima bilo je 3,7-kamferol-diglukozid, osim u vodenom ekstraktu lišća sremuša gde je kamferol 3-glukozid bio dominantni fenol. U skladu sa HPLC hromatogramima ekstrakata sremuša, uočeno je da su u metanolnom ekstraktu detektovane najveće količine flavonoida i i fenolnih kiselina.

Rezultati HPLC-MS/MS analize u radu Krivokapića i sar. (2020) ukazuju na prisustvo kamferol 3-O-glikozida, kamferola, ferulne kiseline, *p*-kumarinske kiseline i ursolne kiseline u metanolnim, vodenim i hloroformnim ekstraktima sremuša. Najveći sadržaj galne kiseline detektovan je u 96% metanolnom ekstraktu *A. ursinum*, zatim u 80% metanolnom ekstraktu, a najniži je primećen u 96% etanolnom ekstraktu (Condrat i sar., 2010; Sobolewska i sar., 2015).

Hemijski sastav ekstrakata sremuša nije u velikom obimu proučavan, ali u dostupnim naučnim radovima autori su uglavnom saopštili prisustvo derivata kamferola kao najdominantnijeg. Carutenuto i sar. (1996), su u etanolnim ekstraktima sremuša sa područja južne Italije, sakupljenim u junu, identifikovali pored dva do tada poznata flavonoid glikozida kaempferol 3-O- β -glukopiranozidai kamferol 3-O- β -neohesperidozida, i tri nova fenolna glikozida acetilovana *p*-kumarinskom i ferulnom kiselinom, takođe derivata kamferola (kaempferol 3-O- β -neohesperidozid-7-O-[2-O-(trans-*p*-kumaril)]- β -D-glukopiranozid, kamferol 3-O- β -neohesperidozid-7-O-[2-O-(trans-ferulil)]- β -D-glucopiranozid, kamferol 3-O- β -neohesperidozid-7-O-[2-O-(trans-*p*-kumaril)-3-O- β -D-glukopiranozil]- β -D-glukopiranozid) i dokazali da ovih pet izolovanih fenolnih jedinjenja imaju inhibitorno dejstvo na agregaciju trombocita indukovanu kolagenom. Prva dva jedinjenja pokazala su značajno veću inhibitornu aktivnost, u odnosu na novootkrivene derivate kamferola, što sugerise da prisustvo *p*-kumaril grupe i povećanje broja vezanih ostataka saharida utiče na smanjenje antiagregacijskog delovanja na trombocite (Carutenuto i sar., 1996; Sobolewska i sar., 2015).

Wu i sar. (2009), su kvalitativni fenolni profil etanolnog ekstrakta sremuša (područje Danske, vreme berbe mart) opisali sa sedam izolovanih derivata kamferola: kamferol 3-O- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)-[3-O-acetil]- β -D-glukopiranozid, kamferol 3-O- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)-[6-O-acetil]- β -D-glukopiranozid, kamferol 3-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glukopiranozid, kamferol 3-O- β -D-glukopiranozid, kamferol 3,7-di-O- β -D-glukopiranozid, 7-O- β -D-glukopiranozil kamferol 3-O- α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glukopiranozid, kamferol 3-O- α -L-ramnopiranozil (1 \rightarrow 2)- β -D-glukopiranozid-7-O-[2-O-(trans-*p*-kumaril)]- β -D-glukopiranozid.

Analiziranjem sastava flavonoida u zakišljenim metanolnim ekstraktima sremuša prikupljenog u junu u šumskoj oblasti Poljske, Oszmiański i sar. (2013) su identifikovali i kvantifikovali 21 flavonoid u lišću, 19 u stabljici i 18 u semenu, a sva jedinjenja su derivati kamferola. Iz ekstrakata lišća ispitivanog sremuša izolovana su tri neacetilovana derivata kamferola vezana sa šećernim ostacima, pet acetilovanih flavonoida samo sa acetil grupom, a ostali fenolni glikozidi su acetilovani derivatima hidroksicimentnih kiselina, *p*-kumarinske kiseline i ferulne kiseline.

Parvu i sar. (2010), su u cilju određivanja fenolnih jedinjenja 5 vrsta *Allium* roda (Rumunija), pripremali uzorke pre i posle hidrolize kiselinom, kako bi se dobio što precizniji profil izolovanih jedinjenja prisutnih u glikozidnoj i aglinskoj formi, s obzirom da je acidnom hidrolizom moguće uticati na oslobađanje fenola iz fenolnih glikozida. Ispitivanje je pokazalo da *Allium ursinum* sadrži samo slobodne kamferol derivate, i najbogatiji je ovim jedinjenjima u poređenju sa ostalim vrstama (1,8 mg/100g svežeg lišća). Sa druge strane *p*-kumarinska kiselina i ferulinska kiselina prisutne su u lišću sremuša kako u slobodnoj formi tako i vezane tj. u formi glikozida.

U istraživanju Đurđevića i sar. (2004), otkriveno je da lišće sremuša poseduje 3,24 mg/g suve materije ukupnih slobodnih fenola i 1,0 mg/g vezanih formi fenola. Identifikovane su slobodne forme ferulne kiseline (58,27 μ g/g) i vanilinske kiseline (61,48 μ g/g), i glikozidne forme *p*-kumarinske (25,43 μ g/g), ferulne (49,82 μ g/g) i vanilinske kiseline (60,05 μ g/g).

Mineralne komponente u sremušu

U literaturi postoji veoma mali broj naučnih studija koja se bave mineralnim sastavom sremuša, iako je sadržaj minerala od velikog značaja, kako za procenu nutritivne vrednosti tako i potencijalnu kontaminiranost teškim metalima. U biljkama minerali predstavljaju osnovne gradivne materije u koje dospevaju iz zemljišta i od esencijalnog su značaja za njihov pravilan rast i razvoj (González i sar., 2004). Unete hranom, mineralne materije imaju nezamenljivi značaj u metaboličkim aktivnostima i očuvanju fizičkog i psihičkog zdravlja ljudi (Cvetković i sar., 2019).

Bogat i raznolik sastav mineralnih komponenata u sremušu uslovljava njegovu visoku fiziološku vrednost, što je posebno značajno sa nutritivnog aspekta, jer se sremuš najčešće konzumira u svežem stanju (Piatkowska i sar., 2015). Prema procentu zastupljenosti mineralnih materija u sremušu, najzastupljeniji su makroelementi kalijum (68%), kalcijum (19%), fosfor (8%) i magnezijum (4%). Pored nutritivno značajnih makroelemenata u sremušu je prisutno i ukupno oko 1% svih mikroelemenata kao što su: mangan, cink, kobalt, hrom, selen, aluminijum, nikl, molidben (Stojković, 2014).

U radu Vučić i sar., (2018) ispitivan je sadržaj mineralnih materija uzoraka sremuša uzetih sa četiri različite lokacije severozapadnog područja Republike Srpske. Rezultati su pokazali da se sadržaj kalijuma kretao u rasponu 4703-4803 mg/kg, kalcijuma 1532-1559 mg/kg, fosfora 478-487 mg/kg, magnezijuma 317-335 mg/kg i natrijuma 31-33mg/kg. Od ispitivanih mikroelemenata najviše koncentracije utvrđene su za gvožđe 13,9-15,6 mg/kg i mangan 13,5- 14 mg/kg. Sadržaj aluminijuma, cinka i bakra kretao se u intervalu od 9,4-9,9 mg/kg, 2,3-2,6 mg/kg i 1,6-1,9 mg/kg, redom, a otkrivene su i niže koncentracije nikla, kobalta, molidbena, selena i hroma. Toksični elementi kao što su olovo, kadmijum, selen bili su u koncentracijama ispod odgovarajućeg limita kvantifikacije u svim analiziranim uzorcima sremuša. Autori su zaključili da su sadržaji makro- i mikroelemenata prilično ujednačeni bez obzira na lokaciju, te da lokalitet branja sremuša nema veliki uticaj na njegov mineralni sastav.

Komparativna analiza pojedinih makro- i mikroelemenata u sremušu i belom luku pokazala je da sremuš sadrži veće količine magnezijuma, mangana i gvožđa u odnosu na beli luk (Sobolewskai sar., 2015). Koncentracija gvožđa u belom luku iznosi 14 mg/kg, dok je u sremušu izmereno 230 mg /kg gvožđa (Sobolewska i sar., 2015). Prisustvo selena i visok sadržaj gvožđa u sremušu (247,9 mg/kg) svrstava ga u biljke koje mogu doprineti u lečenju anemije i bolesti izazvanih nedostatkom gvožđa u organizmu (Lachowicz i sar. 2017; Voća i sar., 2022). Stojković (2014), je u svom radu poredio mineralni sadržaj sremuša sa mineralnim sadržajem najčešće konzumiranih *Allium* vrsta: belim lukom (*A. sativum*), crnim lukom (*A. cepa*) i prazilukom (*A. ampeloprasum*). Koncentracije makronutrijenata, izuzev fosfora, su više u sremušu u poređenju sa navedenim *Allium* vrstama. Koncentracije bakra, cinka, nikla i aluminijuma nisu mnogo varirale u zavisnosti od biljne vrste, dok je sadržaj selena značajno viši u belom luku, nego u sremušu. Sadržaj kobalta i hroma viši je u ostalim vrstama, ali su količine mangana i gvožđa najviše u sremušu. Mangan je mineral potreban za rast, oksidativnu fosforilaciju, ulazi u sastav važnih enzima i ima bitnu ulogu u metabolizmu holesterola, što opravdava činjenicu da se upotrebom sremuša u ishrani može značajno sniziti ukupni holesterol u krvi i povećati nivo dobrog holesterola (Preuss i sar., 2001).

Keks

Prema Pravilniku o kvalitetu i drugim zahtevima za fine pekarske proizvode, žita za doručaki snek proizvode iz 2016. godine (Službeni glasnik, RS 68/2016), keks spada u fine pekarske proizvode koji zajedno sa srodnim proizvodima (kreker, biskvit, čajno pecivo, vafel i sl.) predstavljaju proizvode od brašna žita i drugih mlinskih proizvoda, šećera, masti i ulja, namirnica sa sadržajem proteina i drugih namirnica, koji su karakteristične strukture, termički obrađeni i sa rokom trajanja od najmanje trideset dana. Keks je proizvod od brašna cerealija ili pseudocerealija, masnoća (najmanje 5% masnoća računato na gotov proizvod) i drugih namirnica homogenizovanih u testo, oblikovan i pečen. Može biti slatkog ili slanog ukusa. Slani keks sadrži najviše 4% soli računato na gotov proizvod. S obzirom da su kod nas fini pekarski proizvodi deo proizvodnog programa konditorske industrije izučavaju se u okviru istoimene tehnologije.

Dobar nutritivni kvalitet i dostupnost u više različitih ukusa, dug rok trajanja i pristupačna cena, razlozi su koji svrstavaju keks u veoma popularnu namirnicu rado konzumiranu širom sveta, među svim generacijama potrošača (Caleja i sar., 2017; Dauda i sar., 2018). Privlačan ukus, izgled i tekstura su glavni atributi zbog kojih se potrošači opredeljuju za konzumiranje ovih proizvoda, najčešće kao užine (Kaur i sar., 2017). Mast, kao neizostavni sastojak u osnovnoj recepturi ima značajnu ulogu jer utiče na intenzitet arome, teksturna svojstva i stvaranje prijatnog osećaja u ustima (Vitali i sar., 2009). Pored visokog sadržaja masti, keks se najčešće pravi od rafinisanog pšeničnog brašna, pa ima visoku energetska vrednost, a nizak sadržaj dijetnih vlakana i proteina (Šoronja-Simović i sar., 2017). U komercijalnom keksu koji ima preko 1673 kJ u 100g proizvoda, uglavnom više od 50% energije potiče od ugljenih hidrata i masti. Kao visokoenergetska i lako svarljiva hrana, sa malim procentom dijetnih vlakana i minerala, keks se može negativno odraziti na zdravlje ljudi koji ga redovno konzumiraju, naročito prekomerno (Šoronja-Simović i sar., 2017; Klunkin i Savage, 2018).

Pored toga što je bitno održati teksturu, boju i druga senzorna svojstva keksa, u skladu sa očekivanjem potrošača je i da se za proizvodnju keksa koriste minimalno prerađene namirnice, bez upotrebe sintetičkih antioksidanasa (Caleja i sar., 2017). S obzirom da raste svest potrošača i potražnja za zdravijom ishranom, obogaćivanje finih pekarskih proizvoda funkcionalnim komponentama koje mogu pozitivno uticati na zdravlje sve više dobija na značaju (Pasqualone i sar., 2014). Osnovna određivanja vlage, proteina, ugljenih hidrata, masti i pepela daju indicaciju nutritivne vrednosti proizvoda, ali se ove vrednosti mogu menjati u zavisnosti od mešavine sirovina koje se koriste da bi se napravio proizvod. Keks može da bude dobar kandidat za proizvodnju ukusne i zdrave hrane, jer se dodatkom visoko vrednih sastojaka i izmenom osnovnog sastava lako može poboljšati njegova nutritivna vrednost i funkcionalnost (Klunkin i Savage, 2018; Dauda i sar., 2018). Najveći izazov sa kojim se suočava prehrambena industrija u proizvodnji keksa obogaćenog funkcionalnim sastojcima je da promena senzornog kvaliteta usled dodavanja aktivnih sastojaka bude prihvatljiva od strane potrošača (Dauda i sar., 2018). Mnogi istraživači dodavali su u sastav keksa sirovine bogate antioksidantima, mineralima i vitaminima, poput voća kao što je breskva (Filipović i sar., 2022) i povrća kao što je spanać (Galla i sar., 2017), kako bi ga nutritivno obogatili. Keks sa visokoproteinskim sadržajem se može dobiti dodatkom proteina npr. izolata proteina soje (Marco i Rossel, 2008), dok se dodatkom mekinja i klica žita u formulaciju keksa postiže visok sadržaj dijetnih vlakana (Vitali i sar., 2009).

Takođe, postoji mogućnost poboljšanja ukupnog nutritivnog sastava keksa smanjenjem udela pšeničnog brašna ili njegovom kompletnom zamenom. U tu svrhu, najčešće se koriste heljdino, ječmeno, speltino, prinčano, ovseno, laneno ili brašno amarantusa, kao zamena za pšenično brašno, u osnovnom sastavu keksa (slika 4) (Marco i Rosell, 2008; Chauhan i sar., 2015; Raihan i Saini, 2017;

Kaur i sar., 2017; Filipović i sar., 2022). Ova brašna poboljšavaju kvalitet proteina, sadržaj minerala, antioksidativnih jedinjenja i dijetnih vlakana u keksu, u odnosu na keks od pšeničnog brašna (Chauhan i sar., 2015; Kaur i sar., 2017).

Fizičke i teksturalne karakteristike keksa, posebno tvrdoća, su važne za prihvatanje od strane potrošača. U pšeničnom brašnu, glavni protein je gluten koji je odgovoran za karakteristike elastičnosti, kohezivnosti i viskoznosti testa. Stoga će zamena pšeničnog brašna nekom drugom vrstom brašna promeniti količinu glutena u recepturi keksa, što će uticati i na formiranje testa (Raihani Saini, 2017; Klunkin i Savage, 2018).



Slika 4. Različite vrste keksa na tržištu (<https://www.keepitfit>, , <https://mangobiocentar.rs>, <https://bambi>)

Spelta

Spelta (*Triticum aestivum ssp. spelta*) je drevna podvrsta tradicionalne hlebne pšenice (*Triticum aestivum*), a obe pripadaju heksaploidnojgrupicerealijaroda *Triticum*, familije *Gramineae* i dele veliku gentičku sličnost (Gawlik-Dziki i sar., 2012; Bodroža i Filipčev 2020). Glavna razlika između ovih sorti pšenice ogleda se u postojanju tvrde ljuske koja čvrsto prianja uz zrno spelte i zauzima 21-32% ukupne mase zrna (Shewry, 2018). Zbog toga prerada spelte u brašno zahteva dodatni proces odvajanja ljuske od zrna, pre samog mlevenja i korišćenja u ishrani, što poskupljuje proizvodnju (Escarnot i sar., 2012). Iz tog razloga, kao i slabijeg prinosa, gajenje spelte je dugo vremena bilo zanemareno. Međutim, poslednjih godina raste potražnja za nekonvencionalnom, ekološkom i zdravom hranom, pa spelta i proizvodi od brašna spelte dobijaju na značaju (Janković i sar., 2015).

Upravo zahvaljujući prisustvu čvrsto srasle ljuske, zrno spelte je tokom gajenja otporno na nepovoljne klimatske uslove i štetne uticaje od strane insekata i raznih štetočina (Abdel-Aal i Hucl., 2005; Bodroža i sar., 2014). Zaštitna uloga ljuske spelte nastavlja se i tokom skladištenja, jer čuva svežinu, vlažnost i nutritivna svojstva zrna (Vučković i sar., 2013). Pored visoke otpornosti na bolesti dobre prilagodljivosti manje povoljnim uslovima životne sredine, kultivacija spelte nije zahtevna niu pogledu kvaliteta zemljišta i agrotehničkih mera. Uspešno se uzgaja i na vlažnim, hladnim predelima, kao i na većim nadmorskim visinama, bez potrebe za đubrivima visokog nivoa azota i zaštite teškim hemikalijama (Kohajdová i Karovicova, 2008; Schober i sar., 2006). Sve to daje preduslove za mogućnost ekološkog i organskog gajenja, što je jedna od najvećih prednosti spelte u odnosu na konvencionalnu pšenicu (Bodroža i Filipčev, 2020).

Zbog svog izuzetno povoljnog hemijskog sastava, koji je u skladu sa savremenim nutricionističkim zahtevima, poslednjih godina spelta kao žito zauzima sve značajniju poziciju u proizvodnji organske sertifikovane hrane od speltinog zrna i brašna (slika 5) (Arendt i Zannini, 2013; Golijan i sar., 2017). Mnogi autori ocenjuju speltu kao zdravstveno pogodniju i nutritivno bogatiju alternativu savremenoj pšenici (Ikanović i sar., 2016; Kojić i sar., 2022). Wójtowicz i sar. (2020), tvrde da su proizvodi na bazi spelte potencijalno svarljiviji i terapijski korisniji (prevencija raka i kardiovaskularnih bolesti, pozitivan efekat na imuni sistem i cirkulaciju krvi, snižavanje nivoa holesterola u krvi, ublažavanje alergija) od onih dobijenih od obične pšenice.



Slika 5. Spelta u zrnju i speltino brašno (<https://bonapeti.rs>)

Hemijski sastav spelte

Hemijski sastav zrna spelte koji doprinosi njenoj velikoj nutritivnoj vrednosti čini 70% ukupnih ugljenih hidrata, 17-21% ukupnih proteina, 5-7% celuloze, oko 2% masti, oko 2% makroelemenata, poput fosfora, kalcijuma, magnezijuma i drugih, značajno veliki sadržaj vitamina B kompleksa, E i K, kao i mikroelemenata selen, cink, gvožđ i mangana (Glamočlija i sar., 2012). U odnosu na konvencionalno pšenično brašno, speltino ima veći sadržaj proteina (naročito prolamina) i nekih aminokiselina (prolin, glutaminska kiselina, tirozin i asparaginska kiselina), kao i vitamina B, dijetnih vlakana, lipida (posebno fenolnog lipida alkilresorcinola) i mineralnih materija (Wilson i sar., 2008; Kojić i sar., 2019). U poređenju sa običnom pšenicom, zrno spelte, a samim tim i njeno brašno, ima veći sadržaj lipida i nezasićenih masnih kiselina, a navodi se i da je pogodan kriterijum za razlikovanje speltinog od ostalih tipova brašna upravo razlika u sastavu masnih kiselina (Ruibal-Mendietai sar., 2005; Bodroža i sar., 2014). Bonaffácia i sar. (2000), su zaključili da spelta sadrži više rastvorljivih vlakana i proteina, kao i lakše svarljiviji škrob u poređenju sa hlebnom pšenicom. Spelta je bogata i složenim ugljenim hidratima mukopolisaharidima koji imaju antiinflamatornu ulogu, stimulišu imuni sistem i obnavljaju strukturu hrskavice i zglobova (Escarnot i sar., 2010; Abdel-Aal i Hucl., 2005).

U istraživanju Wang i sar. (2020), pokazalo se da brašno od spelte ima veću antioksidativnu aktivnost i ukupan sadržaj fenola (od kojih su najzastupljenije ferulna, vanilinska, sinapinska i *p*-kumarinska kiselina) u odnosu na belo brašno. Zieliński i sar. (2008) su ispitivanjem sadržaja redukovano i oksidovanog glutationa, koji učestvuje u odbrani organizma od štetnih uticaja slobodnih radikala i produkata lipidne peroksidacije, došli do zaključka da je prosečan sadržaj

oksidovanog glutationa bio za 7%, a sadržaj redukovano glutationa za čak 28% viši u hlebu od spelte, u poređenju sa pšeničnim hlebom.

Koncentracije fosfora, kalijuma, magnezijuma, mangana, cinka, bakra i molibdena su značajno više u spetinom brašnu nego u belom pšeničnom, za 58, 27, 42, 31, 64, 35 i 24%, redom (Wang i sar., 2020). Takođe je dokazano da spelta sadrži veće količine selena nego moderna pšenica (Hammed i Simsek, 2014). Potvrđeno je, isto tako, da spelta ima znatno veću količinu β -karotena i retinola, kao i više vitamina riboflavina, tiamina i niacina u poređenju sa mekom pšenicom (Golijan i sar., 2017; Kohajdová i Karovicova., 2008). U spelti je sadržaj vezanog fosfora u obliku fitinske kiseline niži za 40% nego u pšenici. S obzirom da se fitinska kiselina smatra antinutrijentom i ima veliki afinitet vezivanja mineralnih elemenata (Ca, Fe, Cu i Zn) inhibirajući njihovu apsorpciju u organizmu, superiornost spelte se ogleda ne samo u visokom sadržaju minerala nego i u njihovoj boljoj biološkoj raspoloživosti (Escarnot i sar., 2012).

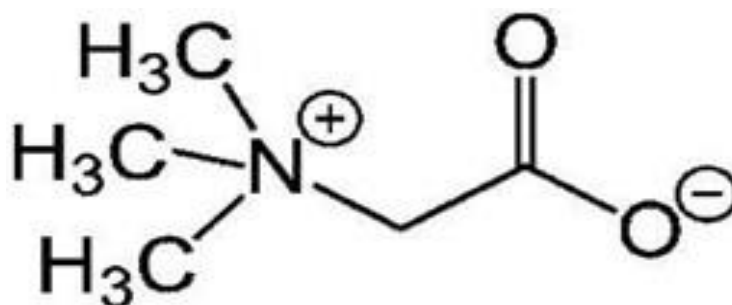
Tehnološka svojstva speltinog brašna

Spelta poseduje veći sadržaj glutenskih proteina u odnosu na pšenicu (i do 55%), ali se u pekarstvu pokazalo da je njen gluten lošijeg tehnološkog kvaliteta, usled manje elastičnosti i veće vlažnosti (Janković i sar., 2015; Filipčev i sar., 2013). Testo napravljeno od brašna spelte je teže za obradu zbog izražene mekoće i lepljivosti, manje stabilnosti tokom mešenja i slabijeg svojstva dizanja tokom pečenja (Skrabanja et al., 2001, Schober i sar., 2006). Kao rezultat, dobijaju se hlebovi manje zapremine, kraće stabilnosti i narušene finoće i strukture preloma (Filipčev i sar., 2013a). Ipak, zbog privlačnog ukusa koji se opisuje kao „orašast“ i kvaliteta koji podrazumeva, pored nutritivno vrednih komponenti i više proteina, rastvorljivih dijetnih vlakana, kao i lakše svarljivijeg skroba u odnosu na pšenično, brašno spelte se sve više koristi u pekarskoj industriji za poboljšanje kvaliteta i ukusa pšeničnog hleba, kao i za izradu brojnih peciva, gde uglavnom u određenom procentu supstituiše pšenično brašno (Bonafácciai sar., 2000; Ruibal-Mendieta i sar., 2005; Abdel-Aal i Rabalski, 2008). Takođe, prave se i hlebovi od isključivo speltinog brašna uz određene adaptacije tokom proizvodnje, kao što su dodatak većih udela askorbinske kiseline, kraće, a češće mešanje, sa većim pauzama između zamesa (Reiter i sar., 2000; Bodroža i Filipčev, 2020). Proizvodi sa speltinim brašnom nisu pogodni za ishranu ljudi osetljivih na gluten, ali se preporučuju u svakodnevnoj ishrani pacijenata izloženih velikim naporima, sklonih alergijama i oboljenjima gastrointestinalnog trakta, neurodermatitisa, reumatoidnog artritisa, kancera, depresije, visokog holesterola u krvi, Alchajmerove bolesti, kardiovaskularnih bolesti (Zieliński i sar., 2008; Filipčev i sar., 2013a; Golijani sar., 2017).

U poslednje vreme, prisutan je sve širi asortiman prehrambenih proizvoda od speltinog brašna, jer se ono koristi u proizvodnji testenina, snek proizvoda, raznih vrsta keksa, pahuljica za doručak, mešavina za palačinke i mafine, napitaka i drugih proizvoda izmenjenih nutritivnih karakteristika (Abdel-Aal i Hulc, 2005; Arendt i Zannini, 2013; Filipović i sar., 2016). Brojni autori pokazali su da brašno spelte može poslužiti kao sirovina za proizvodnju kvalitetne testenine (Marconi i sar., 2002; Filipović i sar., 2015; Ivkov i sar., 2018). Kojić i sar. (2022), kreirali su ekstrudirani flips od speltinog integralnog brašna. Uzimajući u obzir slabiji tehnološki potencijal, brašno spelte je najpogodnije za proizvodnju krekeri i keksa, zbog toga što ovim proizvodima odgovaraju slabija svojstva glutena i manja sposobnost dizanja testa u toku pečenja (Bodroža i Filipčev, 2020). U istraživanju Filipčev i sar. (2013), dobijeni su manje deformisani, mekši i tanji krekeri od speltinog brašna, u poređenju sa krekerima od pšeničnog brašna.

Betain

Organsko azotno jedinjenje, betain (N, N, N-trimetilglicin), je derivat aminokiseline glicina sa tri slobodne metil grupe (Kruľj i sar., 2014). Po strukturi je kvaternarni amonijum, koji postoji u obliku cviterjona u netralnoj pH sredini (slika 6).

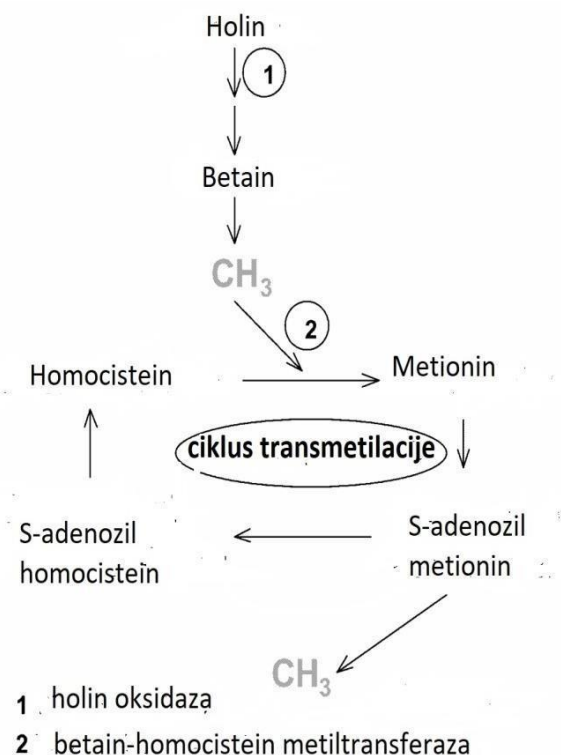


Slika 6. Strukturna formula betaina (Filipčev i sar., 2015).

Betain je bioaktivno jedinjenje koje je uključeno u nekoliko važnih fizioloških funkcija u ljudskom organizmu. Najistaknutiju ulogu ima kao osmolit i donor metil grupa u odvijanju mnogih biohemijskih procesa (Craig, 2004). Osmolitičko delovanje betaina duguje svojoj dipolarnoj strukturi i dobroj rastvorljivosti u vodi. Kao osmolit štiti ćelije od osmotskog stresa i reguliše sadržaj vode u njima, ne ometajući odvijanje metaboličkih procesa, kao ni aktivnost enzima (Kojić i sar., 2022). Takođe učestvuje u održavanju osmotske ravnoteže i tercijarne strukture makromolekula u tkivu bubrega, omogućavajući nakupljanje otpadnih produkata metabolizma u urinu, nasuprot koncentracionom gradijentu (Filipčev i sar., 2016). Kod biljaka izloženih osmotskom pritisku ili nepovoljnim uslovima sredine (suša, slana zemljišta, velike varijacije u temperaturi), betain se sintetisuje u mitohondrijama i sprečava oticanje vode iz ćelija (Burg i sar., 2007).

Betain je donor neophodnih metil grupa za remetilaciju homocisteina u metionin koja se pre svega odigrava u jetri, a pored toga obezbeđuje i metil grupe za odvijanje metioninskog ciklusa u bubrezima (Craig, 2004) (slika 7). Smatra se da je povišen nivo homocisteina u krvnoj plazmi jedan od glavnih faktora rizika za razvoj bolesti jetre i bubrega, kao i kardiovaskularnih, perifernih vaskularnih i cerebralnih oboljenja (rizik od moždanog i srčanog udara, ateroskleroza). Ispitivanja su pokazala da usled povećane koncentracije serumskog homocisteina može doći do smanjenja kognitivnih sposobnosti, kao i pojave raznih oblika demencije (Smith i sar., 2010). S druge strane, dokazano je da se unosom betaina značajno smanjuju nivoi homocisteina u krvi, kako kod obolelih od homocistinurije i hronične bolesti bubrega, tako i kod zdravih osoba (Filipčev i sar., 2015; Kojić i sar., 2018).

Veliki broj istraživanja potvrđuje da je betain značajan nutrijent u prevenciji i lečenju mnogih hroničnih bolesti (Filipčev i sar., 2018), a takođe može uticati i na fizičku snagu poboljšanjem mišićne izdržljivosti (Hoffman i sar., 2009). Betain unet u ljudski organizam putem ishrane se brzo apsorbuje i distribuira digestivnim traktom već 1-2 sata nakon unosa (Schwahn i sar., 2003).



Slika 7. Ciklus transmetilacije (<https://www.tehnologijahrane.com>)

Betain ne spada u esencijalne nutrijente, s obzirom na to da se holin može endogeno sintetisati u jetri, a daljom oksidacijom (dehidrogenacijom) holina putem delovanja enzima holin-oksidade nastaje betain ($C_5H_{14}NO + 2 O_2 + H_2O \rightleftharpoons C_5H_{11}NO_2 + 2 H_2O_2$). Ipak, endogena sinteza betaina u ljudskom organizmu je nedovoljna da se zadovolje njegove potrebe za betainom, pa je potrebne količine moguće nadoknaditi jedino hranom bogatom betainom ili holinom ili veštačkom suplementacijom ovim jedinjenjima (Filipčev i sar., 2015; Kojić i sar., 2018).

Studije koje su se bavile procenom unosa betaina kroz ishranu opšte populacije, došle su do zaključka da je njegov unos na veoma niskom nivou, prosečno manje od 150 mg po danu (Ross i sar., 2014). Neadekvatnim unosom betaina posebno su ugroženi pacijenti koji boluju od dijabetesa ili homocistinurije, kao i generalno starija populacija. U SAD je betain potvrđen kao bezbedan odnosno GRAS (engl. Generally Recognized As Safe) sastojak. U Evropi je odobrenje i upotreba betaina u hrani regulisano od strane Evropske komisije (Commission Regulation EU No. 432/2012), koja propisuje da neophodan unos betaina treba da bude najmanje 500 mg po porciji hrane, ukupno 1500 mg betaina po danu, kako bi se manifestovao zdravstveni efekat betaina, tj. doprinos normalnom metabolizmu homocisteina. Zbog toga postoji nutritivna potreba za modifikacijom režima ishrane koji se bazira na namirnicama prirodno bogatim betainom, kako bi se postigli očekivani zdravstveni benefiti (Filipčev i sar., 2018). Ovo je dosta izazovan zadatak, s obzirom da je izbor hrane bogate betainom ograničen, i uobičajene namirnice koje se koriste u ishrani sadrže uglavnom manje od 150 µg/g betaina. U mali broj namirnica sa visokim nivoom betaina (više od 150 µg/g) spadaju šećerna repa, melasa šećerne repe, pšenične mekinje i klice, spanać, škampi, pšenično brašno, kinoa (Craig, 2004). Obogaćivanje hrane betainom, nove formulacije poznatih prehrambenih proizvoda u čiji sastav bi se inkorporirao betain ili sastojci bogati betainom, se nameće kao praktičan i održiv način da se poveća unos betaina putem ishrane. Najbogatiji izvor betaina je šećerna repa (*Beta vulgaris*), pokoj je ovo jedinjenje i dobilo naziv, i iz koje je preradom u šećernoj industriji prvi put izolovano. Pošto je betain potpuno rastvoran u vodi, termostabilan i otporan na hemijske i enzimske agense, zajedno sa saharozom i drugim komponentama prolazi skoro nepromenjen kroz sve izazovne faze

procesa (vodena ekstrakcija, tretman sa kalcijum-hidroksidom i ugljen-dioksidom, koncentrisanje uparavanjem i kristalizaciju) i gotovo kvantitativno se taloži u nusproizvodu industrije šećera, melasi šećerne repe (Krulj i sar., 2014). Komercijalno dostupan betain najčešće je ekstrahovan iz melase putem tečne hromatografije i kristalizacije (Filipčev i sar., 2015).

Ipak, danas se žita smatraju glavnim izvorima betaina u ljudskoj ishrani (de Zwart i sar., 2003). Nivo betaina u žitima varira u zavisnosti od više faktora koji uključuju genotip, klimatske uslove i agrotehničke mere. Istraživanja su pokazala da najveći uticaj na krajnji sadržaj betaina ima stres kojem su usevi izloženi tokom rasta. Poznata je osmoregulatorna i krioprotektna uloga betaina, pa se npr. tokom suše ili ekstremno niskih temperatura u žitima nakuplja veća količina betaina nego u usevima koji nisu bili izloženi ekstremnim uslovima (Slow i sar., 2005).

Na osnovu rezultata do kojih su došli autori de Zwart i sar., (2003), Ross i sar., (2014) i Slow i sar. (2005), uočava se dva do četiri puta veći sadržaj betaina u proizvodima na bazi žita od celog zrna, u odnosu na proizvode nastale od rafinisanog (belog) brašna. Proces mlevenja zrna znatno utičena sadržaj betaina u dobijenim frakcijama, i što je veće uklanjanje aleurenskog sloja i čistija frakcijato je manji sadržaj betaina u krajnjem produktu. Na osnovu podataka prikazanih u tabeli 2, primetnesu varijacije u nivoima betaina u zavisnosti od kategorije proizvoda, zbog različitosti sastojaka u sastavu svakog proizvoda. U svim kategorijama zapažen je veći nivo betaina u proizvodima od integralnog brašna. U skladu sa tim, najistaknutiji nivoi betaina zabeleženi su u uzorcima pšeničnih mekinja, i do 7200 µg/g (720 mg/100g). Umeren do visok sadržaj betaina je otkriven u testeninama, iako se mora uzeti u obzir da analizirani uzorci nisu kuvani. Musli za doručak sadrži pored žita i drugesastojke koji ne doprinose ukupnom sadržaju betaina, pa su zabeležene nešto niže vrednosti za ove proizvode. U ekstrudiranim proizvodima (flips) i u hlebu niže vrednosti betaina su očekivane usled gubitaka tokom proizvodnje.

Tabela 2. Nivoi betaina u proizvodima na bazi žita određenih od strane različitih autora

Namirnica	Sadržaj betaina (µg/g)	Referenca
Pšenično brašno	270-1110	de Zwart i sar., 2003
Testenina	480-1350	
Hleb (belo brašno)	200	Ross i sar., 2014
Hleb od celog zrna	550-1000	
Testenina (belo brašno)	650	
Testenina od celog zrna	700-1200	
Flips proizvodi (belo brašno)	100-200	
Flips proizvodi (celo zrno)	300-500	
Musli (belo brašno)	100-200	
Musli (celo zrno)	600-1100	
Hleb od celog zrna	360-520	Slow i sar., 2005
Hleb od celog zrna	670-790	
Pšenične mekinje	2300-7200	
Musli	270-440	
Biskviti	160-430	
Krekeri	1000-1300	
Pogačice sa sirom	440-500	
Testenina	990-1400	

U poređenju sa brašnom obične pšenice, brašno spelte sadrži značajno više betaina. U istraživanju autora Kojić i sar. (2017) je otkriveno da se sadržaj betaina u speltinom zrnu kretao u

rasponu od 56,52 do 82,46 mg/100 g suve materije dok je u speltinom brašnu od celog zrna pronađeno 125,64 mg/100 g, za razliku od belog brašna koje je sadržalo 41,55 mg/100 g betaina. Isti autori analizirali su nivoe betaina u kategorijama žita, pseudožita i njihovih proizvoda i otkrili da se brašno spelte nalazi na prvom mestu po sadržaju betaina, na drugom je brašno amarantusa, zatim slede brašno ječma, ražano brašno, ovseno brašno, pšenično brašno, brašno prosa i na poslednjem mestu je heljdino brašno. U pirinačnom i kukuruznom brašnu sadržaj betaina je bio ispod nivoa detekcije. Među pseudocerealijskim najbogatiji izvor betaina predstavlja amarantus, koji u svežem zrnu sadrži 742 mg/100 g betaina, prerađeno u brašno 81,7 – 122, 5 mg/100 g, a ekspanovano 66,9 mg/100 g (Ross i sar., 2014; Kojić i sar., 2017). Kinoa takođe spada u izuzetan izvor betaina, čije zrno sadrži 393 mg/100 g betaina (Ross i sar., 2014).

I pored toga što betain poseduje dobru termostabilnost, postoje istraživanja da kuvanjem i pečenjem hrane može doći do izvesnih gubitaka. U radu de Zwart i sar., (2003) primećeno je da su ispitivane pogačice nakon pečenja izgubile 17% od početne količine betaina, kao i to da su najniži gubici postignuti mikrotalasnim kuvanjem (10-14%), a najveći ključanjem u vreloj vodi (43-73%). Poredeći stabilnost betaina u matriksima hrane na bazi žita, uočena je da su najveći gubici nastali tokom kuvanja testenine, što je verovatno posledica toga što se nakon kuvanja uklanja voda u koju je usled lake rastvorljivosti prešao betain iz testenine (Ross i sar., 2014). U studiji Filipčev i sar. (2015), u hlebovima obogaćenim betainom (500-3000 mg/100g brašna) zabeleženi su neočekivano visoki gubici betaina (i do 90%). Autori su kao moguće objašnjenje za ovako velike gubitke ponudili mogućnost da pekarski kvasac tokom fermentacije testa koristi betain kao izvor azota i zaključili da hlebovi i proizvodi od kvasnog testa nisu pogodna osnova za dobijanje proizvoda obogaćenih betainom. Isti autori su pokazali da je keks obogaćen betainom u istim koncentracijama mnogo bolji matriks za očuvanje betaina, jer su gubici u odnosu na kontrolni keks iznosili 17,4 – 28,6% (Filipčev i sar., 2016).

Origano

Origano je od davnina poznat i vekovima se tradicionalno koristi u ishrani kao začim zbog svog jedinstvenog mirisa i ukusa, ali i u medicini zbog svojih terapijskih svojstava (Gutierrez-Grijalva i sar. 2017). Tradicionalna upotreba origana u terapijske svrhe vezuje se za respiratorne i urološke tegobe, lečenje groznice i ublažavanje bolova (Coccimiglio i sar. 2016). Poslednjih godina origano privlači sve veće interesovanje prehrambene i farmaceutske industrije, pre svega zahvaljujući izraženim antioksidativnim i antimikrobnim osobinama, pa je danas jedna od najčešće kultivisanih aromatičnih, začinskih biljaka (Skoufogianni i sar., 2019).

Pod zajedničkim imenom origano podrazumeva se približno 60 biljnih vrsta koje imaju sličan ukus i boju, ali je grčki origano (*Origanum vulgare*) najprepoznatljiviji i najautentičniji predstavnik, često označen samo nazivom origano (Veenstra i Jonhson, 2019). Origano (*Origanum vulgare*) pripada familiji *Lamiaceae* i uzgaja se širom Evrope, Azije, Amerike i severne Afrike (Teixeira i sar., 2013).

To je višegodišnja zeljasta biljka koja u proseku naraste 20-90 cm visine, listovi su ovalnog izgleda, 10-44mm dugački i 5-22mm široki, postavljeni na stabljici jedan nasuprot drugom, na kratkim peteljicama, sa širim krajem pri osnovi, glatkim ivicama i vrhovima koji variraju od oštrog od okruglog oblika (slika 8). Period cvetanja je između maja i oktobra, gde gusto skupljeni cvetovi formiraju metličaste cvasti (Singh i sar., 2018; Skoufogianni i sar., 2019).



Slika 8. Izgled biljke origano (*Origanum vulgare*) (<https://hr.m.wikipedia>)

Studije su pokazale da postoje znatne razlike u morfološkim i hemijskim svojstvima u zavisnosti od vrste origana, kao i u okviru iste vrste u zavisnosti od geografskog porekla i sezone prikupljanja biljke (Skoufogianni i sar., 2019). Istraživanja potvrđuju da sveže i suvo lišće origana, kao i njegovo esencijalno ulje poseduju snažan antioksidativni kapacitet i antibakterijski efekat, što se može pripisati bogatom sastavu prisutnih fitonutrijenata poput karvakola, timola, ruzmarinske kiseline, urzolinske kiseline. Origano karakteriše visok sadržaj esencijalnog ulja (i do 4%), čije glavnekomponente predstavljaju isparljiva fenolna jedinjenja: karvakol, timol, *p*-cimen i *c*-terpinen (Popović i sar., 2010; Coccimiglio i sar. 2016). Sadržaj ugljenih hidrata suvog lišća origana varira u rasponu od 54 do 65%, celuloze od 11 do 15%, proteina 11 do 11,7%, masti 6,4-10,2%. Suvo lišće obiluje i brojnim mineralima i vitaminima, od kojih su najzastupljeniji mangan, kalijum i kalcijum, vitamin A i vitamin E (Popović i sar., 2010).

U radu Oniga i sar. (2018) identifikovano je i kvantifikovano deset fenolnih jedinjenja ekstrakta origana, četiri fenolne kiseline od kojih su dominante ruzmarinska kiselina (12,83 mg/g suve biljne mase) i hlorogenska kiselina (2,1 mg/g), a u tragovima su detektovane *p*-kumarinska kiselina i gentizinska kiselina, kao i šest flavonoida: hiperozid (1,05 mg/g), izokvercitrin (0,71 mg/g), rutin (0,64 mg/g), kvercitrin (0,5 mg/g), luteolin (0,1 mg/g) i kvercetin (samo je identifikovan). Autori su potvrdili izraženu antioksidativnu aktivnost *Origanum vulgare* spp. *vulgare* ekstrakta, i visok ukupan sadržaj fenola (94,69 mg/g). Teixeira i sar. (2013) su ispitali antioksidativnu aktivnost tri različita ekstrakta biljke *Origanum vulgare*, pri čemu je najsnažniju antioksidativnu moć određenu DPPH metodom, iskazao ekstrakt sa vrelom vodom, a zatim etanolni, i na kraju ekstrakt sa hladnom vodom kao rastvaračem. Mnogobrojni naučni radovi potvrdili suantibakterijska (Coccimiglio i sar., 2016), antigljivična (De Sousa i sar., 2013), antivirusna (Zhang i sar., 2014), antiseptična (Popović i sar., 2010), anti-inflamatorna (Javadian i sar., 2015), antidijabetska (Vučić i sar. 2015), antikancerogena (Kubatka i sar. 2016), kardioprotektivna (Skoufogianni i sar. 2019), hepatoprotektivna (Sikander i sar. 2013), gastroprotektivna (Veenstra i Jonhson, 2019) i neuroprotektivna (Singh i sar., 2018) svojstva origana.

Posebnu pažnju origano privlači kao prirodna i zdravija alternativa upotrebi sintetičkih aditiva i antioksidanasa u hrani, radi povećanje njene mikrobiološke održivosti i stabilnosti. U poslednje

vreme raste interesovanje za upotrebu origana kao dodatka hrani za životinje i prirodnog antibiotika, posebno nakon uvođenja zabrane upotrebe klasičnih antibiotika u farmama Evropske Unije (Popović i sar. 2010).

Pokazalo se da dodatak ekstrakta origana pozitivno utiče na očuvanje fizičkih i hemijskih svojstava, kao i senzornu prihvatljivost namirnice zbog toga što utiče na redukciju lipidne i proteinske oksidacije (Fernandes i sar., 2017; Veenstra i Jonhson, 2019). De Suosa i sar. (2013) kombinacijom ekstrakta origana i ruzmarina su inhibirali rast prisutnih gljivica i sačuvali izgled i čvrstoću grožđa, dok su Sampaio i sar. (2012) kombinacijom ekstrakta origana i žalfije usporili lipidnu oksidaciju pilećeg mesa. Može se zaključiti da je ekstrakt origana, sam ili korišćen u kombinaciji sa ekstraktima drugog začinskog bilja, veoma koristan u konzervisanju hrane.

Origano kao ulje ili u osušenom, mlevenom ili fino spraćenom obliku ima vrlo široku upotrebu u farmaceutskoj (terapeutska svojstva), kozmetičkoj (dezinfekciona svojstva) i prehrambenoj industriji (začin i prirodni konzervans) (Skoufogianni i sar., 2010). Sveži listovi se koriste u kulinarstvu, kao dodatak tradicionalnim jelima i sosevima, dok se sušeni listovi koriste kao začin, čaj ili suplement u proizvodnji specifičnih prehrambenih proizvoda poput aromatičnih sireva, mesnih prerađevina, testenina i keksa (Popović i sar., 2010; Sampaio i sar., 2012).

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Polazna osnova istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji je valorizacija melase šećerne repe - nusproizvoda prehrambene industrije, kao osmotskog rastvora u procesu osmotske dehidracije listova sremuša i dodatak osmotski dehidrisanih listova sremuša u keks kao prehrambeni matriks, sa ciljem kreiranja novog proizvoda unapređenog kvaliteta, obogaćenog bioaktivnim sastojcima iz melase.

Ciljevi istraživanja obuhvaćeni eksperimentalnim radom u okviru ove doktorske disertacije bili su sledeći:

- Analiziranje uticaja primenjenog osmotskog rastvora, temperature i dužine procesa osmotske dehidracije na parametre koji opisuju prenos mase tokom procesa, definisanje optimalnih uslova procesa i njihov uticaj na mikrobiološka, nutritivna i antioksidativna svojstva osmotski dehidrisanih listova sremuša;
- Formulacija keksa od integralnog speltinog brašna sa dodatkom svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša i origana;
- Karakterizacija dobijenih uzoraka keksa u pogledu teksturalnih i senzornih karakteristika, instrumentalno određene boje, sadržaja mineralnih materija i komponenti osnovnog hemijskog sastava, ukupne antioksidativne aktivnosti, sadržaja ukupnih fenola, flavonoida i tiosulfinata, kvalitativnog i kvantitativnog profila fenolnih jedinjenja, sadržaja betaina i dijetnih vlakana, kao i antioksidativne aktivnosti nakon *in vitro* digestije.

4. MATERIJAL I METODE

Eksperimentalna istraživanja u okviru ove doktorske disertacije podeljena su u dve faze. U prvoj fazi je sproveden postupak osmotske dehidracije listova sreмуša, ispitan uticaj vrednosti parametara procesa na specifične odzive procesa, kao i uticaj odabranih uslova procesa na mikrobiološki, nutritivni i antioksidativni profil osmotski dehidrisanih listova sremuša. U drugoj fazi istraživanja ispitan je uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na pojedina svojstva kvaliteta slanog keksa definisanog sastava. Eksperimentalni rad se odvijao u laboratorijama Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu i u laboratorijama Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu. Statistička obrada rezultata je uključena kako bi se odredio značaj i interakcija pojedinih faktora na posmatrane odzive.

Materijal

Sreмуš kao sirovina za proces osmotske dehidracije i pripremu keksa

Sreмуš, biljna sirovina potrebna za istraživanja u obe faze doktorske disertacije, sakupljen je tokom aprila meseca, u šumskoj oblasti obroncima planine Fruške gore (45°08'34.6"N; 19°36'55.0"E). Ručno su birani neoštećeni listovi sremuša, koji su odmah nakon branja odneti u laboratoriju, oprani i u svežem stanju upotrebljeni u procesu osmotske dehidracije i kao dodatak keksu. Za pripremu ekstrakata i metoda koje zahtevaju uzorke u suvom stanju, listovi sremuša su sušeni u liofilizatoru (Christ ALPHA 1-2 LDPLUS, Osterode am Harz, Nemačka) (slika 9), usitnjeni, homogenizovani i čuvani u frižideru na 4°C, do dalje upotrebe.



Slika 9. Liofilizacija svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša

Sirovine za pripremu rastvora za osmotsku dehidraciju

Za pripremu vodenog rastvora soli i šećera, upotrebljene su sledeće sirovine: natrijum hlorid (proizvođač „So produkt“, Stara Pazova) i rafinisani beli šećer (saharoza) (proizvođač „Sunoko“, Vrbas) tj. komercijalni proizvodi (so i šećer), nabavljeni u lokalnom marketu, kao i destilovana voda.

Kao drugi osmotski rastvor korišćena je melasa šećerne repe, sa sadržajem suve materije 85,04%. Melasa je dobavljena iz fabrike šećera „Crvenka“ i čuvana je u zatvorenim plastičnim posudama na sobnoj temperaturi, pre nego što je upotrebljena kao osmotski rastvor u procesu osmotske dehidracije.

Materijal za izradu slanog keksa

Pored već navedenih šećera i soli, za izradu keksa sa dodatkom svežih ili osmotski dehidrisanih listova sremuša, kao i kontrolnih uzoraka (bez sremuša) upotrebljen je sledeći materijal: integralno speltino brašno (Jevtić, Bačko Gradište); margarin („Dijamant“, Zrenjanin); -sredstvo za narastanje testa (natrijum bikarbonat NaHCO_3) („Aleva“, Novi Kneževac), origano („Aleva“, Novi Kneževac) i voda.

Postupak osmotske dehidracije

Vodeni rastvor soli (natrijum hlorid NaCl) i šećera (saharozе $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) pripremljen je tako što je uz pomoć električne mešalice (Talboys Instrument Corp. Emerson, N.J., USA) 350 g soli rastvoreno u potpunosti u 1 l destilovane vode, a nakon toga je dodato 1200 g šećera, i takođe u potpunosti rastvoreno u drugoj fazi mešanja (Collignan i sar., 2001). Koncentracije suve materije u ovako pripremljenom osmotskom rastvoru iznosi 60%, što je ujedno i maksimalna koncentracija, jer su odabrane količine soli i šećera zasnovane na njihovoj graničnoj rastvorljivosti u vodi, na sobnoj temperaturi. Tri komponente u dobijenom rastvoru se nalaze u sledećem odnosu: saharoza 47,04%, NaCl 13,72% i destilovana voda 39,2%. Melasa šećerne repe (koncentracije suve materije 85,04%) korišćena je u procesu osmotske dehidracije bez prethodne pripreme.

Listovi sremuša su ručno odvajani od stabljike, temeljno oprani i osušeni uz pomoć papirnih ubrusa, a zatim isečeni makazama na komadiće dimenzija približno 1x1 cm. Nakon toga, prethodno odmereni uzorci svežih listova sremuša su potopljeni u laboratorijske čaše prethodno napunjene pripremljenim osmotskim rastvorima, po 9 čaša za svaki osmotski rastvor. Početni maseni odnos biljne sirovine i osmotskog rastvora u svakoj čaši je iznosio 1:20, kako bi se tokom dehidracije sremuša sprečilo prekomerno razređivanje osmotskih rastvora i predupredilo usporavanje kinetike procesa. Veliki odnos materijal/rastvor je odabran i iz razloga što su listovi sremuša kabast materijal, da bi se omogućilo da uzorak bude dobro potopljen i prekriven osmotskim rastvorom. Pomoću plastičnih mreža koje su postavljene odozgo preko potopljenih uzoraka, dodatno je poboljšana efekat potapanja i onemogućeno plutanje listova sremuša po površini osmotskog rastvora.

Eksperimenti su se odvijali na blagim temperaturama kako bi se izbegla degradacija tkiva listova sremuša i to na: 20°C, 35°C i 50°C. Ove temperature su održavane konstantnim u inkubatoru (In 160, Memmert, Schwabach, Nemačka), na atmosferskom pritisku, za vreme trajanja procesa od 1, 2,5 i 4 sata. Na svakih 15 minuta pristupalo se ručnom mešanju, radi bolje homogenizacije rastvora i difundovane vode iz potopljenih uzoraka, kao i poboljšanja masenog transfera koji se odvija tokom procesa. Intenzitet, trajanje i frekvencija mešanja bili su isti za sve uzorke pri svim temperaturama i periodima trajanja procesa, kako bi rezultati bili uporedivi. Nakon odabranih vremenskih intervala,

uzorci su izdvojeni iz osmotskih rastvora, isprani tekućom vodom radi uklanjanja rastvora koji su se zadržali na površini listova, a zaostala voda sa površine dehidrisanih uzoraka je uklonjena papirnim ubrusima. Ovako dobijeni uzorci su odmereni i čuvani u frižideru za dalje analize i pripremu keksa.

Priprema uzoraka keksa

Uzorci keksa su pripremljeni prema modifikovanoj metodi AACC 10-50D (2000), sa sledećim sastojcima koji čine osnovnu formulaciju keksa: brašno spelte u količini od 225 g, margarin u količini od 64 g, šećer u količini od 2,25 g, NaCl u količini od 2,1 g, NaHCO₃ u količini od 2,5 g i voda u količini od 50 g. Potpuni eksperimentalni plan koji je uključivao dodavanje svežih i listova sremuša osmotski dehidrisanih u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida, kao i u melasi šećerne repe, zajedno sa origanom u osnovnu formulaciju keksa predstavljen je u tabeli 3.

Tabela 3. Sirovinski sastav uzoraka keksa

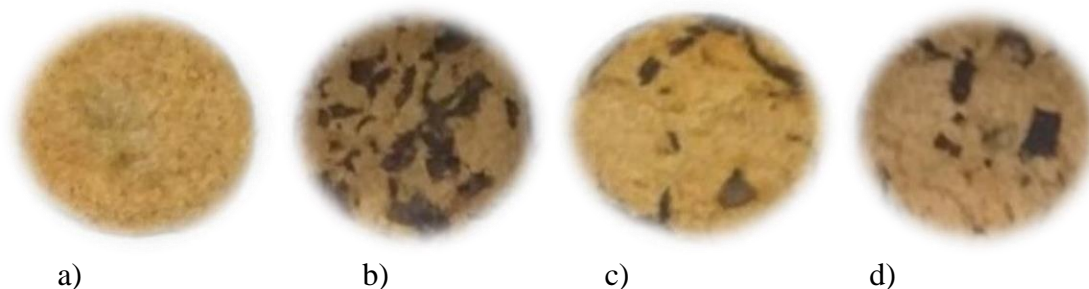
R. br.	Listovi sremuša	Količina dodatih listova sremuša	Količina dodatog Origana
1	/	0%	0%
2	Sveži	1,25%	0%
3	Sveži	2,5%	0%
4	/	0%	0,5%
5	Sveži	1,25%	0,5%
6	Sveži	2,5%	0,5%
7	/	0%	1%
8	Sveži	1,25%	1%
9	Sveži	2,5%	1%
10	/	0%	0%
11	OD u R1*	1,25%	0%
12	OD u R1	2,5%	0%
13	/	0%	0,5%
14	OD u R1	1,25%	0,5%
15	OD u R1	2,5%	0,5%
16	/	0%	1%
17	OD u R1	1,25%	1%
18	OD u R1	2,5%	1%
19	/	0%	0%
20	OD u R2**	1,25%	0%
21	OD u R2	2,5%	0%
22	/	0%	0,5%
23	OD u R2	1,25%	0,5%
24	OD u R2	2,5%	0,5%
25	/	0%	1%
26	OD u R2	1,25%	1%
27	OD u R2	2,5%	1%

Količine dodatog svežeg i osmotski dehidrisanog sremuša i origana su izražene u procentima njihove suve materije računato na količinu brašna, * OD u R1 – sremuš osmotski dehidrisan u vodenom rastvoru NaCl i saharoze, ** OD u R2 – sremuš osmotski dehidrisan u melasi šećerne repe, uzorci 1, 10, 19; 4, 13, 22; 7, 16, 25 su ponovljeni radi lakšeg praćenja promena u okviru variranih parametara

Količine svežih listova sremuša i origana su odabrane da omoguće maksimalno - inkorporiranje u sirovinski sastav keksa bez narušavanja strukture testa. Sveži i osmotski dehidrisani

listovi sremuša su dodavani u količinama koje su jednake po suvoj materiji, što omogućava poređenje na odgovarajućim nivoima dodavanja. U formulaciji uzoraka keksa gde je dodat svež ili osmotski dehidrisani sremuš, količina vode je smanjena za količinu vode poreklom od svežeg ili osmotski dehidrisanih listova, tako da je ukupna količina vode predstavljena u svim formulacijama testa bila ista. Maksimalni dodatak svežih listova sremuša je iznosio 2,5% suve materije računato na količinu brašna, zbog toga što svež sremuš sadrži samo 7,91% suve materije, pa je ovim dodatkom već propisana količina vode u testu. S obzirom da su osmotski dehidrisani listovi sremuša sadržali znatno veći procenat suve materije, teoretski je bilo moguće dodati ih i u većim količinama, međutim zbog uporedivosti rezultata dodatak od 2,5% je odabran kao maksimalna količina u ovom istraživanju.

Sam postupak proizvodnje slanog keksa sa ili bez osmotski dehidrisanih listova sremuša tekao je tako što su svi odmereni sastojci, osim vode, stavljeni u posudu miksera HobartC-100 (National MFG CO, Linkoln, Nebraska, SAD) i mešani tokom 3 minuta, zatim je dodavana voda i testo je mešano tokom 2 minuta. Dobijeno testo je oblikovano u jufke i stavljeno u frižider na 8°C tokom 30 minuta da se odmara. Nakon toga, testo je laminirano do ujednačene visine od 7 mm i isečeno na ujednačenu veličinu $\phi = 60$ mm. Formirano Oblikovano testo-keks je stavljeno u rernu zagrejanu na 200°C i pečeno 10 minuta. Pečeni keksi su ostavljeni da se ohlade i odmaraju u kontrolisanim uslovima okoline (23°C i relativna vlažnost vazduha od 60 %), u inkubatoru (In 160, Memmert, Schwabach, Nemačka), tokom 24 sata pre daljeg analiziranja.



Slika 10. Izgled pripremljenih uzoraka keksa: a) kontrolni uzorak, b) keks sa svežim listovima sremuša, c) keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u vodenom rastvoru NaCl i saharoze, d) keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u melasi šećerne repe

Metode

Određivanje mase uzoraka

Mase uzoraka svežih listova sremuša, kao i mase uzoraka listova sremuša nakon osmotske dehidracije u oba rastvora, odmerene su na vagi (KERN 440-35N), tačnosti $\pm 0,01$ g.

Određivanje sadržaja suve materije

Sadržaj suve materije (DMC) svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša određivan je gravimetrijski, tako što su odmereni uzorci sušeni do postizanja konstantne mase u sušnici (Instrumentaria, Zagreb, Hrvatska) na temperaturi od 105°C, u skladu sa AOAC metodom No. 925.10

(Horwitz, 2019). Na osnovu odnosa postignute konstante mase uzorka i mase uzorka pre sušenja izračunati su sadržaji suve materije svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša, i izraženi u procentima (jednačina 1).

$$DMC = \frac{m_d}{m_i} \cdot 100\% \quad (1)$$

m_d - masa suve materije (g), m_i - masa početnog uzorka (g)

Kalkulacija parametara osmotske dehidracije

U cilju opisivanja efikasnosti masenog transfera tokom procesa osmotske dehidracije praćeni su kinetički parametri, gubitak vode (WL) i priraštaj suve materije (SG), koji su izračunati korišćenjem jednačina opisanih od strane autora Filipović i sar. (2017),

$$WL = \frac{m_i z_i - m_f z_f}{m_i} \left[\frac{-g}{g_{i.s.}} \right] \quad (2)$$

$$SG = \frac{m_f s_f - m_i s_i}{m_i} \left[\frac{-g}{g_{i.s.}} \right] \quad (3)$$

gde su m_i i m_f mase uzorka pre i nakon osmotske dehidracije (g); z_i i z_f maseni udeli vode u uzorcima pre i nakon osmotske dehidracije (g vode/g početnog uzorka); s_i i s_f maseni udeli suve materije u uzorcima pre i nakon osmotske dehidracije (g suve materije/g početnog uzorka), $g_{i.s.}$ (i.s. - engl. initial sample) je masa početnog uzorka.

Tri ključna parametra (DMC, WL i SG) za karakterizaciju masenog transfera tokom osmotske dehidracije su određena za sve tri odabrane procesne temperature (20°C, 35°C i 50°C) i vremena imerzije (1, 2,5 i 4h) i izražene kao srednje vrednosti tri ponovljena merenja sa standardnim devijacijama.

4.4. 4. Određivanje vrednosti aktivnosti vode (a_w)

Vrednosti aktivnosti vode (a_w) svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša određivane su korišćenjem uređaja TESTO 650 (Testo SE & Co. KgaA, Lenzkirch, Nemačka), tačnosti od $\pm 0,001$, opremljenim specijalnom sondom za merenje a_w vrednosti, na temperaturi od 25 °C i u skladu sa standardom SRPS ISO 18787:2019.

Ispitivanje mikrobiološkog profila

Mikrobiološki profil svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša određen je prema sledećim metodama mikrobioloških analiza:

- Ukupan broj mikroorganizama određen je na osnovu standarda SRPS EN ISO 4833-1:2017,
- Prisutan broj *Enterobacteriaceae* određen je prema standardu SRPS EN ISO 21528-2:2017,
- Određivanje prisutnog broja *Escherichia coli*, izvedeno je prema standardu SRPS EN ISO 16649-2:2018.
- Prisutnost *Salmonella* spp. je određena na osnovu standarda SRPS EN ISO 6579-1:2017,

-Broj koliformnih bakterija određen je prema standardu SRPS EN ISO 9308-2:2017,

-Određivanje prisutnog broja kvasaca i plesni rađeno je prema standardu SRPS ISO 21527-1:2011.

Ispitivanja hemijskog sastava

Određivanje sadržaja odabranih hemijskih komponenti uslovljeno je nastojanjem da se prate promene u hemijskom sastavu sremuša uzrokovane masenim transferom tokom osmotske dehidracije, kao i promene u hemijskom sastavu keksa usled dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša. Sadržaj analiziranih komponenti je određivan u skladu sa standardnim AOAC metodama (Horwitz, 2019): sadržaj proteina (metod No. 950.36), sadržaj masti (metod No. 935.38), sadržaj celuloze (metod No. 973.18), sadržaj skroba (metod No. 996.11), sadržaj ukupnih šećera (metod No.80-68), sadržaj pepela (metod No. 930.22). Svako merenje je izvedeno u tri ponavljanja.

Određivanje sadržaja minerala

Sadržaj mineralnih materija:kalijuma (K), kalcijuma (Ca), natrijuma (Na), cinka (Zn), bakra (Cu), magnezijuma (Mg) i gvožđa (Fe), u ispitivanim uzorcima je određen primenom standardnih AOAC metoda (Horwitz, 2019). Navedene mineralne komponente su analizirane atomskom apsorpcionom spektrofotometrijskom tehnikom (metod No. 984.27) na instrumentu Varian Spectra AA 10 (Varian Techtron Pty Ltd., Mulgware Victoria, Australija). Za svaki ispitivani mineral merenje je ponovljeno tri puta.

Određivanje sadržaja ukupnih fenola, flavonoida i tiosulfata

Priprema ekstrakata za određivanje sadržaja fenolna i flavonoida

Za određivanje sadržaja fenola u uzorcima osmotski dehidrisanih listova sremuša i keksa, prethodno liofilizovani uzorci su fino sprášeni upotrebom laboratorijskog mlina tipa WZ-1 (Spolem, Bydgoszcz, Poljska) i dalje pripremljeni kao metanolni ekstrakti, upotrebom 80% metanola, u odnosu 1:10 (m/V). Ekstrakcija se odvijala na sobnoj temperaturi uz mućkanje u trajanju od 24h. Posle toga, dodatno je izvedena ultrazvućna ekstrakcija pomoću ultrazvućnog kupatila (EUP540A, Euinstruments, Francuska) u trajanju od 10 min. Zatim je svaki uzorak profiltriran i dalje korišćen za analize.

Spektrofotometrijsko određivanje sadržaja ukupnih polifenola

U dobijenim ekstraktima, sadržaj ukupnih fenola određen je spektrofotometrijskom metodom po Folin–Ciocalteu, merenjem intenziteta plave boje koji nastaje nakon reakcije redukujućeg anjona Folin-Ciocalteu reagensa i fenoksidnog anjona iz polifenolnih jedinjenja (Singleton i sar., 1999).

Odgovarajućim metanolnim ekstraktima kolićini od 0,1 ml je pomešan sa 7,9 ml destilovane vode, 0,5 ml Folin-Ciocalteu reagensa i 1,5 ml 20% Na₂CO₃. Za pripremu slepe probe je umesto 0,1 ml uzorka dodato 0,1 ml ekstragensa. Reakciona smeša je inkubirana 1 h na sobnoj temperaturi, nakon čega je izmerena apsorbanca na spektrofotometru (model 6300, Jenway, Velika Britanija) na talasnoj dućini od 750 nm.

Sadržaj ukupnih fenola izračunat je na osnovu kalibracione krive standardnog rastvora galne kiseline i izražen kao ekvivalent galne kiseline (EGK) u 100 g suve materije ispitivanog uzorka.

Spektrofotometrijsko određivanje sadržaja ukupnih flavonoida

Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida izvedeno je pomoću spektrofotometrijske metode po Markham-u, koja je zasnovana na sposobnosti flavonoida da sa metalima grade odgovarajuće metalo-organske komplekse (Harborne, 1989). Priprema reakcione smeše obuhvata mešanje 1 ml uzorka (odgovarajućeg metanolnog ekstrakta) sa 4 ml destilovane vode i 0,3 ml 5% natrijum nitrita (NaNO_2). Nastala smeša je 6 minuta inkubirana na sobnoj temperaturi, nakon čega joj je dodato 0,3 ml aluminijum hlorid heksahidrata ($\text{AlCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$) i posle 5 minuta još 2 ml 1 M natrijum hidroksida (NaOH), i na kraju je dopunjena destilovanom vodom do ukupne zapremine od 10 ml. Na spektrofotometru (model 6300, Jenway, Velika Britanija) merena je apsorbancija uzorka, na talasnoj dužini od 510 nm.

Sadržaj ukupnih flavonoida izračunat je na osnovu kalibracione krive standardnog rastvora katehina i izražen kao ekvivalent katehina (EK) u 100 g suve materije ispitivanog uzorka.

Identifikacija i kvantifikacija polifenola tečnom hromatografijom (HPLC-DAD)

Kvalitativni i kvantitativni profil fenolnih jedinjenja određen je po metodi predstavljenoj u radu Mišan i sar. (2011). Ova metoda podrazumeva tečnu hromatografiju visokog pritiska, koja se odvija na uređaju (Agilent 1200 series, Paolo Alto, CA, SAD), uz upotrebu Agilent, Eclipse XDB-C18 kolone (1,8 μm , unutrašnji prečnik 4,6 \times 50 mm; veličina punjenja 1,8 μm) i detektora sa nizom dioda (Agilent, SAD). Pripremljeni tečni ekstrakti uzoraka razblaženi su do koncentracije 5 mg/ml, profiltrirani kroz membranski PFTE filter 0,45 μm (Agilent, Paolo Alto, CA, SAD) i potom ubrizgani za analizu. Kao mobilna faza primenjen je sistem rastvarača A (metanol) i B (1% mravlja kiselina) u različitim odnosima tokom analize, sa protokom od 1.00 ml/min. Temperatura kolone je bila 30°C. Injektovanje uzorka (5 μl) je izvedeno uz pomoć automatskog autosemplera. Spektar za snimanje je podešen u rasponu 190–400 nm, dok je hromatogram sniman na 280, 330 i 350 nm. Metoda spoljašnjeg standarda je korišćena za kvantifikaciju. Fenolna jedinjenja prisutna u ispitivanim uzorcima su identifikovana na osnovu retencionih vremena i spektralnih karakteristika očitanih pikova u poređenju sa standardima (Sigma-Aldrich GmbH, Nemačka).

Određivanje ukupnih tiosulfinata

Određivanje ukupnih tiosulfinata rađeno je na osnovu metode opisane u radu Han i sar. (1995), uz modifikacije. Metoda se zasniva se na indirektnoj reakciji L-cisteina u višku sa jedinjenjem 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzeva kiselina) (DTNB), prilikom čega nastaje jedinjenje 2-nitro-5-tiobenzoatom (TNB²⁻). Ovako nastalo jedinjenje jonizuje u sredini koja je neutralna do alkalna, dajući žuto obojenje. Ukupni tiosulfinati su u korelaciji sa nastalim jonizovanim jedinjenjem. Liofilizacijom osušeni uzorci (2,5 g) ekstrahovani su sa 20 ml HEPES (4-(2-hidroksietil)-1- piperazinetanesulfonska kiselina) pufera (50 mM, pH 7,5) uz mešanje na orbitalnoj mešalici (300 o/min), tokom 15 min, na sobnoj temperaturi. Nakon ekstrakcije, dobijeni ekstrakt je centrifugiran na 10000 o/min, u trajanju od 10 min i profiltriran. Dobijeni ekstrakt (1 ml) pomešan je sa 1 ml L-cisteina (5 mM u HEPES

pufetu). Formirana reakciona smeša je razblažena do 50 ml i ostavljena 15 min na sobnoj temperaturi. Od dobijene smeše 9 ml reaguje sa 1 ml rastvora DTNB (1,5 mM u HEPES pufetu). Na talasnoj dužini od 412 nm, očitana je apsorbancia, nakon 15 minuta.

Za slepu probu je umesto ekstrakta upotrebljen čist rastvarač (HEPES pufet). Sadržaj ukupnih tiosulfinata izražen je kao ekvivalent alicina (EAC) u 100 g suve materije ispitivanog uzorka i izračunat po sledećoj formuli:

$$C_{\text{tiosulfinata}} = (\Delta A * 100) / (2 * 14150) \quad (4)$$

ΔA – razlika između apsorbanci slepe probe i probe, 14150 – molarni koeficijent za DTNB, 2 – broj molova cisteina koji su potrebni za nastajanje tiosulfinata.

4.4.9. Određivanja antioksidativne aktivnosti

Antioksidativna aktivnost svih analiziranih uzoraka određena je pomoću spektrofotometrijskih metoda neutralizacije ABTS (2,2'-azino -bis (3 -etilbenzotiazolin -6 -sulfonska kiselina) i DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikala. Priprema testiranih ekstrakata i postupak ove dve antioksidativne metode opisani su u radu Van den Berg i - sar. (1999). ABTS metoda se odvija na principu sposobnosti neutralizacije tj. obezbojavanja zelenog rastvora ABTS radikal katjona u prisustvu uzorka, na talasnoj dužini od 734 nm. Mehanizam DPPH metode zasniva se na prevođenju slobodnih DPPH radikala u stabilnu formu, u prisustvu antioksidanata ispitivanog uzorka, što se prati obezbojavanjem ljubičastog rastvora DPPH radikala na 520 nm. Apsorbance proba i slepih proba su merene na spektrofotometru (T80 + UV-Vis Spectrophotometer, PG instruments LTD, Engleska), nakon 10 min za ABTS i nakon 30 min za DPPH. Rezultati su izraženi kao procenti inhibicije slobodnih ABTS i DPPH radikala (AA), i izračunati su na osnovu očitanih apsorbanci u probi sa uzorkom i slepoj probi nakon reakcije, prema sledećoj jednačini:

$$AA (\%) = 100 * (A_{sp} - A_p) / A_{sp} \quad (5)$$

gde su: A_{sp} – apsorbancia slepe probe, a A_p – apsorbancia uzorka.

Dobijene vrednosti antiradikalske aktivnosti ispitivanih uzoraka takođe su izražene kao koncentracije uzoraka (mg/ml) potrebne za inhibiciju 50% početne koncentracije ABTS i DPPH radikala.

Instrumentalno određivanje karakteristika kvaliteta boje uzoraka keksa

Boja analiziranih uzoraka keksa instrumentalno je određivana u šest ponavljanja, 24 h nakon pečenja upotrebom hromometra (CR-400, Konica, Minolta, Tokyo, Japan), tristimulusnog kolorimetra, prečnika kontaktne površine 8 mm. Pre merenja uzoraka, urađena je kalibracija uređaja korišćenjem standarda bele boje. Rezultati parametra kvaliteta boje predstavljeni su prema CIElab sistemu boja, gde su koordinate predstavljene na sledeći način: L^* – svetloća (od 0 (crne) do 100 (bele)), a^* – udeo zelene nijanse/crvene nijanse (od $-a^*$ (zelene) do $+a^*$ (crvene)), b^* – udeo plave nijanse/žute nijanse (od $-b^*$ (plavo) do $+b^*$ (žuto)). Razlika u obojenosti (C) i razlika u tonovima (h) su takođe izračunati u skladu sa sledećim jednačinama:

$$h = \arctan \frac{b^*}{a^*} \quad (6)$$

$$C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (7)$$

Instrumentalno određivanje teksture uzoraka keksa

Teksturalne karakteristike keksa određivane su na teksturometru TA-XT2 (Stable Micro System, Godalming, Engleska) sa opterećenjem od 25 kg. Korišćen je test savijanja u tri tačke. Uzorci keksa su postavljeni na nosače sa dužinom razmaka od 12 mm. Merenja su sprovedena korišćenjem režima kompresije pri brzini od 1 mm/s pre testiranja, 3 mm/s tokom testiranja, i 10 mm/s nakon testiranja. Primenom računarskog softvera Exponent Stable MicroSystems, verzija 6.0, maksimalna sila f (N) i rastojanje prilikom loma su registrovani u funkciji vremena i predstavljanju pokazatelje tvrdoće i lomljivosti keksa. Merenje teksturalnih svojstava keksa izvršeno je u šest ponavljanja za svaku ispitivani uzorak keksa, 24 h nakon pečenja, na sobnoj temperaturi.

Senzorna analiza uzoraka keksa

Senzorna analiza uzoraka keksa sprovedena je primenom metode deskriptivne analize u cilju dobijanja senzornog profila ispitivanih uzoraka. U ocenjivanju su učestvovali obučeni evaluatori (šest žena i dva muškarca) zaposleni u Odeljenju za senzorno i tehničku analizu akreditovane laboratorije Instituta za prehrambenu tehnologiju, Novi Sad, Srbija. Panel je formiran prema zahtevima standarda ISO 6658:2017. Odabir deskriptora za senzorno profilisanje uzoraka keksa prethodno je sproveo rukovodilac panela ocenjivača uz dalje prilagođavanje sa ostalim panelistima kako bi se bolje definisao senzorni profil keksa. Konačna lista se sastojala od četiri deskriptora među kojima su: deskriptor koji karakteriše izgled keksa (intenzitet boje i izgled površine), deskriptor koji karakteriše odstupanje od standardnog ukusa, deskriptor koji pokazuje odstupanje od standardnog mirisa i deskriptor korišćen za definisanje svojstava teksture (tvrdoća i lomljivost, prhkost i topivost). Za merenje intenziteta odabranih deskriptora korišćena je skala od devet tačaka pri čemu se sa 1 označava najniži intenzitet, a sa 9 najveći intenzitet.

Senzorna evaluacija uzoraka keksa obavljena je 24 h nakon pečenja u Laboratoriji za senzornu analizu Instituta za prehrambenu tehnologiju, Novi Sad, Srbija, projektovanoj prema standardu ISO 8589:2007. Uzorci keksa su prezentovani ocenjivačima na belim plastičnim pločama, kodirani nasumičnim trocifrenim kodovima iz tabele slučajnih brojeva, a svaki evaluator je testirao pet uzoraka po sesiji. Nakon svakog testiranja uzoraka keksa, evaluatori su isprali usta vodom.

Određivanje sadržaja betaina

Kvantifikacija betaina u uzorcima izvođena je metodom tečne hromatografije visokih performansi, na prethodno pripremljenim ekstraktima.

Postupak ekstrakcije: 2 g samlevenog uzorka suspendovano je u 25 ml metanola. Uzorak je homogenizovan na vorteksu 10 min, a u narednih pola sata podvrgnut ekstrakciji u ultrazvučnom kupatilu (ATU Ultrasonidos, Španija). Kiveta sa uzorkom je posle toga centrifugirana 10 min na 5000 o/min (Eppendorf Centrifuge 5804R). Gornji metanolski sloj je odvojen i uparen do suva, a ostatak rekonstituisan u 2 ml vode i profiltriran kroz membranski filter (pore veličine 0,22 mm, prečnika 25

mm, AgilentTechnologies, Santa Clara, SAD).

Određivanje betaina izvedeno je na hromatografu HPLC system Agilent (Agilent Technologies Inc., SAD) koji je opremljen kolonom Kinetex®HILIC (Phenomenex, Nemačka) dimenzija (2,6 μ m, 100 x 2,1 mm) i ELSD detektorom (1290 Infinity ELSD, Agilent Technologies, SAD). Protok mobilne faze koju je činilo 80% acetonitrila i 20% pufera je bio 0,5 ml/min (Kojić i sar., 2017). Režim rada je izokratski. Određivanja je trajalo 10 min. Injektovanje je izvedeno automatski, na temperaturi okoline, a zapremina injektovanja je bila 5 μ l. Parametri po kojima je detektor bio podešen bili su sledeći: temperatura isparivača 40°C, temperatura raspršivača 5°C, brzina protoka gasa 1,60 SLM. Kao kalibracioni standard je upotrebljen anhidrovani betain čistoće 98%. Sve analize su rađene u dva ponavljanja.

Određivanja sadržaja dijetnih vlakana

Sadržaj ukupnih i nerastvorljivih dijetnih vlakana u uzorcima keksa određen je u skladu sa standardnom metodom AOAC 991.43 (Horwitz, 2019). Na analitičkoj vagi je odmeren po 1 g osušenog i obezmašćenog uzorka i raspoređen u četiri čaše od 400 ml (dve za određivanje ukupnih i dve za određivanje nerastvorljivih vlakana). U čaše je dodato 40 ml MES-TRIS pufera, pH=8 i 40 μ l rastvora termostabilne α -amilaze. Nakon toga, čaše prekrivene aluminijumskom folijom su postavljene u vodeno kupatilo, na 100° C u trajanju od 35 min, uz mešanje magnetnom mešalicom. Uzorci su potom ohlađeni na 60 °C, dodato je 100 μ l proteaze, a nakon inkubiranja na 60°C, u trajanju od 30 min, dodato je još 5 mL rastvora 0,561 M HCl-a. Dodavanjem 5 % HCl ili 5 % NaOH pH vrednost je podešena na 4,1 – 4,8. Na kraju je dodato 200 μ l amiloglukozidaze i uzorak je inkubiran na 60°C u tokom od 30 min. Sadržaj iz dve čaše je profiltriran pomoću vakuum filtra, kroz prethodno izmerene, oprane, osušene i izarene nučeve sa celitom. Talog zaostao nakon filtriranja je ispran vodom zagrejanom na 70°C, 95% etanolom i acetonom. Ovako dobijen talog predstavlja nerastvorljiva vlakna u uzorku.

U druge dve čaše dodato je 225 mL 95 % etanola zagrejanog na 60°C i ostavljeno 60 min na sobnoj temperaturi, kako bi se istaložila i rastvorljiva vlakna. Posle filtriranja sadržaja čaša kroz nuč sa celitom, zaostaje talog koji je ispran 78 % i 95 % etanolom i acetonom. Ovako dobijen talog predstavlja i nerastvorljiva i rastvorljiva vlakna, tj. ukupna vlakna.

Metoda *in vitro* digestije

Metoda *in vitro* digestije uzoraka keksa izvedena je na osnovu modifikovane metode opisane u radu Minekus i sar. (2014). Ova metoda se zasniva na tri faze koje simuliraju uslove u sistemu organa za varenje čoveka, konkretno u ustima, želucu i crevima. Priprema simuliranih sokova gastrointestinalnog trakta se odvija prema sledećoj recepturi: simulirani sokovi pljuvačke (KCl- 15,1 mM, KH₂PO₄-3,7 mM, NaHCO₃-13,6 mM, MgCl₂(H₂O)₆-0,15 mM, (NH₄)₂CO₃-0,06 mM), želuca (KCl- 6,9 mM, KH₂PO₄-0,9 mM, NaHCO₃-25 mM, NaCl- 47,2 mM, MgCl₂(H₂O)₆-0,1 mM, (NH₄)₂CO₃-0,5 mM) i creva (KCl- 6,8 mM, KH₂PO₄-0,8 mM, NaHCO₃-85 mM, NaCl- 38,4 mM, MgCl₂(H₂O)₆-0,33 mM). pH vrednost sokova je podešavana pomoću 0,1M NaOH i 6M HCl, na pH 7 za sokove pljuvačke i creva i pH 3 za sokove želuca.

Uzorci keksa su samleveni i pomešani sa 5 ml vode i 4 ml

simuliranog soka pljuvačke i 25 μ L 0,3 M CaCl₂. Nakon toga je vrednost pH rastvora podešena na pH 7, a zatim je dodato 0,5 mL enzima α -amilaze i rastvor dopunjujući 10 mL destilovanom vodom. Oralna faza odvija se na 37°C i traje 2 min, što simulira proces žvakanja.

Dodatkom 8 ml simuliranog soka želuca i 5 μ l 0,3 M CaCl_2 , i podešavanjem pH na 3, započinje želudačna faza. Dalje sledi dodavanje 0,04 g enzima pepsina i dopunjavanje zapremine rastvora destilovanom vodom do 20 mL. Ova faza traje 120 min i inkubira se na 37°C. Nakon završetka faze uzima se alikvot koji se dalje centrifugira 5 min na 10 000 rpm, a dobijeni supernatant se čuva i koristi za dalju analizu. Na kraju započinje intestinalna faza dodavanjem 11 ml simuliranog soka creva i 40 μ l 0,3 M CaCl_2 u rastvor. pH vrednost rastvora je podešena na 7, zatim je dodato 0,04 g enzima pankreatina i zapremina rastvora dopunjena destilovanom vodom do 40 ml. Intestinalna faza traje 120 min i se inkubira na 37°C. Uzorci se potom centrifugiraju 10 000 rpm na 10 min. Dobijeni supernatant se čuva u zamrzivaču do upotrebe za analizu određivanja antioksidativne aktivnosti, pomoću spektrofotometrijske metode neutralizacije ABTS radikala.

Statistička analiza

U okviru ove disertacije statistička analiza je obavljena primenom ANOVA i post-hoc Tukey-evih testova, kako bi se odredio uticaj i interakcija značaja pojedinačnih promenljivih faktora na posmatrane odzive. Rezultati su interpretirani na osnovu primene Tukey-evog HSD (engl. honestly significant distance) testa, na nivou značajnosti $p < 0,05$, s tim da se uticaj faktora odbacuje ako je nivo značajnosti manji od 95%. Post-hoc Tukey HSD test se radi nakon primene dvofaktorijske analize varijanse (ANOVA). Prvo je ANOVA testom određen uticaj procesnih parametara (nezavisno promenljivih) na odzive sistema, a zatim je Tukey-evim HSD testom utvrđena statistička značajnost razlika između srednjih vrednosti pojedinačnih uzoraka. Kada je razlika između dve srednje vrednosti veća od standardne devijacije (SD), se smatra da je statistički značajna, prema Tukey-evim HSD testu.

Metoda odzivnih površina (engl. Response Surface Methodology) – RSM je odabrana za procenu uticaja procesnih parametara (period trajanja i temperature procesa) na posmatrane odzive procesa osmotske dehidracije (DMC, WL, SG i a_w) u prvom delu istraživanja, a u drugoj fazi istraživanja doktorske disertacije za procenu uticaja dodatka listova sremuša (svežeg i osmotski dehidrisanog) i origana odabrane odzive koji se odnose na kvalitet dobijenog keksa.

Prihvaćen je eksperimentalni dizajn prema Box-Behnkenovom potpunom faktorijskom planu. Nezavisne promenljive su bile vreme osmotske dehidracije X_1 i temperature procesa X_2 , a zavisne promenljive odzivi procesa DMC (Y1), WL (Y2), SG (Y3) i a_w (Y4). Nezavisne promenljive su takođe bile količina listova sremuša (X_1) od 0%, 1,5% i 2,5%, kao i origana (X_2) od 0%, 0,5% i 1%. Posmatrane zavisne promenljive su bile kvalitativni parametri keksa: čvrstoća (Y1), lomljivost (Y2), L^* (Y3), a^* (Y4), b^* (Y5), C (Y6), h (Y7), sadržaj proteina (Y8), skrob (Y9), ukupnih šećera (Y10), celuloze (Y11), masti (Y12), pepela (Y13).

Polinom drugog reda (engl. second order polynomial) – SOP, matematički model razvijen za odzive koji su u funkciji nezavisno promenljivih, korišćen je za aproksimaciju eksperimentalnih podataka. SOP modeli u sledećoj formi su razvijeni za sedamnaest odziva (Y_k) i dve ulazne varijable (X_i):

$$Y_k = \beta_{k0} + \sum_{i=1}^2 \beta_{ki} X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{kii} X_i^2 + \beta_{k12} X_1 X_2 \quad , \quad k=1-17 \quad (8)$$

gde su: β_{k0} , β_{ki} , β_{kii} and β_{k12} konstantni regresioni koeficijenti, koji se izračunavaju za svaki model. Takođe su izračunati i koeficijenti korelacije (R^2), kao provera poklapanja razvijenih SOP modela sa eksperimentalnim rezultatima.

Softverski paket StatSoft Statistica, ver. 12.0. je korišćen za kalkulaciju ANOVA i modela polinoma drugog reda.

5. REZULTATI I DISKUSIJA

Uticaj odabranih procesnih parametara osmotske dehidracije listova sremuša na posmatrane odzive procesa

Temperatura i dužina trajanja procesa, koncentracija i hemijski sastav hipertoničnog rastvora, su najbitniji parametri osmotske dehidracije, zbog toga što direktno utiču na tokove prenosa mase za vreme procesa. Sadržaj suve materije (DMC), kinetički parametri (WL i SG) i vrednost aktivnosti vode (a_w), su pokazatelji efikasnosti procesa osmotske dehidracije i proučavani su u zavisnosti od trajanja i temperature procesa, kao i vrste upotrebljenog osmotskog rastvora.

Procesni parametri odabrani su na osnovu prethodnih istraživanja Filipović i sar. (2017) i preliminarnih eksperimenata: temperatura procesa 20, 35 i 50°C, dužina procesa 1, 2,5 i 4 h, u melasi šećerne repe i vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida.

Na osnovu dobijenih rezultata prikazanih u tabeli 4 uočljivo je da je promenom vrednosti temperature i dužine procesa postignuta statistički značajna promena vrednosti svih ispitivanih odziva procesa osmotske dehidracije: sadržaja suve materije, gubitka vode, prirasta suve materije i aktivnosti vode osmotski dehidrisanih listova sremuša u oba primenjena osmotska rastvora, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$.

Tabela 4. Vrednosti odziva procesa osmotske dehidracije listova sremuša

R. br.	τ (h)	T (°C)	DMC (%)	WL (g/g _{p.u.})	SG (g/g _{p.u.})	a _w
Vodeni rastvor NaCl i saharoze						
1.	0	20	7,91 ^a ±1,08	-	-	0,928 ⁱ ±0,010
2.	1	20	17,84 ^b ±1,37	0,2538 ^a ±0,0112	0,0659 ^a ±0,0011	0,89 ^{g-i} ±0,012
3.	2,5	20	25,37 ^c ±2,03	0,3651 ^c ±0,0167	0,1098 ^{bc} ±0,0167	0,851 ^{e-g} ±0,004
4.	4	20	30,36 ^{d-f} ±0,79	0,4086 ^d ±0,0058	0,1442 ^{de} ±0,0058	0,833 ^{e-g} ±0,008
5.	1	35	20,80 ^b ±1,43	0,2978 ^b ±0,0113	0,0845 ^{ab} ±0,0113	0,873 ^{f-i} ±0,009
6.	2,5	35	28,16 ^{cd} ±1,24	0,4100 ^d ±0,0088	0,1211 ^{cd} ±0,0088	0,834 ^{e-g} ±0,007
7.	4	35	33,88 ^f ±1,19	0,4558 ^e ±0,0084	0,1592 ^{e-g} ±0,0084	0,797 ^{de} ±0,004
8.	1	50	29,71 ^{de} ±0,09	0,4513 ^e ±0,0006	0,1194 ^{cd} ±0,0006	0,835 ^{e-g} ±0,010
9.	2,5	50	41,25 ^g ±1,88	0,5783 ^f ±0,0110	0,1614 ^{e-h} ±0,0110	0,765 ^d ±0,012
10.	4	50	51,51 ^h ±1,34	0,6189 ^{gh} ±0,0146	0,2417 ^j ±0,0146	0,706 ^{a-c} ±0,004
Melasa šećerne repe						
11.	1	20	20,28 ^b ±1,21	0,3759 ^c ±0,0223	0,0715 ^a ±0,0023	0,886 ^{g-i} ±0,009
12.	2,5	20	31,92 ^{ef} ±0,94	0,5661 ^f ±0,0051	0,1012 ^{bc} ±0,0051	0,867 ^{f-h} ±0,004
13.	4	20	57,50 ⁱ ±1,14	0,65637 ^{hi} ±0,0305	0,1746 ^{f-h} ±0,031	0,744 ^{b-d} ±0,008
14.	1	35	32,52 ^{ef} ±0,34	0,4626 ^e ±0,0023	0,1558 ^{ef} ±0,0023	0,847 ^{e-g} ±0,002
15.	2,5	35	43,75 ^g ±0,78	0,6255 ^{gh} ±0,0042	0,1675 ^{e-h} ±0,0042	0,827 ^{ef} ±0,009
16.	4	35	63,06 ⁱ ±1,24	0,6772 ^{ij} ±0,0311	0,1895 ^{hi} ±0,0074	0,687 ^{ab} ±0,08
17.	1	50	42,88 ^g ±1,49	0,60375 ^{fg} ±0,0085	0,1755 ^{f-h} ±0,0085	0,800 ^{de} ±0,002
18.	2,5	50	53,50 ^h ±1,63	0,7070 ^j ±0,0126	0,1873 ^{g-i} ±0,0077	0,751 ^{cd} ±0,010
19.	4	50	70,04 ^k ±0,28	0,8113 ^k ±0,0011	0,2087 ⁱ ±0,0011	0,658 ^a ±0,008

^{a-k} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-egov HSD testa), p.u.-polazni uzorak

Kinetički parametri osmotske dehidracije listova sremuša (WL i SG)

Proučavanje masenog transporta osmotske dehidracije, kao multikomponentnog difuzionog procesa u kom se istovremeno odvijaju maseni tokovi vode i rastvorenih supstanci materijala koji se dehidrira u oba pravca, kao i usled strukturne i ćelijske složenosti materijala je izazovan zadatak. Brojne studije u vezi sa osmotskom dehidracijom imale su za cilj da okarakterišu optimalni maseni

transfer pri specifičnim uslovima procesa putem parametara koji su pogodni za matematičko modelovanje. Pokazalo se dakinetički parametri WL i SG najbolje opisuju maseni transferi precizno kvantifikuju osnovne masene tokove tokom osmotske dehidracije (Ahmed i sar., 2016; Mirzay i sar., 2018; Kvapil i sar., 2020).

Parametar WL (engl. water loss), koji se odnosi na glavni i kvantitativno najveći maseni tok, difuziju vode iz materijala potopljenog u osmotski rastvor, je ujedno i najznačajniji parametar procesa, jer ukazuje na uspešnost dehidracije. Prethodna istraživanja su pokazala da je procesom osmotske dehidracije moguće postići smanjenje vlažnosti sveže prehrambene sirovine i preko 50%. Ipak, redukcija ukupne mase osmotski dehidrisanog prehrambenog materijala ne može se posmatrati samo na osnovu gubitka vode, jer seistovremeno u materijalu povećava procenat suve materije difundovane iz osmotskog rastvora (i preko 10%). SG (engl. solid gain) je kinetički parameter koji kvantitativno opisuje sekundarni tok materije tokom osmotske dehidracije, tj. Impregnaciju rastvorka iz osmotskog rastvora u osmotski dehidrisanu sirovinu (Mišljenović i sar., 2012; Akbarian i sar., 2014; Yadav i Singh, 2014).

Prema rezultatima prikazanim u tabeli 4, oba kinetička parametra (WL i SG), proučavana kao indikatori efikasnosti osmotske dehidracije listova sremuša u melasi i vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida, rastu sa povećanjem vremena i temperature procesa. Vrednosti WL koje predstavljaju količinu vode u gramima koju listovi sremuša otpuste u okolni osmotski rastvor, u odnosu na gram svežeg sremuša tj. polaznog uzorka (g/g p.u.), statistički značajno su se povećale pri svim varijacijama procesnih parametara.

Uočava se da vrednost parametra WL raste nelinearno sa dužinom procesa, pri čemu suveć nakon prvog sata procesa osmotske dehidracije na sobnoj temperaturi, listovi sremuša dehidrisani u melasi izgubili 0,376 g/g p.u. vode, dok je za listove sremuša dehidrisane u šećerno-slanom rastvoru postignuta vrednost WL iznosila 0,254 g/g p.u. U odnosu na ove vrednosti, nakon 4 sata, što je ujedno kraj ispitivanog osmotskog procesa, vrednosti parametara WL za uzorke sremuša dehidrisane u oba rastvora na istoj temperaturi (20°C) su povećane na 0,656 g/g p.u i 0,408 g/g p.u., što je za oko 1,7 i 1,6 puta više. Na većim temperaturama osmotske dehidracije u oba rastvora porast vrednosti parametra WL je još manje izražen, na 35°C od prvog do četvrtog sata za oko 47%, a na 50°C od prvog do četvrtog sata za oko 35%. Ovo implicira da je na početku osmotskog procesa gubitak vode najbrži i najintenzivniji, s obzirom da je tada najizraženiji koncentracioni gradijent i razlika u osmotskim pritiscima između osmotskih rastvora i uzoraka sremuša u koje su potopljeni. Kako proces napreduje povećava se parametar WL, ali smanjenim intenzitetom. Nagli maseni transfer na početku procesa uzrokuje strukturne promene, skupljanje i zbijanje površinskih slojeva uzorka, što je praćeno povećanim otporom masenom transferu kako se proces nastavlja. Fenomen transporta molekula vodei skupljanja tkiva postepeno se kreće ka centralnim slojevima, posle petog sata se znatno usporava, a nakon toga se približava ravnotežnom stanju i proces dehidracije se zaustavlja (Mirzay i sar., 2018; Leahu i sar., 2020).

Sa povećanjem temperature osmotske dehidracije primetno je veće izdvajanje vode, kod svih analiziranih uzoraka. Na višim temperaturama ćelijske membrane postaju propustljivije i intezivira se difuzija vode iz materijala koji se osmotski dehidrira (Tonon i sar., 2007; Ahmed i sar., 2016). Pored toga, dejstvo viših temperatura utiče na smanjenje viskoziteta osmotskih medijuma, što smanjuje otpor prenosu mase sa površine materijala i olakšava migraciju molekula vode tokom procesa (Champawat i sar., 2019).

Najveće vrednosti gubitka vode postignute su nakon četvoročasovne umerzije listova sremuša, kada je proces izveden na najvišoj temperaturi (50°C): 0,811 g/g p.u. za listove sremuša osmotski dehidrisane u melasi i 0,618 g/g p.u. za listove sremuša osmotski dehidrisane u rastvoru saharoze i

natrijum hlorida. Statistički značajno veće postignute vrednosti WL parametra u uzorcima dobijene su upotrebom melase kao osmotskog rastvora, u odnosu na one dehidrisane u vodenom rastvoru šećera i soli, pri istim uslovima procesa. Melasa kao koncentrovaniji rastvor, sa sadržajem suve materije od 85%, uslovljava veći koncentracioni gradijent na površini materijal/rastvortj. veću pogonsku sila za dehidraciju tokom procesa, za razliku od vodenog rastvora saharoze i natrijum hlorida čija je je maksimalna koncentracija 60% suve materije.

U prethodnim istraživanjima osmotske dehidracije u melasi šećerne repe na sličnim sirovinama, listovima celera i listovima kupusa, na istoj najvišoj temperaturi od 50°C i dužini trajanja procesa od 5h postignute su vrednosti WL: 0,796 g/g p.u. i 0,676 g/g p.u., redom (Nićetin i sar., 2014; Cvetković i sar., 2019). U poređenju sa ovim rezultatima, listovi sremuša su pokazali najbolji stepen dehidracije (0,811 g/g p.u.), za kraće vreme trajanja procesa za 1 sat, što se najverovatnije može pripisati tome što je list sremuša tanji i porozniji, pa je veća specifična površina za prenos mase tokom procesa. Pored uslova izvođenja procesa, razlike u vrednostima WL uslovljene su i različitim strukturama tkiva i geometrijom uzorka (Akbarian i sar., 2014).

Kinetički parametar SG, koji ukazuje na količinu inkorporiranih rastvorenih supstanci iz melase, kao i soli i šećera iz vodenog rastvora u osmotski dehidrisanim listovima sremuša, statistički značajno raste sa povećanjem temperature i trajanja procesa. Produženo vreme imerzije i povišene temperature dovode do razblaženja i redukcije viskoziteta korišćenih rastvora, što doprinosi smanjenju otpora penteraciji rastvorenih materija iz osmotskih medijuma u potopljenju sirovini. Takođe, kako proces napreduje narušava se funkcionalnosti selektivnost ćelijskih membrana, te one postaju propustljivije za transfer rastvorenih supstanci na površini materijal/rastvor. Najviše vrednosti SG postignute su na najvišim odabranim uslovima, nakon četvoročasovnog procesa, na temperaturi od 50°C: 0,208 g/g p.u. za sremuš osmotski dehidrisan u melasi i 0,242 g/g p.u. za sremuš osmotski dehidrisan u vodenom rastvoru soli i šećera. Uočava se da je SG veći u uzorku dehidrisanom u vodenom rastvoru šećera i soli u poređenju sa uzorkom dehidrisanom u melasi, što nije slučaj na ostalim procesnim parametrima.

Sličan rezultat je potvrđen i u istraživanju Knežević i sar. (2014), gde su vrednosti za SG na najvišim odabranim procesnim parametrima iznosile: 0,16 g/g p.u. za osmotski dehidrisane listove koprive u melasi i 0,22 g/g p.u. za osmotski dehidrisane listove koprive u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida. Ovakav rezultat moguće je objasniti činjenicom da molekuli soli, zbog svoje male molekulske mase u većoj meri i dublje prodiru u površinske slojeve tkiva koje se dehidrira, oštećuju njegove strukturne karakteristike i olakšavaju maseni transfer (Sereno i sar., 2001). Ahmed i sar. (2016), tvrde da se molekuli saharoze akumuliraju u tankom sloju na površini materijala, dok so prodire u dublje slojeve, te stoga prisustvo soli u osmotskom rastvoru ometa formiranje površinskog sloja, omogućavajući veći priraštaj suve materije iz rastvora u dehidrisani materijal. Melasa je multikomponentni sistem, koji u najvećem procentu sadrži molekule šećera velike molekulske težine i brojne osmoaktivne supstance, čiji transport zavisi od njihove rastvorljivosti, jonskog stanja i veličine molekula (Šarić i sar., 2016; Ahmed i sar., 2016). Može se pretpostaviti da veći molekuli iz melase, nakon 4 sata trajanja procesa, stvaraju kompaktan sloj na površini uronjenog materijala koji otežava sekundarni maseni tok.

Na osnovu dobijenih rezultata, a u pogledu efikasnosti osmotskog tretmana, melasa šećerne repe se može okarakterisati kao uspešniji osmotski rastvor. Indeks efikasnosti osmotske dehidracije definiše se odnosom WL/SG, pa veće vrednosti gubitka vode, a manje priraštaja suve materije, posebno na najvišim parametrima procesa ukazuju na bolju efikasnost melase u odnosu na vodeni rastvor saharoze i soli. Generalno, veliki procenat SG u dehidrisanom materijalu nije poželjan, jer dovodi do promene pre svega ukusa, odnosno prvobitna senzorna i nutritivna svojstva. Ipak, SG koji ostaje u materijalu nakon dehidracije u melasi, može biti poželjan zbog sadržaja minerala,

bioaktivnih i nutritivno vrednih jedinjenja koja prelaze iz melase, tako da zdravstveni benefiti kranjeg proizvoda mogu kompenzovati negativnu promenu ukusa, mirisa i boje. Nasuprot tome, u slučaju primene vodenog rastvora saharoze i natrijum hlorida, šećer i so, sa zdravstvenog stanovišta, nisu poželjne rastvorene supstance u dehidrisanoj sirovini (Pravitha i sar., 2021).

Sadržaja suve materije (DMC) u osmotski dehidrisanim listovima sremuša

Ukupan sadržaj suve materije u osmotski dehidrisanoj sirovini pokazatelj je višekomponentnih protivstrujnih tokova tj. kombinacije dehidracije i impregnacije koje se odvijaju tokom procesa. Kako osmotski proces napreduje, postepeno povećanje sadržaja suve materije u uzorcima sremuša rezultat je difuzije vode koja zajedno sa delom rastvorka iz tkiva sremuša migrira u okolni rastvor, kao i difuzije rastvorenih supstanci koje iz rastvora migriraju u tretirano tkivo.

Rezultati u tabeli 4 pokazuju da je u odnosu na početni sadržaj suve materije svežih listova koji iznosi 7,91% došlo do evidentog, statistički značajnog povećanja u sadržaju ukupnog procenta suve materije, u svim analiziranim osmotski dehidrisanim uzorcima. Očigledno je da je upotreba melase kao osmotskog rastvora rezultirala višim vrednostima parametra DMC u uzorcima, pri svim ispitivanim uslovima procesa, u poređenju sa osmotskim rastvorom šećera i soli. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa prethodnim zaključkom da je melasa šećerne repe efikasniji rastvor za osmotsku dehidraciju. Povećanje procesne temperature i vremena imerzije, kao i kod kinetičkih parametara (WL i SG), je uticalo na veće vrednosti DMC.

Pri najvišim procesnim parametrima (4 h, 50°C) dostignuti krajnji sadržaj suve materije iznosi 70,04% za sremuš osmotski dehidrisan u melasi i 51,51% za sremuš osmotski dehidrisan u rastvoru saharoze i soli. Osmotskom dehidracijom u melasi povećan je sadržaj suve materije sremuša od 2,6 (1 h, 20°C) do 8,8 puta (4 h, 50°C) u odnosu na sadržaj suve materije svežeg sremuša, dok je isti proces u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida pokazao povećanje krajnjeg saržaja suve materije sremuša u rasponu od 2,2 (1 h, 20°C) do 6,5 puta (4 h, 50°C) u odnosu na sadržaj suve materije polaznog uzorka (tabela 4).

Aktivnost vode (a_w) u osmotski dehidrisanim listovima sremuša

Vrednost aktivnosti vode (a_w vrednost) se smatra glavnim pokazateljem održivosti prehrambenih proizvoda. Ova vrednost indikator je udela slobodne vode potrebne za rast i metaboličku aktivnost mikroorganizama, uzročnika kvarenja namirnice. Različite grupe mikroorganizma opstaju pri različitim a_w vrednostima, dok ispod specifičnih vrednosti (granična a_w vrednost) njihov rast i aktivnost prestaju, ne formiraju spore, ili toksične metabolite. Visoka vrednost ovog parametra se negativno odražava na mikrobiološka, fizičko-hemijska i senzorna svojstva hrane. Postupcima koji utiču na sniženje a_w vrednosti moguće je inhibirati mikrobiološki rast i enzimsku aktivnost i tako značajno povećati mikrobiološku i hemijsku stabilnost namirnice, a time i njenu održivost (Chirife i Fontana, 2007; Silva i sar., 2008).

Tabela 5. Granične a_w vrednosti za određene grupe mikroorganizama (Kessler, 2002)

Grupa mikroorganizama	a_{wmin}
Većina bakterija izazivača kvarenja hrane	0,91
Većina kvasaca izazivača kvarenja hrane	0,88
Većina plesni izazivača kvarenja hrane	0,80
Halofilne bakterije	0,75
Kserofilne plesni	0,65
Osmofilni kvasci	0,60

Eksperimentalni rezultati predstavljeni u tabeli 4 pokazuju da je proces osmotske dehidracije statistički značajno uticao na smanjenje a_w vrednosti listova sremuša, na svim variranim procesnim parametrima. Merenjem vrednosti aktivnosti vode svežih uzoraka listova sremuša, dobijena srednja vrednost iznosi 0,928. Ovako visoka a_w vrednost ukazuje na veliku količinu vode dostupnu mikroorganizmima, što posledično vodi brzom kvarenju i narušavanju upotrebne vrednosti listova, koji brzo venu i gube svoja početna kvalitativna svojstva. Već nakon prvog sata osmotskog procesa izvedenog na sobnoj temperaturi (20°C), uočeno je sniženje parametra a_w u odnosu na polaznu vrednost nedehidrisanog uzorka, 0,886 za listove sremuša dehidrisane u melasi i 0,890 za listove sremuša dehidrisane u ternarnom rastvoru voda/saharozas/so. Postignute vrednosti su ispod granične za delovanje većine bakterija (tabela 5), a uspešniji efekat konzervisanja postignut je produženim trajanjem procesa, gde su na istoj temperaturi, nakon 4 sata, vrednosti a_w dobijene primenom rastvora saharoze i soli ograničavajuće za rast većine kvasaca (0,833), tj. većine kvasaca i plesni za listove sremuša osmotski dehidrisane u melasi (0,744).

Povišene temperature tokom osmotske dehidracije pokazale su značajnu redukciju aktivnosti vode na svim analiziranim vremenima, pri čemu je najbolji efekat postignut kombinovanim porastom oba parametra. Posle četvoročasovne osmotske dehidracije, na temperaturi od 50°C izmerene su najniže a_w vrednosti: 0,658 za listove sremuša osmotski dehidrisane u melasi i 0,706 za listove sremuša osmotski dehidrisane u ternarnom rastvoru. Nakon osmotske dehidracije u melasi šećerne repe na sličnim sirovinama, listovima celera i listovima koprive, najniže izmerene a_w vrednosti su bile 0,790 i 0,891, redom (Nićetin i sar., 2014; Knežević i sar., 2019).

Krajnje vrednosti parametra aktivnosti vode postignute u listovima sremuša dehidrisanim u oba osmotska rastvora omogućavaju inhibiranje rasta i metaboličke aktivnosti većine bakterija, kvasaca i plesni koje uzrokuju kvarenje, kao i halofilnih bakterija u listovima sremuša. Na ovaj način unapređena je mikrobiološka stabilnost, i postignut dobar konzervišući efekat, ali su osmotski dehidrisani listovi sremuša i dalje podložni kvarenju od strane kserofilnih plesni i osmofilnih kvasaca. Melasa šećerne repe se pokazala kao efikasniji osmotski rastvor za stabilizaciju mikrobiološke aktivnosti i poboljšanje održivosti listova sremuša, jer je u svim analiziranim uzorcima, pri istim uslovima procesa, doprinela dostizanju nižih a_w vrednosti, u poređenju sa vodenim rastvorom šećera i soli.

Statistička značajnost uticaja procesnih parametara na odzive osmotske dehidracije listova sremuša

Eksperimentalno dobijeni odzivi tokom osmotske dehidracije sremuša u melasi i vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida (DMC, WL, SG i a_w), u funkciji odabranih procesnih parametara (vremena i temperature) podvrgnuti su statističkoj analizi. Primena ANOVA testa daje uvid u statističku značajnost uticaja ova dva parametra na ključne odzive osmotskog sušenja listova sremuša.

Tabela 6. Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela odziva procesa osmotske dehidracije listova sremuša u melasi šećerne repe

Tehnološki parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata			
			DMC	WL	SG	a_w
Vreme	Linearni	1	4802,669*	0,746834*	0,048999*	0,077994*
	Kvadratni	1	61,021	0,154679*	0,008263	0,000281
Temperatura	Linearni	1	415,064*	0,035632	0,006356	0,011010*
	Kvadratni	1	0,267	0,001500	0,000475	0,000011
Proizvod	Vreme x Temp.	1	22,570	0,002583	0,000068	0,001763
Greška	Ostatak varijanse	6	307,306	0,049188	0,009680	0,006465
	Ukupan zbir kvadrata	11	5570,017	0,971277	0,072726	0,097195
R ²			0,94483	0,94936	0,86689	0,93348

⁺ Broj stepeni slobode, * Statistički značajno na nivou $p < 0,05$

Na osnovu ANOVA analize koja omogućava praćenje odzivaosmotske dehidracije listova sremuša u melasi šećerne repe (tabela 6), vidi se da je na vrednost sve četiri zavisno promenljive procesa (sadržaj suve materije, gubitak vode, priraštaj suve materije i aktivnost vode), statistički značajno ($p < 0,05$) uticao linerani član vremena, pri formiranju SOP modela. Uočava se da na izračunavanje SOP modela koji se odnosi na WL odziv osmotski dehidrisani listovi sremuša u melasi pored linearnog, statistički značajno utiče i kvadratni član vremena. Kvadratna zavisnost gubitka vode od vremena ukazuje na to da se izdvajanje vode iz listova sremuša znatno usporava progresijom procesa, usled smanjivanja koncentracionog gradijenta između listova sremuša i rastvora, koji je pogonskasila za dehidraciju (Atares i sar., 2011). Linerani član temperature statistički značajno doprinosi formiranju modela suve materije i aktivnosti vode osmotski dehidrisanog sremuša u melasi. Za formiranje SOP modela kinetičkih parametara (WL i SG) faktor temperature nije pokazao statistički značajan uticaj. Član koji opisuje interakciju vremena i temperature procesa ($T \times T$) nije se pokazao kao bitan na nivou $p < 0,05$ za statističku predikciju matematičkih modela ni za jedan ispitivani odziv.

Ostatak varijanse, kao pokazatelj odstupanja razvijenog matematičkog modela od dobijenih eksperimentalnih vrednosti odziva sistema, nije pokazao statističku značajnost ($p < 0,05$), što upućuje da primenjeni modeli za DMC, WL, SG i a_w adekvatno opisuju proces osmotske dehidracije listova sremuša u melasi. Drugim rečima, ANOVA analiza je pokazala da se izračunate vrednosti sva četiri modela poklapaju sa eksperimentalnim vrednostima na zadovoljavajućem nivou. Vrednosti koeficijenta korelacije (R^2), kao mera međusobne povezanosti između posmatrane varijable sa ukupnom varijansom sistema (Madamba, 2002), su bile visoke za sve posmatrane odzive, što još jednom potvrđuje dobro poklapanje razvijenih SOP modela sa eksperimentalnim rezultatima.

Tabela 7. Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela odziva procesa osmotske dehidracije listova sremuša u vodenom rastvoru NaCl i saharoze

Tehnološki parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata			
			DMC	WL	SG	a _w
Vreme	Linearni	1	1483,085*	0,362417*	0,050002*	0,034819*
	Kvadratni	1	89,544*	0,082539*	0,002231	0,000995*
Temperatura	Linearni	1	326,999*	0,051414*	0,005639*	0,009943*
	Kvadratni	1	38,408	0,005052	0,000529	0,000683*
Proizvod	Vreme x Temp.	1	107,724*	0,009007	0,002020	0,004131*
Greška	Ostatak varijanse	6	52,311	0,023633	0,002262	0,000625
	Ukupan zbir kvadrata	11	2051,315	0,521838	0,061641	0,049937
R ²			0,9745	0,95471	0,9633	0,98749

⁺ Broj stepeni slobode, * Statistički značajno na nivou $p < 0,05$

Rezultati ANOVA testiranja osmotske dehidracije sremuša u vodenom rastvoru NaCl-a i saharoze (tabela 7) pokazuju da linerani članovi, kako vremena, tako i temperature procesa, statistički značajno utiču na formiranje polinoma drugog reda svih posmatranih odziva (DMC, WL, SG i a_w), na nivou značajnosti $p < 0,05$. Pri tome, podaci u tabeli 7 otkrivaju da je vreme uticajniiji parametar u odnosu na temperaturu prilikom modelovanja sva četiri odziva. Kvadratni članovi SOP-a za vreme statistički značajno doprinose formiranju matematičkog modela za predikciju sadržaja suve materije, gubitka vode i a_w vrednosti, kao posledica usporavanja masenog transfera sa protokom vremena trajanja osmotskog tretmana (Tonon i sar., 2007). Kvadratni član temperature pokazao se uticajan samo za formiranje SOP modela aktivnosti vode listova sremuša osmotski dehidrisanih u vodenom rastvoru. Član proizvoda vremena i temperature, koji ukazuje na njihovu međuzavisnost tokom formiranja SOP modela, pokazao je statističku značajnost za odzive DMC i a_w.

Visoke vrednosti koeficijenata korelacije, kao i odsustvo statističke značajnosti ostatka varijanse ukazuju na dobro fitovanje izračunatih vrednosti modela sa eksperimentalnim, tj. na pouzdanu predikciju odziva (DMC, WL, SG i a_w) osmotskog procesa listova sremuša u vodenom rastvoru, putem predloženih matematičkih modela.

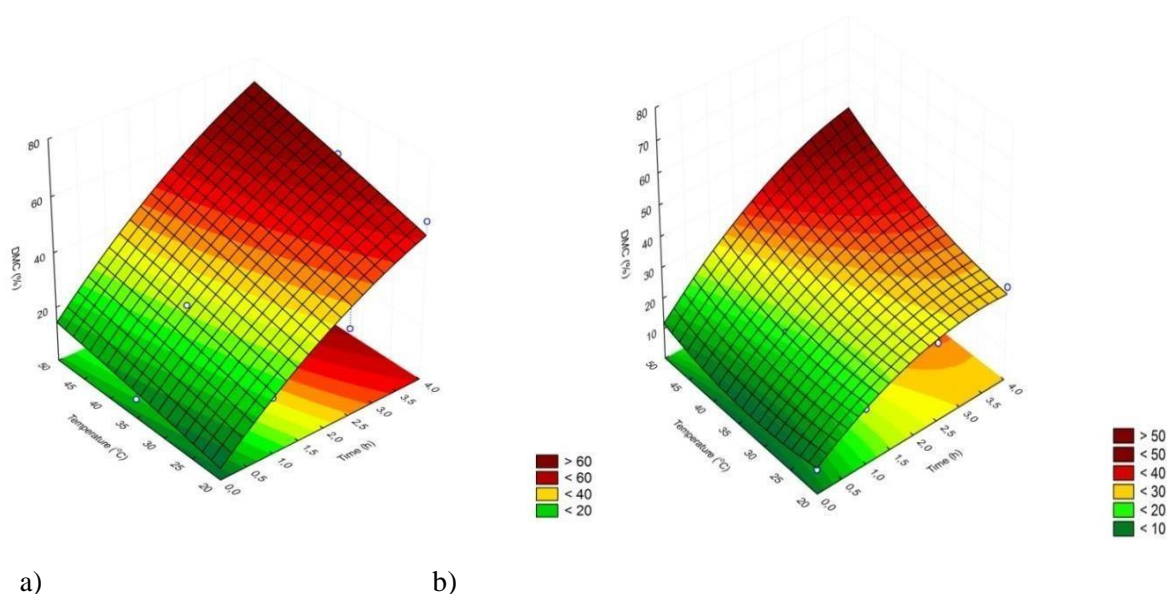
Vrednosti regresionih koeficijenata u jednačini polinoma drugog stepena (SOP), za sva četiri ispitivana odziva osmotske dehidracije listova sremuša u oba osmotska rastvora, uz prikazanu statističku značajnost svakog koeficijenta ponaosob (na nivou $p < 0,05$), predstavljene su u tabeli 8. Pomoću poznatih vrednosti regresionih koeficijenata i ulaznih veličina (temperature i trajanja procesa), moguće je izračunati vrednost odabranog odziva (Koprivica i sar., 2014).

Tabela 8. Prikaz regresionih koeficijenata polinoma drugog stepena za četiri modela odziva procesa osmotske dehidracije listova sremuša u oba osmotska rastvora

	Y1 (DMC)	Y2 (WL)	Y3 (SG)	Y4 (a _w)
Vodeni rastvor NaCl i saharoze				
β_0	23,22427	0,146485	0,061319	0,858127*
β_1	8,08742*	0,257326*	0,050082*	-0,021905
β_{11}	-1,59973*	-0,048569*	-0,007985	0,005333*
β_2	-1,07587	-0,011131	-0,004004	0,004619
β_{22}	0,01687	0,000193	0,000063	-0,000071*
β_{12}	0,16142*	0,001476	0,000699	-0,001000*
Melasa šećerne repe				
β_0	-3,83237	0,048578	-0,106496	0,947497*
β_1	15,90147*	0,402957*	0,099153*	-0,019016
β_{11}	-1,32059	-0,066488*	-0,015367	-0,002836
β_2	0,43256	-0,004495	0,005781	-0,000553
β_{22}	-0,00141	0,000105	-0,000059	-0,000009
β_{12}	0,07389	0,000790	0,000128	-0,000653

* Statistički značajno na nivou $p < 0,05$

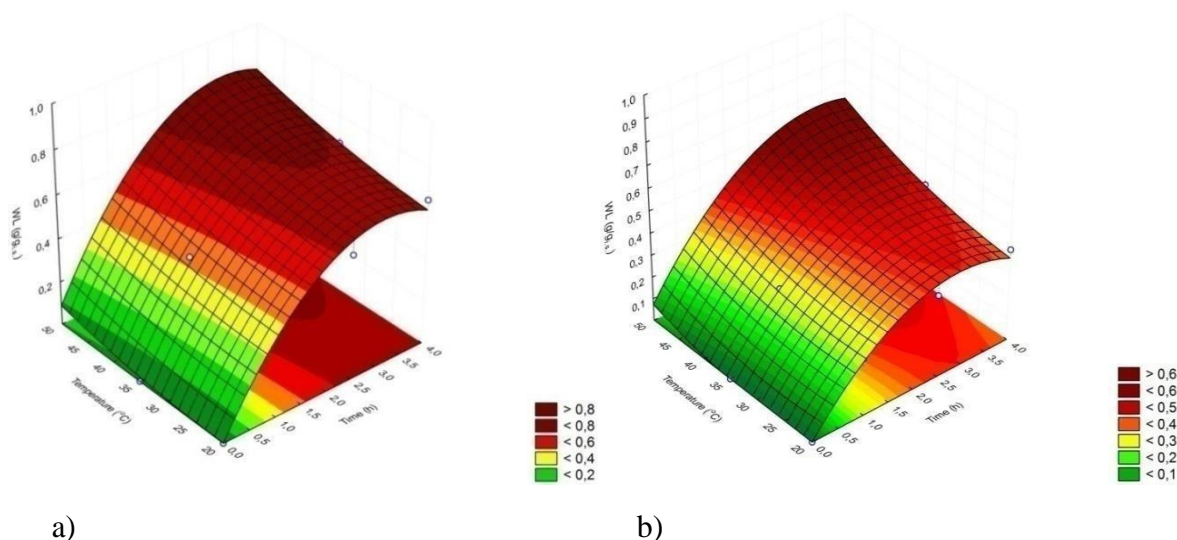
Na slikama 11, 12, 13 i 14 predstavljeni su grafički prikazi razvijenih matematičkih modela osmotskog procesa listova sremuša u melasi i vodenom rastvoru, koji su pogodni za praćenje zavisnosti promene analiziranih odziva u funkciji promene temperature i vremena procesa. Na osnovu slika se može videti da porast vrednosti oba procesna parametra vodi povećanju vrednosti zavisno promenljivih parametara DMC, WL i SG, kao i smanjenju a_w vrednosti u osmotski dehidrisanim uzorcima listova sremuša, tretiranim u oba osmotska rastvora. Takođe se, posmatranjem grafika, može se lako i vizuelno kvantifikovati veći uticaj promene vremena trajanja procesa u odnosu na temperaturne promene, za sve ispitivane odzive procesa osmotske dehidracije listova sremuša, što je u skladu sa rezultatima ANOVA testa.



Slika 11. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva DMC osmotske dehidracije listova sremuša u: a) melasi šećerne repe, b) vodenom rastvoru NaCl i saharoze.

Na slici 11, obojene trodimenzionalne površine prikazuju zavisnost odziva DMC od promene ulaznih parametara, temperature i trajanja osmotske dehidracije u melasi (a) i vodenom rastvoru (b). Trend povećanja DMC, sa povećanjem temperature i vremena procesa, uočava se na oba dijagrama. Na osnovu nagiba odzivne površine na slici 11a) zapaža se da vreme trajanja procesa ima veći uticaj na sadržaj suve materije listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi, u poređenju sa uticajem temperature. Variranjem dužine izvođenja procesa pri konstantnim temperaturnim uslovima, promene u sadržaju suve materije tretiranog uzorka su više izražene, nego prilikom variranja temperature pri konstantnom vremenu imerzije. Uticaj vremena je izraženiji od uticaja temperature i kada se tokom procesa koristi osmotski rastvor šećera i soli, ali u nešto manjoj meri nego kod dehidracije u melasi (b).

Crveno obojeni gornji deo odzivne površine koja prikazuje zavisnost DMC od procesnih parametara, ukazuje na značajnu interakciju između temperature i vremena trajanja procesa, kao i na to da se najviše vrednosti DMC parametra dobijaju na najvišoj temperaturi u završnim fazama procesa.

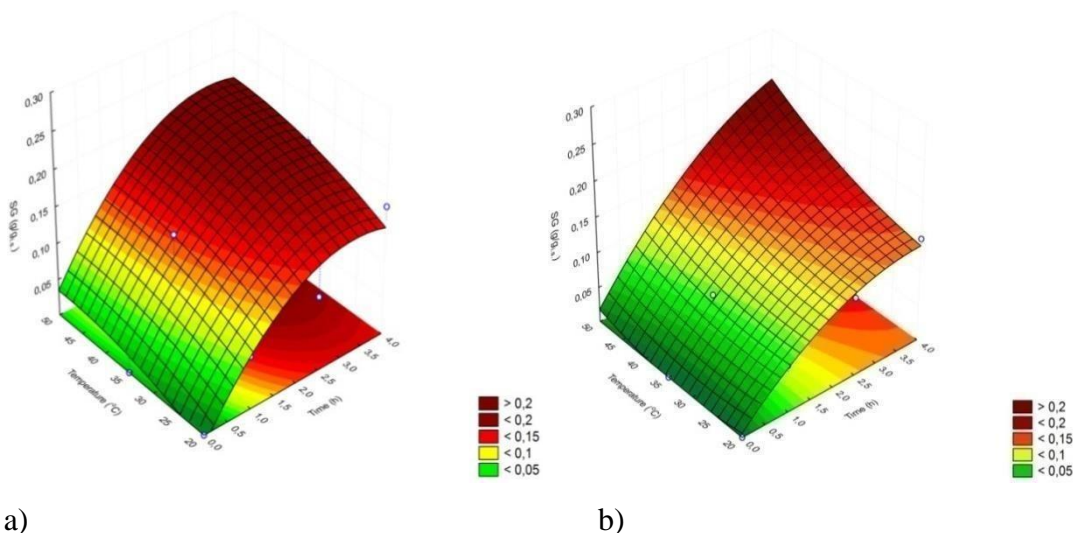


a)

b)

Slika 12. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva WL osmotske dehidracije listova sremuša u: a) Melasi šećerne repe, b) vodenom rastvoru NaCl i saharoze

Na dijagramu 12 a) koji prezentuje zavisnost gubitka vode od promene uslova izvođenja osmotske dehidracije u melasi, primećuje se nagli porast parametra WL već nakon pola sata procesa, a povećanjem temperature i trajanja procesa intenzivan trend rasta se nastavlja. Izdvajanje vode iz listova sremuša potopljenih u melasu je izraženije sa produžetkom vremena imerzije u odnosu na izdvajanje vode pod uticajem povećanja temperature. Trend porasta vrednosti WL sa porastom procesnih parametara, se uočava i tokom osmotske dehidracije sremuša u vodenom rastvoru (b). Na osnovu slike 12 b) se vidi da za vreme prvog časa procesa promena temperature nema veliki uticaj na vrednost gubitka vode, dok je u narednim satima taj uticaj značajno povećan.



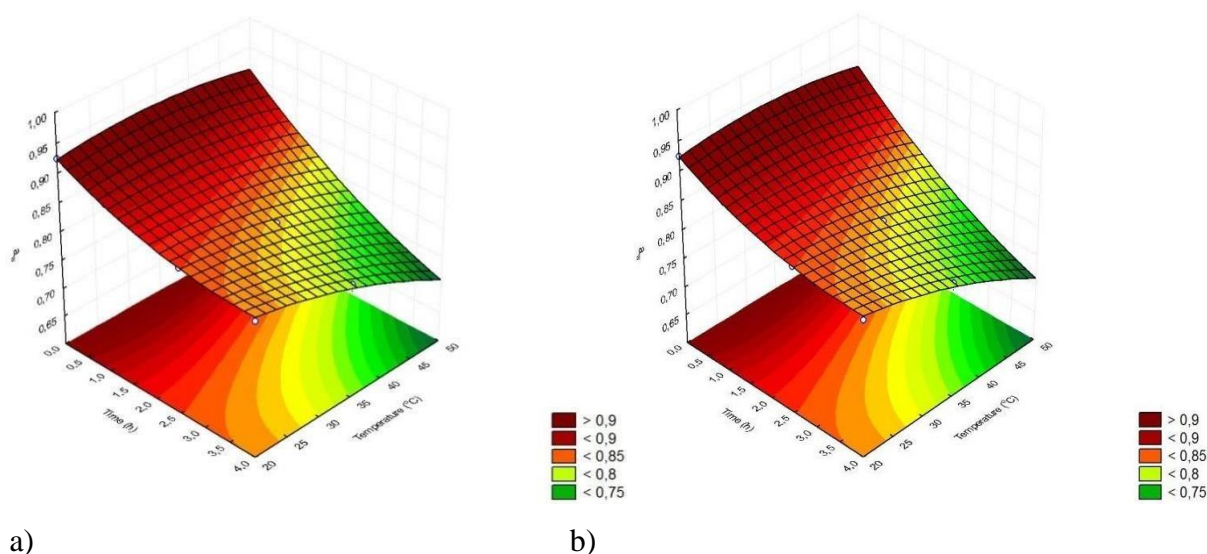
a)

b)

Slika 13. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva SG osmotske dehidracije listova sremuša u: a) melasi šećerne repe, b) vodenom rastvoru NaCl i saharoze.

Grafički prikazi zavisnosti drugog kinetičkog parametra SG od promene procesnih parametara, pokazali su isti trend ponašanja kao i u slučaju zavisnosti parametra WL. Dinamika porasta priraštaja suve materije je uslovljena porastom temperature i dužine procesa, s tim što su promene nastale

povećanjem vremenskih intervala procesa uočljivo više uticale na porast SG vrednosti, u odnosu na promene nastale povišenjem temperature, što je posebno izraženo na slici 13 a), kada se kao osmotski rastvor koristi melasa šećerne repe.



a)

b)

Slika 14. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva a_w osmotske dehidracije listova sremuša u: a) melasi šećerne repe, b) vodenom rastvoru NaCl i saharoze.

Na osnovu dijagrama koji predstavljaju zavisnost vrednosti aktivnosti vode od promene temperature i vremena imerzije listova sremuša u dva različita osmotska rastvora, primećuje se izražen i podjednako važan uticaj oba procesna parametra. U oba slučaja, u početnim stadijumima procesa povećanje temperature nema veliki uticaj i a_w osmotski dehidrisanih uzoraka sremuša su još relativno visoke, dok nakon 2,5 h, pri svim variranim temperaturnim uslovima dolazi do značajnog opadanja aktivnosti vode. U poslednjem satu trajanja osmotskog procesa, na temperaturi većoj od 35°C, postignut je najizraženiji pad vrednosti odziva a_w , što je u saglasnosti i sa eksperimentalno dobijenim rezultatima (tabela 4).

Uticaj osmotske dehidracije na mikrobiološki profil listova sremuša

Prethodno prikazani rezultati snižene aktivnosti vode osmotski dehidrisanih listova sremuša ukazuju na poboljšanje održivosti i mikrobiološke stabilnosti, dok se mikrobiološkom analizom dobija potpuniji i detaljniji uvid u pogledu njihove zdravstvene ispravnosti, kao i higijenskog aspekta samog procesa. Ispitan je mikrobiološki profil svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasii vodenom rastvoru saharoze i NaCl, nakon četvoročasovnog procesa na temperaturi 20°C (tabela 9),s obzirom da će ovi uzorci listova sremuša biti upotrebljeni u formulaciji slanog keksa.

Tabela 9. Rezultati mikrobiološke analize svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša

	Sveži listovi sremuša	Sremuš osmotski dehidrisan u vodenom rastvoru saharoze i NaCl	Sremuš osmotski dehidrisan u melasi
Ukupan broj mikroorganizama (cfu/g)	$(22 \pm 2) \cdot 10^5$ ^a	$(11 \pm 1) \cdot 10^3$ ^b	$(1 \pm 0) \cdot 10^3$ ^b
<i>Enterobacteriaceae</i> (cfu/g)	$(64 \pm 4) \cdot 10^2$ ^a	$<10 \pm 0$ ^b	$<10 \pm 0$ ^b
<i>Escherichia coli</i> (cfu/g)	$(11 \pm 1) \cdot 10^2$ ^a	$<10 \pm 0$ ^b	$<10 \pm 0$ ^b
<i>Salmonella</i> spp. (negativno/25g)	Negativno	Negativno	Negativno
Koliformne bakterije(cfu/g)	$(16 \pm 2) \cdot 10^2$ ^a	$<10 \pm 0$ ^b	$<10 \pm 0$ ^b
Kvasci i plesni (cfu/g)	$(84 \pm 5) \cdot 10^2$ ^a	$(2 \pm 0) \cdot 10^2$ ^b	$<10 \pm 0$ ^b

^{a-b} Različita slova u eksponentu u istoj koloni ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0.05$ (na osnovu post hoc Tukey HSD testa), cfu-jedinica koje formiraju kolonije

Na osnovu rezultata ispitivanja vidi se da je proces osmotske dehidracije doveo do statistički značajne redukcije ukupnog broja mikroorganizama u sremušu, ukazujući na to da je osmotski proces higijenski ispravan i da su proizvodi ovog procesa bezbedni za upotrebu. Praćenje promene ukupnog broja bakterija u uzorcima tokom osmotske dehidracije ukazuje na nivo higijene u procesu i zdravstvenu bezbednost dobijenog dehidrisanog poluproizvoda (Filipović i sar., 2012). Mikrobiološkom analizom potvrđeno je da je osmotska dehidracija u oba primenjena rastvora statistički značajno doprinela smanjenju inicijalnog broja *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* i koliformnih bakterija svežih listova sremuša, što ukazuje na unapređenu mikrobiološku sliku dobijenih poluproizvoda, kao i na to da je proces higijenski ispravan. U svim ispitivanim uzorcima, kako kontrolnim, tako i osmotski dehidrisanim, uočeno je odsustvo patogenih bakterija *Salmonella* spp, što je u saglasnosti sa kriterijumom bezbednosti hrane (Službeni glasnik RS, 62/2018), i upućuje na to da su osmotski dehidrisani poluproizvodi mikrobiološki bezbedni. Analizom broja ukupnih kvasaca i plesni, kao pogodnog kriterijum za praćenje higijenske ispravnosti procesa i zdravstvene ispravnosti namirnice, utvrđeno je da je proces osmotske dehidracije značajno doprineo smanjenju broja kvasaca i plesni, pri čemu su bolji rezultati postignuti dehidracijom u melasi šećerne repe, nego upotrebom konvencionalnog osmotskog rastvora (vodeni rastvor NaCl i saharoze).

Uticaj osmotske dehidracije na hemijski sastav listova sremuša

Za ispitivanje uticaja osmotske dehidracije na osnovni hemijski i mineralni sastav listova sremuša, odabran je uzorak osmotski dehidrisan na sobnoj temperaturi (20°C), nakon četvoročasovne osmotske dehidracije u melasi šećerne repe i vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida. Ovi parametri su odabrani kako bi se izbegao negativan uticaj temperature na nutritivne komponente polazne sirovine i omogućilo njihovo očuvanje i koncentrisanje, kao i da bi se postigla energetska ušteda. Analizirane su osnovne komponente hemijskog sastava listova sremuša pre i posle osmotske dehidracije u oba osmotska rastvora i rezultati su predstavljeni kao srednje vrednosti tri ponovljena merenja sa standardnim devijacijama (tabela 10).

Usvajanje rastvorenih supstanci iz osmotskog rastvora, kao i isticanje važnih nutrijenata iz prehrambene sirovine koja se osmotski dehidrira (kao što su vitamini i minerali), rezultuje promenom hemijskog sastava originalne sirovine, što može negativno da se odrazi na njena nutritivna i

organoleptička svojstva (Akbarian i sar., 2014). U slučaju osmotske dehidracije u vodenom rastvoru šećera i soli, visoke vrednosti priraštaja suve materije (SG) nisu poželjne, s obzirom da se unos većih količina saharoze povezuje sa pojavom dijabetesa i dentalnih problema, a soli sa hipertenzijom (Kauri sar., 2022). Rafinirani šećer sadrži 99,9% saharoze, i ima nisku nutritivnu, a visoku energetska vrednost (Pravitha i sar., 2021). U tom smislu, za ispitivanje uticaja osmotske dehidracije u šećerno-slanom rastvoru na hemijski sastav listova sremuša, uzorci dehidrisani na 20°C, nakon 4 sata, su odabrani jer je u njima postignut maksimalni gubitak vode (0,409 g/g p.u.), uz najnižu impregnaciju šećerom i solju (0,144 g/g p.u.). Kod uzoraka osmotski dehidrisanih u melasi na temperaturi od 20°C, nakon četvoročasovne imerzije, postignut je zadovoljavajući stepen dehidracije (0,656 g/g p.u.), uz priraštaj suve materije od 0,175g/g p.u.

Tabela 10. Prikaz hemijskog sastava svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša

Komponenta	Sveži listovi sremuša	Listovi sremuša osmotski dehidrisani u vodenom rastvoru NaCl i saharoze	Listovi sremuša osmotski dehidrisani u melasi šećerne repe
Proteini (% s.m.)	33,97 ± 1,27 ^a	29,01 ± 0,74 ^b	28,04 ± 1,11 ^c
Skrob (% s.m.)	<0,01	<0,01	<0,01
Šećeri (% s.m.)	<0,01	10,08 ± 0,26 ^b	9,77 ± 0,94 ^b
Celuloza (% s.m.)	32,12 ± 1,81 ^a	27,03 ± 0,41 ^b	26,47 ± 0,74 ^c
Masti (% s.m.)	0,11 ± 0,00 ^a	0,10 ± 0,00 ^a	0,09 ± 0,00 ^a
Pepeo (% s.m.)	9,80 ± 0,51 ^a	12,95 ± 1,83 ^b	10,05 ± 0,71 ^a
Mineralne materije:			
Mg (mg/kg)	911,77 ± 9,19 ^a	501,77 ± 0,44 ^b	896,12 ± 5,71 ^b
Na (mg/kg)	32,87 ± 82,01 ^a	40356,13 ± 1,20 ^c	102,55 ± 41,06 ^b
K (mg/kg)	4692,01 ± 83,71 ^a	2860 ± 86,17 ^b	13806 ± 94,20 ^c
Ca (mg/kg)	1432,01 ± 93,91 ^a	770,46 ± 94,58 ^b	1461,68 ± 40,35 ^c
Fe (mg/kg)	18,71 ± 0,18 ^a	10,03 ± 0,09 ^a	95,53 ± 0,79 ^b
Zn (mg/kg)	5,31 ± 0,04 ^a	2,81 ± 0,01 ^b	8,01 ± 0,06 ^c
Cu (mg/kg)	1,63 ± 0,10 ^a	0,86 ± 0,08 ^b	2,45 ± 0,03 ^c

^{a-c} Različita slova u eksponentu u istom redu tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa), s.m.-suva materija

Na osnovu rezultata u tabeli 10, uočava se da se sadržaj svake pojedinačne ispitivane komponente, kako hemijskog tako i mineralnog sastava, statistički značajno razlikuje u odnosu na inicijalni sadržaj u svežem listovima sremuša. Količina određene komponente hemijskog sastava izražena je na procenat suve materije svežih listova sremuša.

Od ukupnih 7,91% suve materije u svežim listovima sremuša (tabela 4), hemijskom analizom je utvrđeno da proteini učestvuju sa 33,97%, celuloza sa 32,12%, masti sa 0,11% i pepeo sa 9,80% (tabela 4.7.). Dakle, od ukupnih 7,91g suve materije listova sremuša, 2,68 g čine proteini, 2,54 g celuloza, 0,08g masti i 0,78 g pepeo. Slično prezentovanim rezultatima, Piatkowska i sar.(2015), su izvestili da je sadržaj suve materije u svežim listovima sremušu iznosio 7,9%, od kojih sadržaj proteina čini 17,72% (1,40 g), 34,05% vlakana (2,69 g), 7,08% (0,56 g) masti i minerali izraženi kao pepeo 11.26% (0,89 g).Isti autori utvrdili su da ukupni ugljeni hidrati čine 64,30% (5,08g) suve materije. U saglasnosti su i rezultati objavljeni od strane autora Błażewicz i Michowska (2011), koji su ispitivali hemijski sastav tri različita ekotipa sremuša i ustanovili da je sadržaj suve materije u listovima sremuša varirao između 6,69-15,7%, a sadržaj proteina između 2,05 i 2,67 g u 100 g svežeg sremuša. Takođe, autori Vučić i sar. (2018) došli su do saznanja da se sadržaj suve materije u

listovima sremuša, sa četiri različita lokaliteta, kretao u rasponu od 8,64 do 9,64%, a sadržaj pepela od 0,77 do 0,97g.

U slučaju osmotski dehidrisanih uzoraka listova sremuša, ukupan procenat sadržaja ispitivane komponente je umanjen za 14,4 % suve materije koja je usvojena iz šećerno-slanog rastvora, i za 17,5% suve materije usvojene iz melase u odnosu na procentualni sadržaj iste komponente u listovima svežeg sremuša. Na osnovu ovog proračuna uočava se da sadržaj proteina, celuloze i masti ostaje nepromenjen u uzorcima listova sremuša nakon osmotske dehidracije u oba rastvora (tabela 10). S druge strane, rezultati prikazuju da je osmotska dehidracija dovela do inkorporacije značajne količine ukupnih šećera iz osmotskih rastvora (10,08 % iz vodenog rastvora i 9,77% iz melase) u dehidrisane listove sremuša. Takođe, sadržaj pepela u osmotski dehidrisanim uzorcima je povećan u odnosu na sveže listove sremuš. Kao rezultat usvajanja soli (natrijuma) putem masenog transfera tokom procesa za oko 4% je veći sadržaj pepela nakon dehidracije u vodenom rastvoru NaCl i saharoze, i za oko 2% nakon dehidracije u melasi šećerne repe, kao posledica inkorporacije mineralnih materija iz melase.

U istraživanju autora Vučić i sar. (2018), sadržaj ispitivanih makroelemenata u uzorcima listova sremuša sa različitih lokacija je bio u rangu: 317-335 mg/kg svežeih listova sremuša za Mg, 31-33 mg/kg za Na, 1532-1559 mg/kg za Ca, a sadržaj ispitivanih mikroelemenata u opsegu: 13,9-15,6 mg/kg za Fe, 2,3-2,6 za Zn i 1,6-1,9 mg/kg za Cu. Podaci navedenih autora su u saglasnosti sa prezentovanim rezultatima disertacije (tabela 10), ali su utvrđene količine za Mg, Fe i Cu u okviru ove disertacije bili veće.

Ako se sadržaj mineralnih materija u uzorku listova sremuša nakon osmotske dehidracije u rastvoru saharoze i soli posmatra na isti način kao i u slučaju sadržaja hemijskih komponenata (umanjeno za 14,4% u odnosu na procenat suve materije u 100 g listova svežeg sremuša), zapaža se da je količina K i Mg smanjena za oko 30%, a količina Ca, Fe, Zn, i Cu za oko 40%. Ovaj rezultat je u skladu sa rezultatima istraživanja autora Cvetković i sar. (2019), koji su potvrdili smanjen sadržaj Fe, Cu, Mg, i Ca od 30 do 60% nakon osmotske dehidracije kupusa u rastvoru saharoze i natrijum hlorida. Redukcija mineralnih komponenti je posledica difuzije dela ćelijskih sokova iz tkiva svežih listova sremuša u osmotski rastvor.

Nasuprot tome, povećanje natrijuma rezultat je penetracije rastvorenih supstanci (soli) iz osmotskog rastvora tokom procesa (oko 4g/100g suve materije uzorka). Sa nutritivnog i zdravstvenog aspekta, smanjenje količine mineralnih materija, kao i velike količine Na su nepoželjne. U tom pogledu, melasa šećerne repe se pokazala kao mnogo povoljniji osmotski rastvor. Sadržaj Na je povećan i u uzorku podvrgnutom osmotskoj dehidraciji u melasi, ali je porast manje izražen 32,87-102,55 mg/kg. U odnosu na sveže listove sremuša, sadržaj Ca i Mg u uzorku osmotski dehidrisanom u melasi je povećan oko 1,2 puta, Cu i Zn oko 1,8 puta, K 3,56 puta i Fe 6 puta.

Očigledno je da je melasa kao osmotski rastvor, zbog svog bogatog mineralnog sastava doprinela povećanju sadržaja svih ispitivanih komponenti. Najdominantniji makroelement u melasi je kalijum koji se gotovo potpuno akumulira u melasi tokom proizvodnje šećera u opsegu od 2190 mg/100g do čak 6000 mg/100g, dok je gvožđe dominantan mikroelement koji u melasi varira u količini od 27 do 117 mg/kg suve materije (Šarić i sar., 2016; Cvetković i sar., 2019). Nakon osmotske dehidracije u melasi, u listovima sremuša uočen je najveći porast upravo ove dve mineralne komponente. Posmatrano sa nutritivnog aspekta, može se zaključiti da je kao osmotski rastvor melasa šećerne repe mnogo bolji izbor.

Uticaj osmotske dehidracije na antioksidativnu aktivnost listova sremuša

Snažna antioksidativna svojstva listova sremuša dokazana su u brojnim studijama i pripisuju se prisustvu mnogih biološki aktivnih jedinjenja kao što su: fenolna jedinjenja, dijetna vlakna, minerali, terpenoidi, karotenoidi, fitoestrogeni, saponini (Pejatović i sar., 2017). Ispitivana je antioksidativna aktivnost metanolnih ekstrakata listova sremuša primenom ABTS i DPPH metode, a dobijene vrednosti za obe metode su izražene kao IC₅₀ vrednosti (mg/ml), koje predstavljaju koncentraciju ekstrakata sremuša potrebnu za inhibiciju 50% početne koncentracije ABTS i DPPH radikala. Dobijena vrednost za antioksidativnu aktivnost svežeg sremuša određenu DPPH metodom (0,429 mg/ml, tabela 11) je nešto niža (jača antioksidativnost) ako se uporedi sa sa IC₅₀ vrednošću koju su dobili autori Pavlović i sar. (2017) za metanolni ekstrakt sremuša (0,630 mg/ml), a nešto viša (slabija antioksidativnost) u poređenju sa DPPH aktivnošću metanolnog ekstrakta sremuša (0,111 mg/ml) koji su eksperimentalno odredili autori Krivokapić i sar. (2020).

Pored metanolnog, navedeni autori su ispitivali i biološku aktivnost vodenih i hloroformnih ekstrakata listova sremuša i zaključili da je najveću DPPH aktivnosti tj., najniže IC₅₀ vrednosti koje odgovaraju najizraženijoj antioksidativnoj moći, pokazao upravo metanolni ekstrakt (Krivokapić i sar., 2020). U svom istraživanju, Pavlović i sar. (2017), utvrdili su da se ispitivani ekstrakti sremuša na osnovu najnižih IC₅₀ vrednosti i najvećih antioksidativnih kapaciteta ponašaju prema sledećem redosledu: apsolutni metanol > apsolutni etanol > 70% etanol > 80% metanol > destilovana voda. U radu Barla i sar., (2014), antioksidativna aktivnost etanolnog ekstrakta sremuša izražena preko IC₅₀ iznosi 0,322 mg/ml. DPPH metodom određen antioksidativni kapacitet ekstrakata sremuša dobijenih ekstrakcijom subkritičnom vodom kretao se u zavisnosti od uslova ekstrakcije u rasponu od 0,04 do 0,47 mg/ml, (računato na IC₅₀), dok je vrednost antioksidativnosti određena pomoću ABTS metode bila u intervalu od 0,96 do 11,78 mM Troloksa/100 g suve materije uzorka listova sremuša (Tomšik i sar., 2017). Očigledno je da primenjeni metod ekstrakcije i rastvarač za ekstrakciju imaju značajan uticaj na ukupnu antioksidativnost ispitivanih ekstrakata. Takođe, važni faktori koji mogu uticati na varijacije antioksidativnog kapaciteta ekstrakata listova sremuša su vreme i lokalitet sakupljanja biljnog materijala (Krivokapić i sar., 2020).

Tabela 11. Rezultati antioksidativne aktivnosti (određene ABTS i DPPH metodom) svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša

	ABTS (mg/ml)	DPPH (mg/ml)
Sveži listovi sremuša	0,084 ± 0,021 ^a	0,429 ± 0,018 ^a
Listovi sremuša dehidrisani u R1 na T=20°C, 4h	0,104 ± 0,043 ^b	0,476 ± 0,027 ^b
Listovi sremuša dehidrisani u R2 na T=20°C, 4h	0,073 ± 0,025 ^c	0,368 ± 0,001 ^c

R1 – Vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2 – Melasa šećerne repe

^{a-c}Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa)

Na osnovu rezultata u tabeli 11, uočava se da je proces osmotske dehidracije koji se odvija na sobnoj temperaturi u trajanju od 4 sata u rastvoru šećera i soli, uticao na povećanje IC₅₀ vrednosti dobijenih primenom obe antioksidativne metode, i shodno tome doprineo smanjenju ukupne

antioksidativnosti u ispitivanim uzorcima sremuša. Ukupna antioksidativna aktivnost osmotski dehidrisanog sremuša u R1 opala je za oko 20% određeno ABTS metodom, i oko 10% mereno DPPH metodom u odnosu na početnu antioksidativnost svežeg sremuša.

Postoje istraživanja u kojima je pokazano da osmotska dehidracija može da utiče na redukciju ukupne antioksidativnosti, usled gubitka antioksidativnih jedinjenja koja su rastvorna u vodi, te zajedno sa njom difunduju iz potopljenog tkiva uzorka u okolni osmotski rastvor (Tonon i sar., 2007; Devic i sar., 2010; Nowicka i sar., 2015). Gubitak antioksidativnosti je posebno izražen na višim temperaturama (Atares i sar., 2011). Iako ispitivani uzorci nisu izloženi povišenoj temperaturi, dužim trajanjem procesa (4h), integritet ćelijskih zidova tretiranog uzorka se narušava, što olakšava maseni transfer, a otežava zadržavanje antioksidanata unutar tretiranog tkiva. Pored difuzije vode, tokom osmotske dehidracije se odvija i hidroliza molekula, što je još jedan mehanizam koji se može negativno odraziti na zadržavanje početne antioksidativnosti biljnog materijala. Hidrolizom se molekuli vezani u polimere skraćuju i nastaju molekuli manje molekulske mase, koji su samim tim pogodniji za transport kroz ćelijske membrane tokom procesa (Devic i sar., 2010). Za odvijanje ovog mehanizma dužina trajanja osmotske dehidracije ima mnogo veći uticaj od temperature (Devic i sar., 2010; Almeida i sar., 2015).

Ipak, u poređenju sa konvencionalnim tehnikama sušenja, osmotska dehidracija je pokazala prednost u očuvanju ukupnog antioksidativnog kapaciteta biljnog materijala, zbog primene nižih temperatura, zaštitne uloge okolnog osmotskog rastvora i ograničenja oksidativnom izlaganju tokom procesa (Landim i sar., 2016). Almeida i sar. (2015), u uzorcima banane osmotski dehidrisane u visokokoncentrovanim rastvorima saharoze postigli su retenciju ukupne antioksidativne aktivnosti i do 97%, nakon 60 i 180 min trajanja procesa.

S druge strane, osmotska dehidracija u melasi šećerne repe, pri istim uslovima procesa, doprinela je povećanju ABTS i DPPH vrednosti za oko 15%, u odnosu na inicijalne vrednosti svežih listova sremuša. Inkorporacija rastvorenih supstanci iz osmotskog rastvora doprinosi formiranju zaštitne barijere na površinskim slojevima materijala koji se dehidrira, i ograničava oticanje bioaktivnih komponenti odgovornih za njegovu ukupnu antioksidativnost (Landim i sar., 2016). Moguće je da melasa šećerne repe zbog veće koncentracije, složenijeg sastava i heterogenosti prisutnih jedinjenja u odnosu na vodeni rastvor saharoze i natrijum hlorida stvara jaču barijeru gubitku antioksidanata iz sremuša, i doprinosi boljem očuvanju antioksidativne aktivnosti dehidrisanih uzoraka. Ipak, povećanje ukupne antioksidativnosti u listovima sremuša dehidrisanim u melasi, najpre se može potkrepiti činjenicom da je melasa bogat izvor antioksidativnih jedinjenja (Chen i sar., 2017). Sekundarnim transferom tokom procesa osmotske dehidracije neke bioaktivne komponente prisutne u melasi mogu dospeti u tkivo materijala koji se dehidrira, i na taj način poboljšati ukupnu antioksidativnost dehidrisanog uzorka (Nićetin i sar., 2021).

Uticaj osmotske dehidracije na ukupne fenole, flavonoide i tiosulfinate u listovima sremuša

Naučne studije u kojima je ispitivana biološka aktivnost sremuša dokazale su da se njegova visoka antioksidativna aktivnost može pripisati velikom sadržaju fenolnih jedinjenja, pre svega flavonoida (Pejatović i sar., 2017). U tabeli 12 su prikazane vrednosti ukupnih fenola i flavonoida svežeg uzorka sremuša i uzoraka nakon osmotske dehidracije (4 h, 20°C) u dva osmotska rastvora, pri čemu je sadržaj ukupnih fenola izražen u gramima ekvivalenta galne kiseline u 100 g suve materije listova sremuša, a sadržaj ukupnih flavonoida je izražen u gramima ekvivalenta katehina na 100 g suve materije listova sremuša.

Tabela 12. Rezultati sadržaja ukupnih fenola, flavonoida i tiosulfinata u svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša

	Ukupni fenoli (g EGK/100g s.m.)	Ukupni flavonoidi (g EK/100g s.m.)	Ukupni tiosulfinati (g EAC/100g s.m.)
Sveži listovi sremuša	2,739 ± 0,043 ^a	2,044 ± 0,018 ^a	1,792 ± 0,028 ^a
Listovi sremuša dehidrisani u R1 na T=20°C, 4h	2,501 ± 0,043 ^b	1,826 ± 0,027 ^b	1,707 ± 0,027 ^b
Listovi sremuša dehidrisani u R2 na T=20°C, 4h	3,016 ± 0,025 ^c	2,366 ± 0,034 ^c	1,747 ± 0,031 ^a

R1 – Vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2 – Melasa šećerne repe, EGK- ekvivalenti galne kiseline, EK- ekvivalenti katehina, EAC- ekvivalenti alicina

^{a-c} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa)

Na osnovu datih vrednosti, uočava se da je sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u analiziranim uzorcima svežih listova sremuša u proseku iznosio 2,739 g EGK/100 g s.m. i 2,044 g EGK/100 g s.m., redom. Dobijeni rezultati su veći u poređenju sa rezultatima Tomšik i sar. (2016), gde je kao i u istraživanju u okviru ove disertacije primenjena ultrazvučna ekstrakcija za određivanje sadržaja fenola i flavonoida, s tom razlikom što je u njihovom radu korišćen etanol kao rastvarač za ekstrakciju, dok je u prikazanom istraživanju korišćen metanol. Sadržaj ukupnih fenola u pomenutom istraživanju Tomšik i sar. (2016), izražen u gramima ekvivalenta galne kiseline u 100 g suve materijesremuša, kretao se u intervalu od 0,92 do 1,44 g EGK/100g s.m. u zavisnosti od parametara ultrazvučne ekstrakcije (vreme, temperatura, koncentracija etanola, snaga ultrazvuka). U pogledu sadržaja ukupnih flavonoida, isti autori detektovane su količine u rasponu od 0,09 do 0,40 g ekvivalenta katehina u 100 g suve materije sremuša.

Dobijene vrednosti su takođe znatno veće od saopštenih u istraživanjima Đurđević i sar. (2004), gde je sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u lišću sremuša iznosi 0,434g u 100g suve materiji Barla i sar. (2014) koji su pronašli 1,42 g ukupnih fenola u 100 g ekstrakta lišća *A. ursinum*, izraženu ekvivalentima galne kiseline, uz etanol kao rastvarač.

Veći sadržaj fenola i flavonoida prezentovan u ovoj disertaciji verovatno je posledica upotrebe metanola za pripremu ekstrakata, s obzirom da je ranije dokazano da je 80%-tni metanol mnogo efikasniji rastvarač za ekstrakciju bioaktivnih jedinjenja sremuša, u odnosu na etanol (Krivokapić i sar., 2020). Takođe, sadržaj fenolnih jedinjenja varira u zavisnosti od lokaliteta sa kog potiče ispitivani sremuš i njegovog ekotipa, kao i od odabrane tehnike ekstrakcije.

U istraživanju Pejatović i sar. (2017), pokazano je da su veće vrednosti sadržaja ukupnih fenola i flavonoida određene u 80%-tnim metanolnom ekstraktu suvog lišća sremuša, u odnosu na vrednosti dobijene korišćenjem 70%-tnog etanolnog ekstrakta. U okviru svog istraživanja autori su potvrdili da ukupni sadržaj fenola zavisi od lokacije sa koje potiče sremuš, ekotipa, kao i polarnosti rastvarača upotrebljenog za ekstrakciju, pri čemu su dobili količine u intervalu od 1,03 do 2,11 g EGK/100 g s.m. Vrednosti sadržaja fenola za metanolne ekstrakte lišća sremuša ekotipa Gornje Lipovo (Crna Gora) i Čemerno (Bosna i Hercegovina) iznosile su 1,83 i 2,11 g EGK/100 g s.m., redom, dok su za etanolni ekstrakt za iste ekotipove vrednosti ukupnih fenola u sremušu bile primetno niže i iznosile su 1,30 i 1,627 g EGK/100 g s.m. I u slučaju dobijenih vrednosti za sadržaj ukupnih flavonoida 80%-tni metanol se pokazao kao bolji rastvarač u odnosu na 70%-tni etanol.

Sadržaj ukupnih flavonoida izažen u gramima ekvivalenta kvercetina u 100 g suve materije listova sremuša bio je u intervalu od 0,25 do 0,68 g EKV/100g s.m. za ekotip Gornje Lipovo i 1,37 do 2,00 g EKV/100 g s.m. za ekotip Čemerno. U radu Błażewicz-Woźniak i Michowska (2011), suma ukupnih flavonoida je u zavisnosti od ekotipa listova sremuša sa područja Poljske varirala u intervalu 0,318 g do 0,343 g flavonoida izraženih kao ekvivalenti kvercetina u 100 g suve mase listova sremuša. Najveća količina ovih supstanci detektovana je kod ekotipa Roztocze, a najmanja za Dukla ekotip. Sadržaj fenolnih kiselina je bio sličan za sve ispitivane ekotipove i u proseku je iznosio 0,7137 g/100 g suve materije listova sremuša. Dukla *A. ursinum* ekotip je imao najveći sadržaj ovih komponenti.

Prema istraživanju Pavlović i sar. (2017), sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja je varirao od 2,43 do 4,39 g EGK/100 g suvog ekstrakta listova sremuša, zavisno od upotrebljenog rastvarača za ekstrakciju. I u ovom istraživanju apsolutni metanol i etanol su se pokazali kao najefikasniji za ekstrakciju ukupnih flavonoida, čiji je sadržaj izažen u ekvivalentima rutina i varirao je između 0,75 i 3,8 g ER/100 g suvog ekstrakta listova sremuša. Krivokapić i sar. (2020) su u metanolnom ekstraktu listova sremuša detektovali ukupan sadržaj fenola u iznosu od 3,33 g EGK/100g s.m., dok je za ukupni sadržaj flavonoida detektovana vrednost od 0,68 g/100 g s.m. Visoke vrednosti ukupnog sadržaja fenola u ekstraktima listova sremuša saopštili su autori Tomšik i sar. (2017) primenom ekstrakcije subkritičnom vodom, 0,97-4,00 g EGK/100g s.m., u zavisnosti od odabrane temperature, vremena ekstrakcije i koncentracije dodate hlorovodonične kiseline.

U literaturi nema dovoljno podataka o uticaju različitih metoda sušenja na očuvanje i stabilnost fenolnih i sumpornih jedinjenja u listovima sremuša. U disertaciji je ispitan uticaj osmotske dehidracije na promenu sadržaja prisutnih fenola, flavonoida i tiosulfinata, na 20°C, kako bi se izbegao negativan uticaj temperature na pomenuta jedinjenja, i pri maksimalnom trajanju procesa od 4 sata, kako bi se bolje ispratio uticaj primenjenog osmotskog rastvora i masenog transfera koji se odvija tokom procesa na krajnji sadržaj ovih jedinjenja u osmotski dehidrisanim listovima sremuša. Na osnovu vrednosti predstavljenih u tabeli 12, uočljivo je smanjenje sadržaja ukupnih fenola i flavonoida nakon osmotskog sušenja u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida, za oko 10% u odnosu na kontrolni uzorak listova sremuša.

Gubitak fenolnih jedinjenja sigurno je u velikoj meri posledica primarnog masenog toka koji se odigrava tokom procesa, s obzirom da je većina fenola i flavonoida rastvorljiva u vodi, pa migracijom vode iz potopljenog uzorka listova sremuša koji se dehidrira dospevaju u rastvor koji ih okružuje. Ovo se odnosi pre svega na fenole manjih molekulskih masa, jer su Devic i sar. (2010) dokazali da se gubitak hidoksicimetnih kiselina i katehina povećava sa dužim trajanjem procesa osmotske dehidracije, dok fenoli veće molekulske mase, kao što su tanini i procijanidini, u većoj meri ostaju očuvani u osmotski dehidrisanom uzorku zbog toga što pružaju otpor transferu ka osmotskom rastvoru. Ipak zadržavanje ukupnog sadržaja fenola i flavonoida i do 90% u listovima sremuša dehidrisanih u R1 je dosta visoko, što je u skladu sa istraživanjem Singla i sar. (2005), koje sugeriše da osmotska dehidracija ne menja u značajnoj meri sadržaj ukupnih fenola u pečurkama. Prodiranje osmoaktivnih supstanci iz rastvora u tkivo materijala koji se dehidrira stvara sredinu limitirane koncentracije kiseonika i vlage, što utiče na ograničenje aktivnosti enzima polifenoloksidaze, i sprečava oksidaciju prisutnih fenola (Quiles i sar., 2005).

Melasa šećerne repe kao osmotski rastvor tokom procesa dehidracije listova sremuša, ne samo da je očuvala početni sadržaj ispitivanih jedinjenja, nego je uticala i na njihovo povećanje. Primetan je porast ukupnih fenola za oko 10% i flavonoida za oko 15%, u odnosu na sveže listove sremuša. Više studija je potvrdilo da melasa šećerne repe predstavlja bogat izvor fenola i flavonoida, pa je očekivano da je inkorporacija rastvorenih supstanci iz melase u tkivo listova sremuša, obuhvatala i neke od ovih bioaktivnih jedinjenja, što objašnjava povećan sadržaj fenola u krajnjem produktu (Cheni sar., 2015; Filipčev i sar., 2010; Knežević i sar., 2019).

Tiosulfinati, među kojima je alicin glavni predstavnik, zaslužni su kako za karakterističan ukus i miris listova sremuša, tako i za njegova antioksidativna i terapijska svojstva (Vlase i sar., 2012). Vrednost ukupnih tiosulfinata je određena i izražena u gramima ekvivalenta alicina u 100 g suve materije uzorka, a u svežim listovima sremuša je iznosila 1,792 g EAC/100 g s.m. (tabela 12). Rezultati pokazuju da nakon četvoročasovne osmotske dehidracije listova sremuša na sobnoj temperaturi u rastvoru saharoze i natrijumhlorida dolazi do smanjenja ukupnih tiosulfinata, dok nakon odvijanja istog procesa u melasi šećerne repe nije uočena statistički značajna razlika u pogledu sadržaja ukupnih tiosulfinata. Primena melase kao osmotskog rastvora se pokazala efikasnija sa aspekta očuvanja početnog sadržaja tiosulfinata najverovatnije usled većeg priraštaja suve materije u dehidrisanom tkivu listova sremuša, koji je tokom procesa preuzeo ulogu zaštitne barijere oticanju sumpornih jedinjenja.

Značajniji gubitak ukupnih tiosulfinata izbegnut je time što je odabrana temperatura osmotske dehidracije od 20°C, jer je poznato da su ova jedinjenja termolabilna. Na višim temperaturama, koje su uobičajene za konvektivno sušenje dolazi do ometanja aktivnosti enzima alinaze, odgovornog za stvaranje tiosulfinata i konverziju aliina u alicin, ili do potpune inaktivacije ovog enzima (Ratti i sar., 2007). Pored toga, izlaganje listova sremuša visokim temperaturama može uticati na razgradnju formiranih tiosulfinata na disulfide (Sobolewska i sar., 2015). Negativan uticaj temperature na tiosulfinate prisutne u listovima sremuša potvrđen je u radu Tomšik i sar. (2016a), gde je dobijeni sadržaj ukupnih tiosulfinata u listovima sremuša konvektivno osušenom na 60°C (0,61 gAEC/100 g s.m) za oko 40% niži u poređenju sa istim uzorkom kada je temperatura konvektivnog sušenja bila 40°C (1,01 g AEC/100 g s.m).

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na pojedina svojstva keksa

Prema usvojenom eksperimentalnom planu formulisan je sirovinski sastav slanog keksa od integralnog speltinog brašna, koji je uključivao dodavanje svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša na 20°C, u trajanju od 4 sata, u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida i melasi šećerne repe, u količini od 0%, 1,25% i 2,5%, računato na brašno, i dodavanje origana u količini 0%, 0,5% i 1%, računato na brašno. Parametri procesa osmotske dehidracije (20°C, 4h) odabrani su kao optimalni za postizanje maksimalnog gubitka vode i povećanja sadržaja suve materije, bez negativnog uticaja temperature na nutritivno vredne komponente u osmotski dehidrisanim listovima sremuša, koji će se dalje koristiti kao sirovina u procesu proizvodnje keksa. Origano je dodat u sirovinski sastav keksa, pre svega radi unapređenja senzornih svojstava keksa (ukusa i mirisa).

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na teksturu keksa

Sa stanovišta potrošača, tekstura je bitan parametar na osnovu kog se procenjuje kvalitet keksa (Galla i sar., 2017). Instrumentalne analize teksture slanog keksa obuhvatile su ispitivanje svojstava čvrstoće i lomljivosti. Čvrstoća je mehaničko svojstvo definisano silom koja je potrebna da dođe do potpune deformacije keksa, drugim rečima otpornost keksa na lom, dok je lomljivost nasuprost tome pokazatelj krhkosti teksture keksa i njegove sklonosti ka mrvljenju i drobljenju (Filipčev i sar., 2012). U tabeli 13 prikazane su izmerene vrednosti parametara čvrstoće i lomljivosti za svih 27 uzoraka slanog keksa, kreiranih prema usvojenoj recepturi i eksperimentalnom planu. Uporedni rezultati čvrstoće i lomljivosti slanog keksa različitih receptura, omogućavaju analiziranje uticaja dodatka svežih listova sremuša, origana i osmotski dehidrisanih listova sremuša u vodenom rastvoru natrijum

hlorida i saharoze, kao i u melasi šećerne repe kao osmotskom rastvoru. Razlike između uzoraka keksa nastale usled različitih vrsta i količina dodataka su ispitivane pri nivou značajnosti od $p < 0,05$, a značajnost razlika je utvrđena primenom Tukey-evog HSD testa.

Tabela 13. Rezultati instrumentalne analize teksture uzoraka keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša

R. br.	Listovi Sremuša	Količina dodatih listova sremuša	Količina dodatog origana	Čvrstoća (g)	Lomljivost (mm)
1	/	0%	0%	5930,26 ± 202,64 ^a	1,21 ± 0,15 ^a
2	Sveži	1,25%	0%	5052,53 ± 109,35 ^g	1,97 ± 0,29 ^b
3	Sveži	2,5%	0%	4577,94 ± 117,60 ^{c-g}	2,26 ± 0,20 ^{b-e}
4	/	0%	0,5%	5909,84 ± 178,00 ^a	1,25 ± 0,23 ^a
5	Sveži	1,25%	0,5%	4863,6 ± 235,04 ^{d-g}	2,19 ± 0,10 ^{b-d}
6	Sveži	2,5%	0,5%	4416,26 ± 135,70 ^{b-e}	2,47 ± 0,16 ^{b-f}
7	/	0%	1%	5858,38 ± 104,53 ^a	1,32 ± 0,13 ^a
8	Sveži	1,25%	1%	4713,52 ± 184,19 ^{c-g}	2,24 ± 0,09 ^{b-e}
9	Sveži	2,5%	1%	4381,77 ± 144,75 ^{b-e}	2,70 ± 0,19 ^{d-g}
10	/	0%	0%	5930,26 ± 202,64 ^a	1,21 ± 0,15 ^a
11	OD u R1*	1,25%	0%	5038,17 ± 184,36 ^g	2,07 ± 0,27 ^{bc}
12	OD u R1	2,5%	0%	4500,49 ± 155,58 ^{b-f}	2,40 ± 0,16 ^{b-f}
13	/	0%	0,5%	5909,84 ± 178,00 ^a	1,25 ± 0,23 ^a
14	OD u R1	1,25%	0,5%	4876,04 ± 191,05 ^{e-g}	2,28 ± 0,19 ^{b-f}
15	OD u R1	2,5%	0,5%	4334,05 ± 170,15 ^{bc}	2,60 ± 0,25 ^{c-g}
16	/	0%	1%	5858,38 ± 204,53 ^a	1,32 ± 0,15 ^a
17	OD u R1	1,25%	1%	4616,26 ± 135,70 ^{c-g}	2,35 ± 0,10 ^{b-f}
18	OD u R1	2,5%	1%	4231,74 ± 144,75 ^{bc}	2,84 ± 0,17 ^g
19	/	0%	0%	5930,26 ± 102,64 ^a	1,21 ± 0,15 ^a
20	OD u R2**	1,25%	0%	4948,17 ± 146,72 ^{fg}	2,32 ± 0,20 ^{b-f}
21	OD u R2	2,5%	0%	4366,49 ± 155,58 ^{b-d}	2,69 ± 0,11 ^{e-g}
22	/	0%	0,5%	5909,84 ± 178,00 ^a	1,25 ± 0,23 ^a
23	OD u R2	1,25%	0,5%	4706,72 ± 130,82 ^{c-g}	2,38 ± 0,24 ^{b-f}
24	OD u R2	2,5%	0,5%	4213,52 ± 184,19 ^{bc}	2,80 ± 0,10 ^{c-g}
25	/	0%	1%	5858,38 ± 104,53 ^a	1,32 ± 0,13 ^a
26	OD u R2	1,25%	1%	4386,32 ± 91,88 ^{b-e}	2,54 ± 0,08 ^{c-f}
27	OD u R2	2,5%	1%	4071,82 ± 90,64 ^b	3,14 ± 0,14 ^g

^{a-g} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa). Količine dodatog svežeg i osmotski dehidrisanog sremuša i origana su izražene u procentima njihove suve materije računato na količinu brašna, * OD u R1 – sremuš osmotski dehidrisan u vodenom rastvoru NaCl i saharoze, ** OD u R2 – sremuš osmotski dehidrisan u melasi šećerne repe, uzorci 1, 10, 19; 4, 13, 22; 7, 16, 25 su ponovljeni radi lakšeg praćenja promena u okviru variranih parametara

Čvrstoća slanog keksa sa dodatkom listova sremuša i origana je varirala u rasponu od 5930,26 do 4071,82 g (Tabela 13). Minimalna čvrstoća je dobijena za uzorak 27, slani keks sa najvećim dodatkom listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi (2,5% na s.m. brašna) i origana (1% na s.m. brašna), a maksimalna za uzorak 1, slani keks bez dodataka. Na osnovu prikazanih rezultata vidi se da dodatak listova sremuša statistički značajno smanjuje čvrstoću slanog keksa. Takođe se zapaža i dodatno smanjenje čvrstoće dodatkom listova sremuša osmotski dehidrisanih u oba osmotska rastvora, u poređenju sa dodatkom svežih listova sremuša. Statistički značajna razlika prisutna je i kada se uporede uzorci keksa sa istim količinama dodataka, ali osmotski dehidrisanim u različitim rastvorima. Dodatak origana, bez obzira na odabranu količinu (0,5% i 1%), nije statistički značajno smanjio čvrstoću keksa.

Dodatak listova sremuša i origana u sirovinski sastav slanog keksa dovodi do povećanja sadržaja vlakana što rezultuje nižim stepenom vezivanja ugljenih hidrata i slabljenjem glutenske strukture, a samim tim i do smanjivanja sile koja je potrebna za lomljenje (Piteira i sar., 2006; Gallai sar., 2017). Maksimalnim dodatkom svežeg sremuša i origana (uzorak 9) dobijen je keks za 1,3 puta mekši u odnosu na kontrolni keks, tj. sa oko 26% nižom čvrstoćom.

Čvrstoća keksa sa maksimalnom količinom dodatog osmotski dehidrisanih listova sremuša u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida i origana (uzorak 18) je niža za 28,65% u odnosu na kontrolni uzorak, a sa dodatkom maksimalne količine osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasii origana (uzorak 27) je niža za 31,35% u odnosu na keks bez dodataka. Može se zaključiti da su osmotski dehidrisani listovi sremuša kao sastojak u recepturi slanog keksa najviše doprineli unapređenju njegove teksture, u pogledu čvrstoće. Keks sa maksimalnim dodatkom origana i listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi mekši je 1,5 puta u odnosu na kontrolni keks.

Postignut sadržaj suve materije u listovima sremuša dehidrisanim u melasi je veći (57,5%), u poređenju sa sadržajem suve materije u listovima dehidrisanim u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida (30,4%). Stoga je veća količina listova sremuša (u gramima) dehidrisanih u vodenom rastvoru, dodata u formulaciju keksa za definisanih 1,25 % i 2,5% suve materije na suhu materiju brašna, u odnosu na količinu listova sremuša dehidrisanih u melasi. Tokom faze pečenja keksa, voda iz dehidrisanog sremuša je verovatno više podložna isparavanju, pa testo manje zadržava vlagu, što rezultuje čvršćom teksturom. U tom smislu, više dodate vode u formulaciju keksa, a manje dehidrisanih listova sremuša u melasi, je pokazalo bolji efekat na distribuciju vlage u testu, a posledično i na manju čvrstoću. Moguće je i da samo uključivanje melase u sastav keksa preko prirasta suve materije osmotski dehidrisanih listova sremuša, takođe dovodi do postizanja mekše teksture slanog keksa, jer je poznato da melasa šećerne repe ima svojstva humektanta (Šarić i sar., 2016; Šobot i sar., 2019).

Rezultati koji se odnose na lomljivost keksa pokazuju povećanje ovog parametra teksture sa povećanjem udela dodataka. Kao i u slučaju tvrdoće, uzorci sa dodatkom origana ne pokazuju statistički značajno odstupanje u odnosu na kontrolni uzorak, dok je dodatak svežeg i osmotski dehidrisanog lista sremuša statistički značajno uticao na povećanje mrvljivosti dobijenog keksa. U odnosu na keks bez dodataka (uzorak 1), dodatak 1% origana, 2,5 % svežih listova sremuša (uzorak 9) i istog procenta listova sremuša dehidrisanog u vodenom rastvoru saharoze i soli (uzorak 18) i listova sremuša dehidrisanih u melasi (uzorak 27), povećao je lomljivost keksa za 2,23,2,35i 2,59 puta, redom. Primetno je da lomljivost keksa raste sa povećanjem količine vlakana u njegovom sirovinskom sastavu, tj. uključivanjem neglutenskih sirovina u formulaciju keksa, koje mogu da ometaju formiranje glutenskog matriksa. Maksimalna lomljivost keksa iznosi 3,14 mm i zapažena je u uzorku 27, pa je moguće da je i melasa inkorporirana u dehidrisani sremuš, a samim tim i u sastav keksa, doprinela drobljivosti strukturi dobijenog keksa.

Za statističku procenu uticaja dodatka svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša i origana na ispitivane odzive instrumentalne analize teksture keksa, odabrana je metoda odzivnih površina - RSM. Polinom drugog reda (SOP) je korišćen za aproksimaciju eksperimentalnih podataka. Matematički modeli su razvijeni za dva odziva (čvrstoća i lomljivost) koji su u funkciji nezavisno promenljivih, količine sremuša i količine origana. Izračunati su regresioni koeficijenti za svaki dobijeni model (tabela 15), kao i koeficijenti determinacije za proveru podobnosti istog. ANOVA i post-hoc Tukey-ev test uključeni su u statističku obradu, kako bi se odredio uticaj i interakcija značaja pojedinačnih promenljivih faktora na posmatrane odzive, s tim da se uticaj faktora odbacuje ako je nivo značajnosti manji od 95%.

U tabeli 14 su prikazani rezultati analize varijanse modela razvijenih za dva odziva instrumentalne analize teksture, čvrstoću i lomljivost, tri vrste keksa (keks sa svežim listovima sremuša, keks sa listovima sremuša dehidrisanim u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida, i keks sa listovima sremuša dehidrisanim u melasi).

Na osnovu ANOVA testa pokazalo se da količina listova sremuša i origana, kao i njihovo uzajamno delovanje, ne utiču statistički značajno na čvrstoću keksa sa listovima svežeg sremuša. S druge strane, prilikom razvijanja modela za lomljivost keksa sa listovima svežeg sremuša postoji statistički značajan doprinos količine sremuša, i kao kvadratnog i kao linerarnog člana polinoma. Količina origana, kao linerani član takođe doprinosi formiranju SOP modela za predikciju lomljivosti keksa sa svežim listovima sremuša, a primetan je i statistički značaj člana polinoma koji ukazuje na interakciju dodatih listova sremuša i origana.

Tabela 14. Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela dva odziva instrumentalne analize teksture tri vrste keksa

Tehnološki parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata					
			Keks sa svežim listovima sremuša		Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1		Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R2	
			Čvrstoća (g)	Lomljivost (mm)	Čvrstoća (g)	Lomljivost (mm)	Čvrstoća (g)	Lomljivost (mm)
Količina sremuša	Linearni	1	3114015	2,220417*	3576213*	2,747267*	4244779*	3,920417*
	Kvadratni	1	183043	0,140450*	161278*	0,176022*	285740*	0,238050*
Količina origana	Linearni	1	61420	0,112067*	96911*	0,114817*	143654	0,101400*
	Kvadratni	1	1012	0,000800	232	0,000272	541	0,007200
Proizvod	Sremuš x oregano	1	3862	0,027225*	9689	0,027225*	12409	0,028900*
Greška	Ostatak varijanse	3	16102	0,004242	23304	0,003419	48452	0,004633
	Ukupan zbir kvadrata	8	3379455	2,505200	3867627	3,069022	4735577	4,300600
R ²			0,99524	0,99831	0,99397	0,99889	0,98977	0,99892

⁺ Broj stepeni slobode, * Statistički značajno na nivou $p < 0,05$, R1- Vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2- Melasa šećerne repe

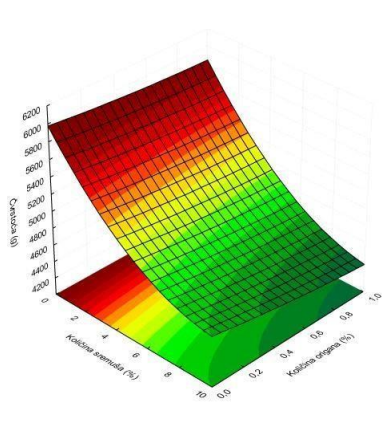
Tabela 15. Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za dva modela odziva instrumentalne analize teksture tri vrste keksa

	Keks sa svežim listovima sremuša		Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1		Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R2	
	Y1 (Čvrstoća)	Y2 (Lomljivost)	Y1 (Čvrstoća)	Y2 (Lomljivost)	Y1 (Čvrstoća)	Y2 (Lomljivost)
β_0	5977,097*	1,199167*	5973,779*	1,200278*	5993,045*	1,235000*
β_1	-258,879*	0,211167*	-258,151*	0,237500*	-308,275*	0,282667*
β_{11}	12,101*	-0,010600*	11,359*	-0,011867*	15,119*	-0,013800*
β_2	-230,208	0,188333	-112,705	0,158333	-132,258	-0,150000
β_{22}	90,000	-0,080000	-43,040	-0,046667	-65,813	0,240000
β_{12}	-12,429	0,033000*	-19,687	0,033000*	-22,279	0,034000*

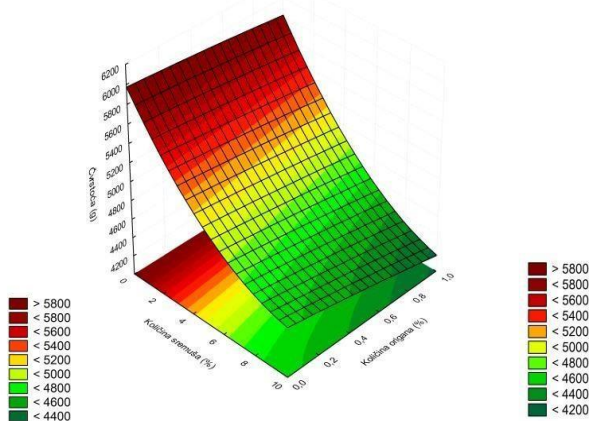
* Statistički značajno na nivou $p < 0,05$, R1- Vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2- Melasa šećerne repe

U slučaju keksa sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u oba rastvora, zapažen je statistički značajan uticaj linearnog i kvadratnog člana za količinu osmotski dehidrisanih listova sremuša na formiranje modela odziva oba ispitivana parametra teksture, čvrstoće i lomljivosti. Količina dodatih osmotski dehidrisanih listova sremuša se pokazala kao značajniji faktor za kalkulaciju odziva čvrstoće. Za izračunavanje čvrstoće keksa sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u rastvoru saharoze i soli i količina origana je statistički značajno doprinela predloženom matematičkom modelu, dok za izračunavanje čvrstoće keksa sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u melasi količina origana nije pokazala statistički značajan doprinos. Za predikciju odziva lomljivosti keksa sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u vodenom rastvoru šećera i soli i melasi, linearni članovi polinoma za količinu origana i interakciju listova sremuša i origana su uticali na nivou značajnosti iznad 95%.

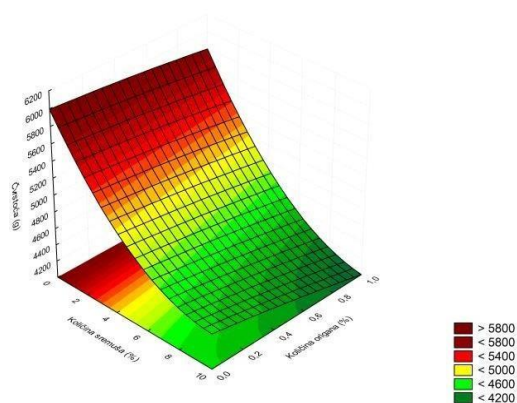
Ostaci varijanse, kao mera odstupanja generisanih matematičkih modela od eksperimentalnih podataka, ne pokazuju statističku značajnost, ukazujući da su primenjeni modeli za testirane odzive adekvatno predstavili odabrana teksturna svojstva u zavisnosti od različitog kvantiteta dodatih listova sremuša i origana. Vrednosti koeficijenta determinacije, koji je definisan odnosom opisane varijanse i ukupnim sistemom varijanse, su veoma visoke (u svim slučajevima 0,99), što nesumnjivo potvrđuje dobro poklapanje SOP modela sa eksperimentalnim vrednostima.



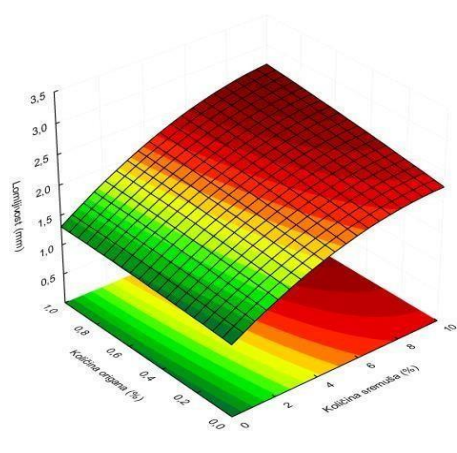
a)



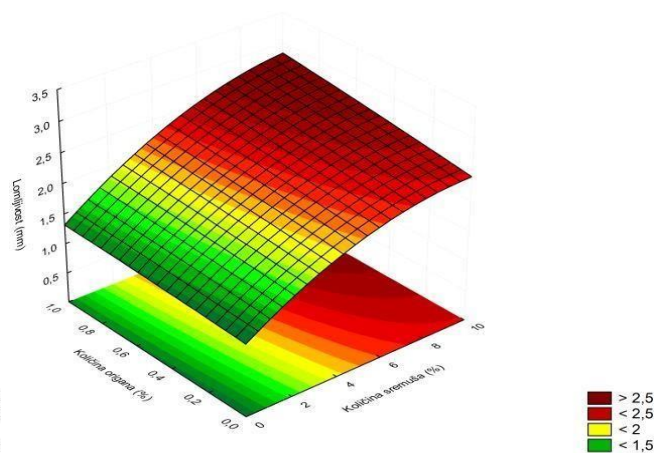
b)



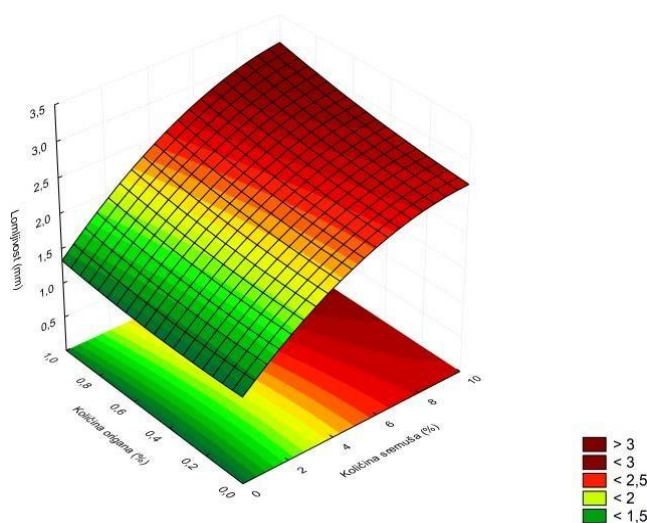
c)



d)



e)



f)

Slika 15. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva instrumentalne analize teksture keksa: a–c) Čvrstoća keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
d – f) Lomljivost keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2

Radi provere i poređenja, zavisnost teksturnih parametara (čvrstoće i lomljivosti) od količine dodatka listova sremuša (svežih i osmodehidrisanih) i origana, prikazana je i grafički, gde su razvijeni matematički modeli predstavljeni kao trodimenzionalne obojene površine tzv. odzivne površine. Na osnovu nagiba odzivnih površina koje se odnose na ponašanje odziva čvrstoće u zavisnosti od količine dodatog sremuša i origana, uočava se opadajući trend za sve tri vrste keksa (slika 13 a-c). Povećavanjem doze sremuša i origana ravnomerno se smanjuju vrednosti čvrstoće, pri čemu su najniže vrednosti postignute pri najvećim udelima dodatka (zeleno obojeni deo odzivne površine) u sva tri slučaja.

Takođe je jasno vidljiv veći uticaj količine svežih listova sremuša, slika 13 a), osmotski dehidrisanim u R1 13 b) i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u melasi 13 c) u odnosu na dodatak origana. Izraženiji uticaj količine sremuša u poređenju sa uticajem količine origana na čvrstoću keksa u glasnosti je sa rezultatima dobijenim analiziranjem putem ANOVA testa.

Slika 13 d-f, grafički prikazuje zavisnost promene lomljivosti keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim sremušem u dva različita osmotska rastvora, od promene količine odgovarajućih dodataka za svaki analizirani uzorak keksa. Sva tri nagiba opisuju rastući trend promene lomljivosti sa povećanjem dodate količine sremuša i origana, kao i izraženiji uticaj količine sremuša u odnosu na količinu origana.

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na promenu boje keksa

Boja je bitna senzorna karakteristika proizvoda na osnovu koje potrošači stvaraju određena očekivanja koja mogu da utiču na njihovu percepciju i prihvatanje proizvoda (Klunkin i Savage, 2018). U tabeli 16su prikazani rezultati instrumentalnog određivanja boje keksa bez dodatka, kao kontrolnog uzorka (1) i uzoraka keksa sa variranim udelima origana i sremuša (2-27).

Instrumentalna analiza boje je pokazala da se u odnosu na početnu vrednost parametra L^* (67,43) u kontrolnom keksu, svetloća keksa statistički značajno smanjivala sa dodavanjem sve četiri odabrane vrste. Povećavanjem udela dodataka smanjenje parametra L^* je još više dolazilo do izražaja. Dodatak origana (uzorci 4 i 7), iako statistički značajno, u poređenju sa dodatkom sremuša je manje uticao na dobijanje tamnijih uzoraka. Ako se posmatra dodatak sremuša, može se uočiti da je sremuš dehidrisan u melasi najviše doprineo smanjivanju L^* vrednosti. Najtamniji je uzorak 27 (vrednost parametra L^* 60,04), gde je dodata maksimalna količina listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi (2,5%) i origana (1%), čemu doprinose i obojene materije iz melase, pre svega melanoidini. Nekoliko istraživanjakoja su se bavila osmotskom dehidracijom sirovina u melasi, potvrdila su tamniju obojenost osmotski dehidrisanih sirovina koja potiče iz melase (Koprivica i sar., 2014; Filipović i sar., 2022). Tamna boja melase šećerne repe posledica je stvaranja melanoidina i produkata karamelizacije tokom proizvodnje saharoze, s tim da je intenzitet boje melanoidina i do 6 puta izraženiji od drugih prisutnih bojenih supstanci (Koprivica i sar., 2014; Šarić i sar., 2016).

Bez obzira na vrstu i udeo dodataka, trend statistički značajnog smanjenja u odnosu na kontrolni uzorak, uočen je i za vrednost parametra a^* , koji ukazuje na udeo crvene boje u uzorcima keksa.

Tabela 16. Rezultati instrumentalnog određivanja boje keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša

R. br.	L* (svetloća)	a* (udeo crveno/zeleno)	b* (udeo žuto/plava)	C (razlika u obojenosti)	h (razlika u tonovima)
1	67,43 ± 0,54 ^a	7,68 ± 0,61 ^a	24,96 ± 0,31 ^a	25,09 ± 0,09 ^a	44,65 ± 2,49 ^a
2	66,64 ± 0,19 ^{ab}	1,91 ± 0,54 ^d	26,37 ± 0,20 ^{b-d}	25,97 ± 0,28 ^{a-d}	58,10 ± 1,89 ^{bc}
3	64,84 ± 0,35 ^{cd}	-0,64 ± 0,13 ^{f-i}	28,05 ± 0,09 ^{f-h}	27,80 ± 0,31 ^{fg}	73,02 ± 2,00 ^{gh}
4	65,48 ± 0,37 ^{bc}	5,73 ± 0,50 ^b	25,49 ± 0,22 ^{ab}	25,39 ± 0,24 ^{ab}	48,10 ± 0,99 ^a
5	65,56 ± 0,29 ^{bc}	1,01 ± 0,20 ^{de}	26,91 ± 0,33 ^{c-e}	26,37 ± 0,08 ^{c-d}	60,68 ± 1,79 ^{b-d}
6	63,85 ± 0,41 ^{de}	-1,09 ± 0,09 ^{h-j}	28,94 ± 0,41 ^{h-i}	28,04 ± 0,37 ^{gh}	77,63 ± 1,53 ^{h-j}
7	64,64 ± 0,31 ^{cd}	3,98 ± 0,42 ^c	25,99 ± 0,11 ^{a-c}	26,12 ± 0,44 ^{b-e}	56,94 ± 2,08 ^b
8	63,76 ± 0,81 ^{de}	0,50 ± 0,04 ^{ef}	27,09 ± 0,41 ^{d-f}	27,03 ± 0,21 ^{ef}	66,76 ± 2,11 ^{ef}
9	62,24 ± 0,11 ^{fg}	-1,90 ± 0,34 ^{jk}	29,24 ± 0,39 ^{ij}	29,24 ± 0,18 ^{ij}	80,74 ± 1,79 ^{i-k}
10	67,43 ± 0,54 ^a	7,68 ± 0,61 ^a	24,96 ± 0,31 ^a	25,09 ± 0,09 ^a	44,65 ± 2,00 ^a
11	65,76 ± 0,21 ^{bc}	2,11 ± 0,33 ^d	26,03 ± 0,07 ^{bc}	25,56 ± 0,08 ^{a-c}	57,96 ± 1,43 ^{bc}
12	63,02 ± 0,12 ^{ef}	0,17 ± 0,08 ^{e-g}	27,74 ± 0,51 ^{e-g}	27,90 ± 0,51 ^{fg}	70,24 ± 2,41 ^{fg}
13	65,48 ± 0,37 ^{bc}	5,73 ± 0,50 ^b	25,49 ± 0,22 ^{ab}	25,39 ± 0,24 ^{ab}	48,10 ± 1,89 ^a
14	62,3 ± 0,31 ^{fg}	1,81 ± 0,21 ^d	27,00 ± 0,10 ^{c-e}	26,26 ± 0,08 ^{b-e}	59,84 ± 1,43 ^{bc}
15	61,71 ± 0,71 ^{f-h}	-0,83 ± 0,18 ^{g-j}	28,09 ± 0,17 ^{f-h}	27,78 ± 0,47 ^{fg}	78,99 ± 2,42 ^{ij}
16	64,64 ± 0,74 ^{cd}	3,98 ± 0,42 ^c	25,99 ± 0,11 ^{a-c}	26,12 ± 0,44 ^{b-e}	56,94 ± 2,02 ^b
17	62,09 ± 0,34 ^{fg}	1,00 ± 0,20 ^{de}	27,57 ± 0,28 ^{e-g}	26,57 ± 0,09 ^{de}	65,79 ± 1,49 ^{d-f}
18	61,34 ± 0,20 ^{g-i}	-1,71 ± 0,41 ^{i-k}	28,48 ± 0,30 ^{g-i}	28,52 ± 0,19 ^{g-i}	81,54 ± 2,17 ^{jk}
19	67,43 ± 0,54 ^a	7,68 ± 0,61 ^a	24,96 ± 0,31 ^a	25,09 ± 0,09 ^a	44,65 ± 1,89 ^a
20	64,48 ± 0,21 ^{cd}	0,98 ± 0,50 ^{de}	27,26 ± 0,52 ^{d-f}	26,07 ± 0,11 ^{b-d}	60,76 ± 0,84 ^{b-d}
21	62,51 ± 0,30 ^{e-g}	-1,76 ± 0,27 ^{i-k}	28,46 ± 0,30 ^{g-i}	28,31 ± 0,32 ^{gh}	75,68 ± 1,04 ^{h-j}
22	65,48 ± 0,37 ^{bc}	5,73 ± 0,50 ^b	25,49 ± 0,22 ^{ab}	25,39 ± 0,24 ^{ab}	48,10 ± 0,99 ^a
23	63,85 ± 0,48 ^{de}	0,05 ± 0,02 ^{e-h}	27,81 ± 0,27 ^{e-g}	26,83 ± 0,41 ^{de}	62,71 ± 1,19 ^{c-e}
24	60,59 ± 0,51 ^{hi}	-2,39 ± 0,11 ^k	28,89 ± 0,38 ^{hi}	28,93 ± 0,29 ^{gh}	80,78 ± 1,75 ^{i-k}
25	64,64 ± 0,31 ^{cd}	3,98 ± 0,42 ^c	25,99 ± 0,11 ^{a-c}	26,12 ± 0,44 ^{b-e}	56,94 ± 1,70 ^b
26	62,53 ± 0,71 ^{e-g}	-0,53 ± 0,09 ^{f-i}	28,06 ± 0,41 ^{f-h}	28,09 ± 0,27 ^{gh}	85,57 ± 1,81 ^{kl}
27	60,04 ± 0,39 ⁱ	-4,00 ± 0,77 ^l	29,95 ± 0,71 ^j	30,00 ± 0,30 ⁱ	88,22 ± 0,39 ^l

^{a-l} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa), uzorci 1,10,19; 4,13,22; 7,16,25 su ponovljeni radi lakšeg praćenja promena u okviru variranih parametara

Iako se u poređenju sa dodacima listova sremuša niže doze origana dodaju u sirovinski sastav keksa, dodatak origana od 1% (uzorak 7), je svojim zelenim tonovima doprineo sniženju vrednosti parametra a* za 51,82%. Dodatak listova sremuša u maksimalnoj količini (2,5%), kako svežeg tako i osmotski dehidrisanog u oba rastvora, ukazuje na preovladavanje zelene boje naspram crvene, i vrednosti imaju negativan predznak. Povećanje udela zelene boje najviše je izraženo je u keksu sa 2,5% dodatog osmotski dehidrisanih listova sremuša u rastvoru saharoze i soli i 1% origana (uzorak 18), gde vrednost parametra a* iznosi -1,71.

Dodatak origana nije statistički značajno menjao udeo žute boje u keksu, dok je dodatak listova sremuša uticao na povećanje vrednosti parametra b*. Učešće žutog tona je veće u uzorcima keksa sa višim udelom dodataka. Uzorci sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša su pokazali nešto veći uticaj na povećanje parametra b*, u odnosu na uzorke sa svežim listovima sremuša.

Vrednosti parametara C i h su se statistički značajno povećavale u odnosu na kontrolni uzorak, pri čemu je povećanje pratilo rast udela odgovarajućih dodataka u sirovinski sastav. Ovakav rezultat je i očekivan, s obzirom da je u kontrolnom uzorku (bez dodataka) najmanja razlika u tonovima i obojenosti, dok se dodatkom sremuša i origana uniformnost boje keksa narušava.

ANOVA analiza (tabela 17) je potvrdila uticajnostobe nezavisne promenljive (količine svežih ili osmotski dehidrisanih listova sremuša i origana) na odabrane odzive instrumentalne analize boje (L*, a*, b*, C, h). Linearni članovi količine sremuša i origana pokazali su se kao statistički značajni za formiranje SOP modela za sva četiri odziva boje u sve tri ispitivane vrste keksa, s tim što se u svim slučajevima količina sremuša pokazala kao najuticajniji faktor. Kvadratni član polinoma za količinu sremuša pokazao se značajan za izračunavanje parametra a* i C u keksu sa svežim sremušem, za C parametar u keksu sa sremušem dehidrisanim u R1 i za a* parametar u keksu osmotski dehidrisanom u melasi. Međuproizvod količine origana i sremuša je statistički značajan samo za matematičko modelovanje parametra a* u slučaju kada se keksu dodaje svež sremuš. Odsustvo statističke značajnosti ostataka varijanse u SOP modelima za sve odzive instrumentalne analize boje u svim uzorcima, potvrdilo je njihovu adekvatnost, a visoke vrednosti R² (u opsegu od 0,98 do 0,99) dobro poklapanje predloženih modela sa eksperimentalnim podacima.

Tabela 17. Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela pet odziva instrumentalno određene boje tri vrste keksa

Tehnološki parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata				
			L (svetloća)	a (udeo crveno/zeleno)	b (udeo žuto/plavo)	C (razlika u obojenosti)	h (razlika u tonovima)
Keks sa svežim listovima sremuša							
Količina sremuša	Linearni	1	34,60802*	73,64007*	15,97402*	11,98507*	1112,482*
	Kvadratni	1	0,05894	2,66036*	0,20694	0,48020*	5,556
Količina origana	Linearni	1	8,66402*	6,76282*	1,44060*	2,07682*	136,995*
	Kvadratni	1	0,17801	0,00294	0,05336	0,15125	3,034
Proizvod	Sremuš x origano	1	0,02560	1,48840*	0,00640	0,04202	5,221
Greška	Ostatak varijanse	3	0,57364	0,43231	0,07711	0,05464	4,828
	Ukupan zbir kvadrata	8	44,10822	84,98689	17,75842	14,79000	1268,115
R ²			0,98699	0,99491	0,99566	0,99631	0,99619
Keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u R1							
Količina sremuša	Linearni	1	21,96507*	65,07627*	10,32282*	9,62667*	1095,661*
	Kvadratni	1	0,61236	1,49069	0,01125	0,89780*	9,798
Količina Origana	Linearni	1	11,04327*	7,45935*	1,82602*	1,17927*	164,536*
	Kvadratni	1	1,56056	0,00201	0,00845	0,04500	0,590
Proizvod	Sremuš x origano	1	0,30803	0,82810	0,02102	0,04202	0,245
Greška	Ostatak varijanse	3	1,23889	0,99121	0,16164	0,14584	18,659
	Ukupan zbir kvadrata	8	36,72816	75,84762	12,35120	11,93660	1289,490
R ²			0,96627	0,98693	0,98691	0,98778	0,98553
Keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u R2							
Količina sremuša	Linearni	1	7,30407*	108,7153*	19,65660*	18,86827*	1503,8509
	Kvadratni	1	0,65742	3,7721*	0,35280	0,19220	31,231
Količina origana	Linearni	1	11,39882*	9,2504*	1,83707*	3,74460*	410,6889
	Kvadratni	1	0,00294	0,0103	0,00500	0,10580	45,569
Proizvod	Sremuš x origano	1	0,00902	0,5329	0,05290	0,10890	0,016
Greška	Ostatak varijanse	3	0,36429	0,8874	0,14683	0,14563	84,269

	Ukupan zbir kvadrata	8	19,73656	123,1684	22,05120	23,16540	2075,623
R ²			0,98154	0,9928	0,99334	0,99371	0,9594

+ Broj stepeni slobode, * Statistički značajno na nivou $p < 0,05$, R1- Vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2-Melasa šećerne repe

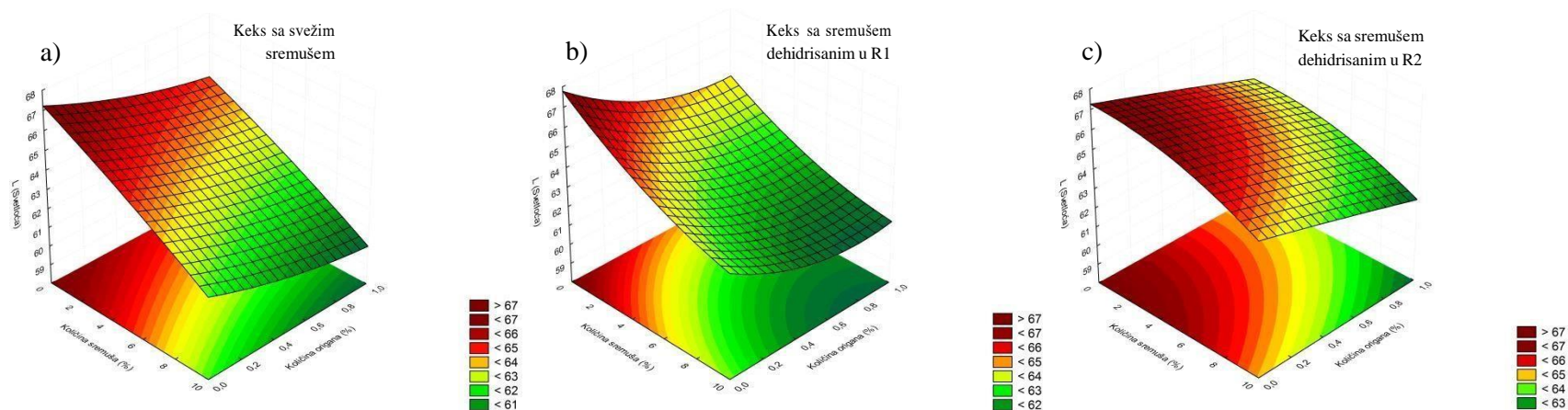
Regresioni koeficijenti za modele svih pet posmatranih odziva, kao i njihova statistička značajnostna nivou $p < 0,05$, predstavljeni su u tabeli 18.

Tabela 18. Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za pet modela odziva instrumentalne analize boje keksa sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša

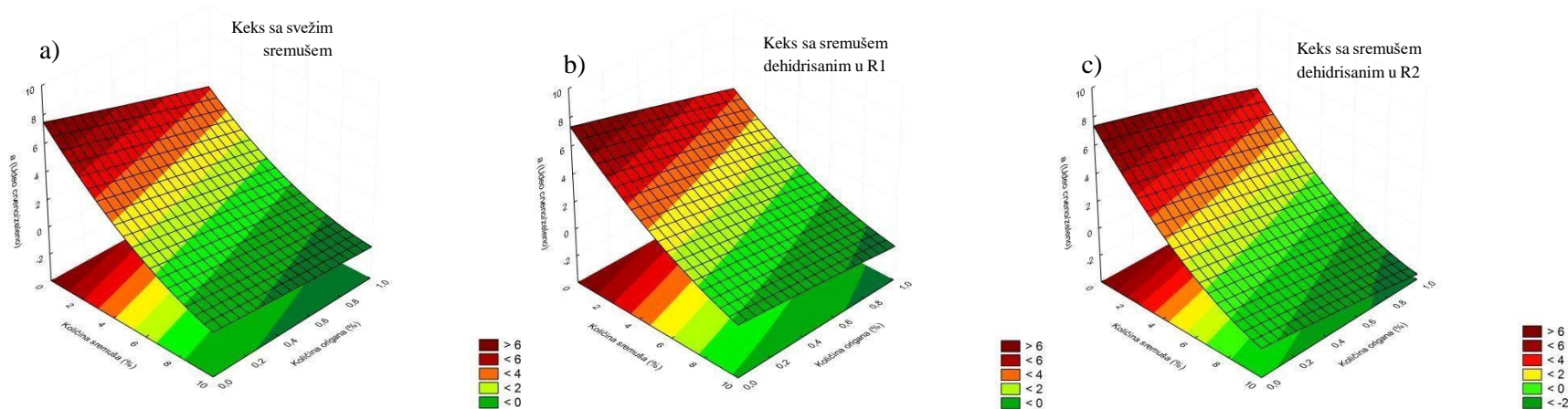
	Y1 (L)	Y2 (a)	Y3(b)	Y4(C)	Y5 (h)
Keks sa svežim listovima sremuša					
β_0	67,23111*	7,48111*	24,97556*	25,13917*	44,38639*
β_1	-0,42767	-1,28400*	0,18967*	0,06617	2,28517*
β_{11}	-0,00687	0,04613*	0,01287	0,01960*	0,06667
β_2	-3,75667	-3,49667	1,55333	-0,12833	6,91500
β_{22}	1,19333	0,15333	-0,65333	1,10000	4,92667
β_{12}	0,03200	0,24400*	0,01600	0,04100	-0,45700
Keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u R1					
β_0	67,77861*	7,35611*	24,83417*	25,03750*	44,59361*
β_1	-0,65950*	-1,09500*	0,30683*	0,00583	1,86683
β_{11}	0,02213	0,03453	-0,00300	0,02680*	0,08853
β_2	-6,80167*	-3,01333	1,50833	0,49167	8,79500
β_{22}	3,53333	-0,12667	-0,26000	0,60000	2,17333
β_{12}	0,11100	0,18200	-0,02900	-0,04100	-0,09900
Keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u R2					
β_0	67,26306*	7,37944*	25,05833*	24,98500*	43,27694*
β_1	-0,00083	-1,47367*	0,50700*	0,19767	4,73450
β_{11}	-0,02293	0,05493*	-0,01680	0,01240	-0,15807
β_2	-2,69833	-2,92667	0,67667	0,33000	-2,67167
β_{22}	-0,15333	-0,28667	0,20000	0,92000	19,09333
β_{12}	0,01900	0,14600	0,04600	0,06600	0,02500

* Statistički značajno na nivou $p < 0,05$, R1- Vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2-Melasa šećerne repe

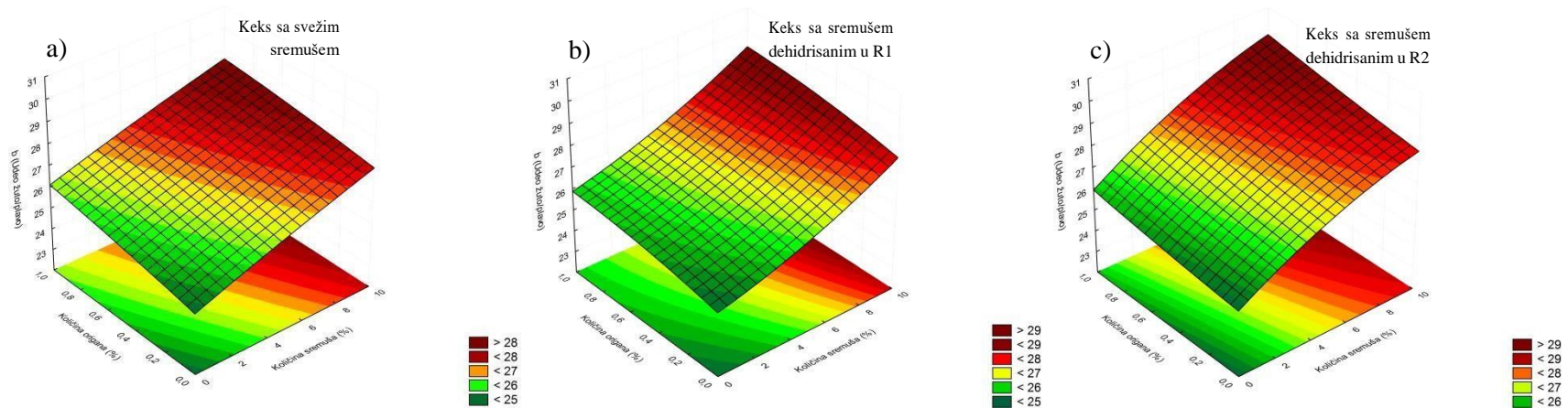
Na slikama 14 i 15, a-c, može se uočiti da sa povećanjem udela sremuša i origana dolazi do smanjenja parametra svetloće i udela crvene boje u keksu.



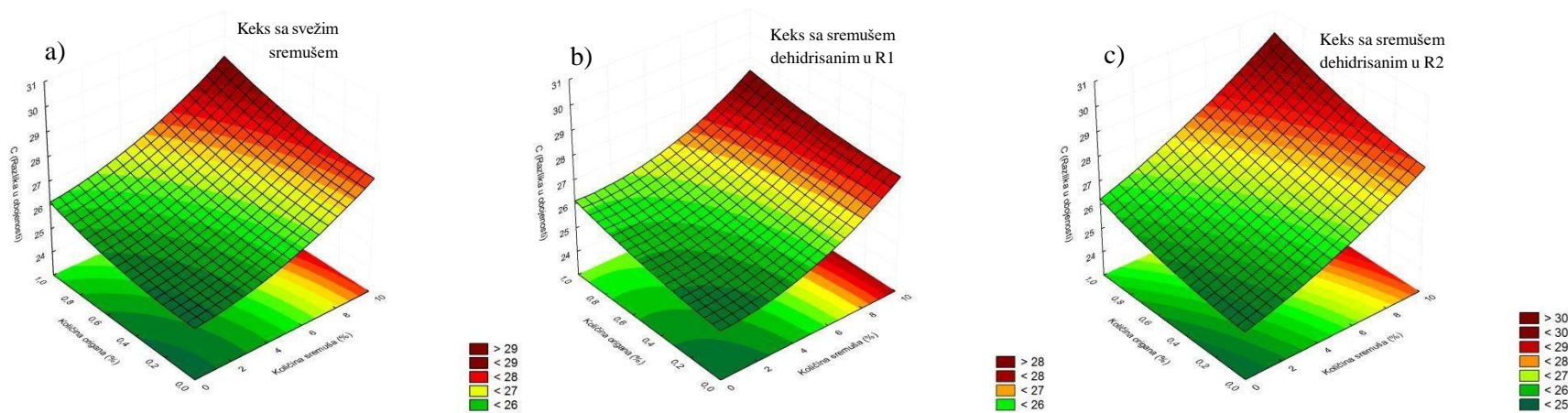
Slika 16. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva L* instrumentalne analize boje keksa: a-c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



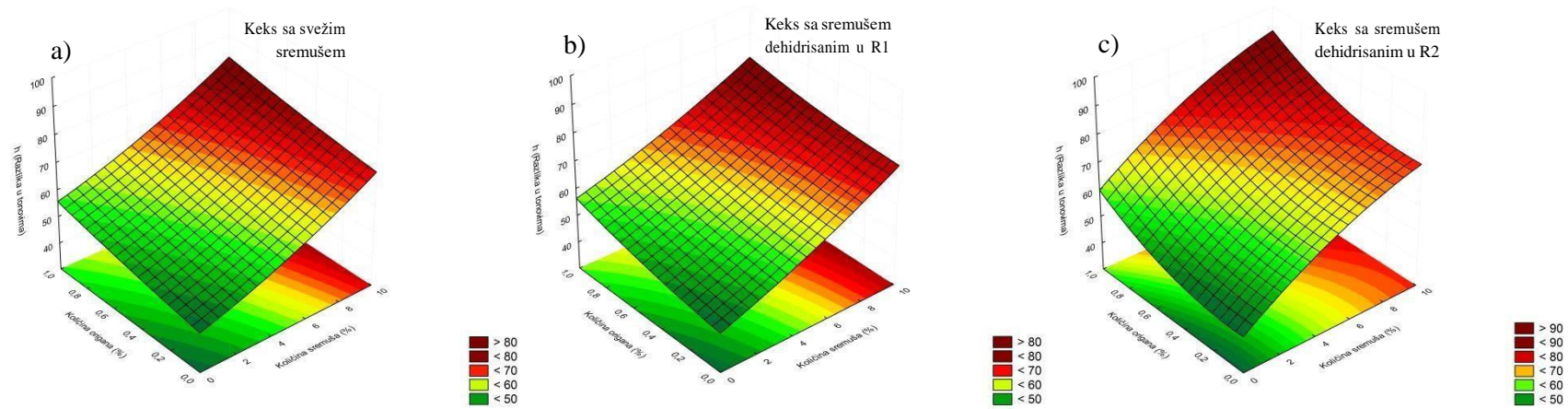
Slika 17. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva a* instrumentalne analize boje keksa: a-c) sa svežim i osmotski dehidriranim listovima sremuša u R1 i R2



Slika 18. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva b^* instrumentalne analize boje keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



Slika 19. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva C instrumentalne analize boje keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



Slika 20. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva h instrumentalne analize boje keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2

Opadanje vrednosti parametra a^* je pokazalo ujednačen trend ponašanja u zavisnosti od količine dodatka, bez obzira da li je u pitanju keks sa svežim ili osmotski dehidrisanim listovima sremuša, a takođe se kvantifikuje izraženiji uticaj količine sremuša u poređenju sa količinom origana, na sva tri dijagrama. Variranje dodate količine sremuša i origana, podjednako je uticalo na smanjivanje parametra L^* u keksu sa dodatim listovima sremuša dehidriranim u melasi, pri čemu su najniže vrednosti primetne pri najvišim udelima dodataka. Slike 16, 17 i 18 a-c, grafički ilustruju zavisnost promene parametara b^* , C i h od količine i vrste dodataka u keksu. Uočava se suprotan trendu odnosu na slike 14 i 15 a-c, ravnomerno povećanje parametara b^* , C i h , sa postepenim povećanjem količine dodataka. Na svim dijagramima je veći porast posmatranog parametra uočen variranjem količine sremuša, nego povećavanjem količine origana.

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na promenu hemijskog sastava keksa

U tabeli 19 su prikazani rezultati analize hemijskog sastava za sve uzorke slanog keksa.

Tabela 19. Rezultati određivanja hemijskog sastava keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša

R. br.	Proteini (% s.m.)	Skrob (% s.m.)	Ukupni šećeri (% s.m.)	Celuloza (% s.m.)	Masti (% s.m.)	Pepeo (% s.m.)
1	11,24 ± 0,84 ^a	47,33 ± 1,81 ^a	2,18 ± 0,11 ^a	1,83 ± 0,10 ^a	23,05 ± 1,50 ^a	1,39 ± 0,14 ^a
2	11,35 ± 0,71 ^a	47,11 ± 1,47 ^a	2,17 ± 0,14 ^a	1,98 ± 0,12 ^{ab}	22,94 ± 1,34 ^a	1,43 ± 0,09 ^a
3	11,45 ± 0,81 ^a	46,89 ± 1,90 ^a	2,16 ± 0,09 ^a	2,12 ± 0,09 ^{a-c}	22,83 ± 1,71 ^a	1,46 ± 0,11 ^a
4	11,16 ± 0,76 ^a	47,01 ± 1,45 ^a	2,16 ± 0,07 ^a	2,49 ± 0,19 ^{b-d}	22,89 ± 1,41 ^a	1,38 ± 0,10 ^a
5	11,27 ± 0,61 ^a	46,80 ± 1,26 ^a	2,15 ± 0,06 ^a	2,63 ± 0,10 ^{c-e}	22,79 ± 0,96 ^a	1,42 ± 0,16 ^a
6	11,38 ± 0,59 ^a	46,58 ± 1,51 ^a	2,14 ± 0,08 ^a	2,77 ± 0,11 ^{d-f}	22,68 ± 1,15 ^a	1,45 ± 0,11 ^a
7	11,09 ± 0,69 ^a	46,70 ± 1,77 ^a	2,15 ± 0,16 ^a	3,14 ± 0,16 ^{e-g}	22,74 ± 1,20 ^a	1,37 ± 0,09 ^a
8	11,20 ± 0,78 ^a	46,49 ± 1,69 ^a	2,14 ± 0,09 ^a	3,27 ± 0,29 ^{fg}	22,64 ± 1,69 ^a	1,41 ± 0,08 ^a
9	11,30 ± 0,59 ^a	46,27 ± 1,50 ^a	2,13 ± 0,08 ^a	3,41 ± 0,18 ^g	22,53 ± 1,48 ^a	1,45 ± 0,09 ^a
10	11,24 ± 0,84 ^a	47,33 ± 1,81 ^a	2,18 ± 0,11 ^a	1,83 ± 0,10 ^a	23,05 ± 1,50 ^a	1,39 ± 0,14 ^a
11	11,27 ± 0,65 ^a	47,11 ± 1,75 ^a	2,22 ± 0,14 ^a	1,90 ± 0,14 ^a	22,94 ± 1,84 ^a	1,51 ± 0,10 ^a
12	11,30 ± 0,55 ^a	46,89 ± 1,65 ^a	2,25 ± 0,15 ^a	1,97 ± 0,11 ^a	22,83 ± 1,69 ^a	1,63 ± 0,15 ^a
13	11,16 ± 0,76 ^a	47,01 ± 1,45 ^a	2,16 ± 0,07 ^a	2,49 ± 0,19 ^{b-d}	22,89 ± 1,41 ^a	1,38 ± 0,10 ^a
14	11,19 ± 0,59 ^a	46,80 ± 1,16 ^a	2,20 ± 0,06 ^a	2,56 ± 0,20 ^{cd}	22,79 ± 1,56 ^a	1,50 ± 0,06 ^a
15	11,23 ± 0,49 ^a	46,58 ± 0,99 ^a	2,24 ± 0,08 ^a	2,62 ± 0,09 ^{cd}	22,68 ± 1,59 ^a	1,62 ± 0,09 ^a
16	11,09 ± 0,69 ^a	46,70 ± 1,77 ^a	2,15 ± 0,16 ^a	3,14 ± 0,16 ^{e-g}	22,74 ± 1,20 ^a	1,37 ± 0,09 ^a
17	11,12 ± 0,50 ^a	46,49 ± 1,49 ^a	2,19 ± 0,09 ^a	3,20 ± 0,19 ^{fg}	22,64 ± 1,39 ^a	1,49 ± 0,10 ^a
18	11,15 ± 0,40 ^a	46,27 ± 1,50 ^a	2,22 ± 0,08 ^a	3,27 ± 0,10 ^{fg}	22,53 ± 1,52 ^a	1,61 ± 0,12 ^a
19	11,24 ± 0,84 ^a	47,33 ± 1,81 ^a	2,18 ± 0,11 ^a	1,83 ± 0,10 ^a	23,05 ± 1,50 ^a	1,39 ± 0,14 ^a
20	11,30 ± 0,79 ^a	47,11 ± 2,04 ^a	2,21 ± 0,12 ^a	1,93 ± 0,14 ^a	22,94 ± 0,98 ^a	1,42 ± 0,09 ^a
21	11,36 ± 0,99 ^a	46,89 ± 2,79 ^a	2,25 ± 0,09 ^a	2,02 ± 0,19 ^{ab}	22,83 ± 1,39 ^a	1,47 ± 0,10 ^a
22	11,16 ± 0,76 ^a	47,01 ± 1,45 ^a	2,16 ± 0,07 ^a	2,49 ± 0,19 ^{b-d}	22,89 ± 1,41 ^a	1,38 ± 0,10 ^a
23	11,23 ± 0,59 ^a	46,80 ± 2,06 ^a	2,20 ± 0,16 ^a	2,58 ± 0,09 ^{cd}	22,79 ± 1,76 ^a	1,42 ± 0,11 ^a
24	11,29 ± 0,62 ^a	46,58 ± 2,59 ^a	2,24 ± 0,19 ^a	2,67 ± 0,18 ^{de}	22,68 ± 1,59 ^a	1,46 ± 0,05 ^a
25	11,09 ± 0,69 ^a	46,70 ± 1,77 ^a	2,15 ± 0,16 ^a	3,14 ± 0,16 ^{e-g}	22,74 ± 1,20 ^a	1,37 ± 0,09 ^a
26	11,15 ± 0,99 ^a	46,49 ± 1,87 ^a	2,19 ± 0,19 ^a	3,23 ± 0,27 ^{fg}	22,64 ± 1,64 ^a	1,41 ± 0,02 ^a
27	11,22 ± 0,87 ^a	46,27 ± 1,94 ^a	2,22 ± 0,10 ^a	3,32 ± 0,19 ^g	22,53 ± 1,49 ^a	1,45 ± 0,06 ^a

^{a-l} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa), uzorci 1,10,19; 4,13,22; 7,16,25 su ponovljeni radi lakšeg praćenja promena u okviru variranih parametara

Uočava se da se ukupan sadržaj proteina u ispitivanim uzorcima keksa nije statistički značajno menjao. Sa dodacima listova sremuša se povećao sadržaj proteina u odnosu na kontrolni keks, ali neznatno, pa je teško definisati trend variranja. Može se zaključiti da je sremuš (svež i osmotski dehidrisan) bogat proteinima, obzirom da njegov dodatak nije doveo do pada sadržaja proteina u poređenju sa slanim keksom bez sremuša. Keks sa dodatim listovima sremuša dehidrisanim u melasi pokazao je nešto niži ukupni sadržaj proteina u poređenju sa keksom u čiju recepturu su dodati sremuš dehidrisan u vodenom rastvoru soli i saharoze i svež sremuš. Objašnjenje je moguće pronaći u postavci eksperimentalnog plana, s obzirom da su količine dodatog svežeg i osmotski dehidrisanog sremuša definisane u procentima suve materije, kako bi rezultati bili uporedivi. U poređenju sa svežim sremušem ili osmotski dehidrisanim u R1 (gde je priraštaj suvematerije manji), ista količina suve materije sremuša osmotski dehidrisanog u melasi ima niži sadržaj proteina, jer njen veći deo čine neproteinske komponente iz melase.

Ukupan sadržaj skroba i masti u slanom keksu se smanjuje dodatkom svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša i origana, zbog uključivanja sirovina koje ne sadrže ove hemijske komponente u osnovnu formulu keksa. Smanjenje se povećava sa povećanjem količine dodataka koji zamenjuju ekvivalentnu količinu brašna, ali ne statistički značajno.

Ukupni sadržaj šećera se smanjuje sa dodatkom svežeg origana i listova sremuša, s obzirom da ove sirovine ne sadrže ukupne šećere u svom sastavu. Sa druge strane, dodatak osmotski dehidrisanih listova sremuša u šećerno-slanom rastvoru i melasi dovodi do povećanja sadržaja ukupnih šećera u keksu, iako se i u slučaju smanjenja i povećanja sadržaja uzorci nisu statistički značajno razlikovali. Oba osmotska rastvora u svom sastavu imaju visoku koncentraciju šećera, i putem masenog transfera tokom osmotske dehidracije, doprinela su povećanju ukupnih šećernih komponenti u sremušu, a samim tim i u keksu u koji se dehidrisani sremuš dodaje. Najveći sadržaj ukupnog šećera postignut je u uzorcima 12 i 21, sa dodatkom maksimalne količine osmotski dehidrisanog sremuša u oba rastvora (2,5%), bez dodatka origana.

Sadržaj celuloze u keksu je statistički značajno povećan sa dodatkom svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša u oba osmotska rastvora i dodatkom origana, pri čemu je dodati origano više doprineo povećanju celuloze, zbog svog hemijskog sastava (Popović i sar., 2010; Coccimiglio i sar., 2016). Sadržaj celuloze u keksu sa osmotski dehidrisanim sremušem u vodenom rastvoru šećera i soli i melasi je niži u poređenju sa keksom sa dodatim svežim sremušem, iako ne statistički značajno. Ovaj rezultat se može objasniti činjenicom da deo suve materije u osmotski dehidrisanim listovima sremuša potiče iz osmotskih rastvora koji ne sadrže celulozu.

Ukupan pepeo u uzorcima keksa se povećao sa dodatkom svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša, a smanjio sa dodatkom origana, u oba slučaja bez statistički značajnih razlika u vrednostima. Sremuš osmotski dehidrisan u melasi je doprineo povećanju ukupnog procenta pepela u keksu, upravo iz razloga što se u sirovinski sastav keksa preko prirasta suve materije ovako dehidrisanog sremuša uvodi i melasa, bogatog mineralnog sastava. Najveći porast ukupnog pepela zabeležen je u uzorku 18 sa dodatkom listova sremuša dehidrisanim u rastvoru šećera i soli (2,5%) i origana (1%), najverovatnije kao posledica veće količine minerala Na koji potiče iz kuhinjske soli, a koji je tokom osmotskog procesa difundovao u sremuš i doprineo priraštaju suve materije u njemu.

ANOVA test je pokazao da su na vrednosti svih odziva hemijskog sastava (proteini, skrob, ukupni šećeri, celuloza, masti, ukupni pepeo) statistički značajno uticale obe nezavisne promenljive, u slučaju dodataka kako svežeg tako i osmotski dehidrisanog sremuša (tabela 20). Svi linerani članovi SOP-a za količinu sremuša i origana su statistički značajno doprineli formiranju modela za svih šest odziva hemijskog sastava, u slučaju sve tri vrste keksa sa sremušem. Izuzetak je uočen kod keksa sa svežim sremušem, gde nijedan član nezavisno promenljivih (količine sremuša i origana) nije uticao na razvijanje modela za predikciju ukupnog šećera, a kod keksa sa osmotski dehidrisanim sremušem u vodenom rastvoru šećera i soli na predikciju ukupnog pepela.

Ostaci varijansi nisu pokazali statističku značajnost, a vrednosti koeficijenata determinacije, za sve ispitivane odzive hemijskog sastava veće od 0,99 verifikuju dobro poklapanje svih razvijenih SOP modela sa eksperimentalnim rezultatima.

Tabela 20. Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela šest odziva hemijskog sastava tri vrste keksa

Tehnološki parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata					
			Proteini (% s.m.)	Skrob (% s.m.)	Ukupni šećeri (% s.m.)	Celuloza (% s.m.)	Masti (% s.m.)	Pepeo (% s.m.)
Keks sa svežim listovima sremuša								
Količina sremuša	Linearni	1	0,068267*	0,281667*	0,000600	0,117600*	0,068267*	0,008067*
	Kvadratni	1	0,000022	0,000022	0,000000	0,000000	0,000022	0,000022
Količina origana	Linearni	1	0,033750*	0,582817*	0,001350	2,522017*	0,138017*	0,000417*
	Kvadratni	1	0,000006	0,000006	0,000050	0,000050	0,000006	0,000006
Proizvod	Sremuš x origano	1	0,000000	0,000025	0,000000	0,000100	0,000025	0,000025
Greška	Ostatak varijanse	3	0,000044	0,000019	0,000000	0,000033	0,000019	0,000019
	Ukupan zbir kvadrata	8	0,102089	0,864556	0,002000	2,639800	0,206356	0,008556
R ²			0,99956	0,99998	1	0,99999	0,99991	0,99773
Keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u R1								
Količina sremuša	Linearni	1	0,006017*	0,281667*	0,008067*	0,026667*	0,068267*	0,086400
	Kvadratni	1	0,000006	0,000022	0,000022	0,000000	0,000022	0,000000
Količina origana	Linearni	1	0,033750*	0,582817*	0,001350*	2,548017*	0,138017*	0,000600
	Kvadratni	1	0,000006	0,000006	0,000006	0,000050	0,000006	0,000000
Proizvod	Sremuš x origano	1	0,000000	0,000025	0,000000	0,000025	0,000025	0,000000
Greška	Ostatak varijanse	3	0,000044	0,000019	0,000044	0,000042	0,000019	0,000000
	Ukupan zbir kvadrata	8	0,039822	0,864556	0,009489	2,574800	0,206356	0,087000
R ²			0,99888	0,99998	0,99532	0,99998	0,99991	1
Keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u R2								
Količina sremuša	Linearni	1	0,024067*	0,281667*	0,008067*	0,050417*	0,068267*	0,009600*
	Kvadratni	1	0,000000	0,000022	0,000000	0,000006	0,000022	0,000022
Količina origana	Linearni	1	0,032267*	0,582817*	0,001067*	2,548017*	0,138017*	0,000417*
	Kvadratni	1	0,000000	0,000006	0,000000	0,000006	0,000006	0,000006
Proizvod	Sremuš x origano	1	0,000025	0,000025	0,000000	0,000025	0,000025	0,000000
Greška	Ostatak varijanse	3	0,000042	0,000019	0,000067	0,000019	0,000019	0,000044
	Ukupan zbir kvadrata	8	0,056400	0,864556	0,009200	2,598489	0,206356	0,010089
R ²			0,99926	0,99998	0,99275	0,99999	0,99991	0,99559

⁺ Broj stepeni slobode, * Statistički značajno na nivou $p < 0,05$, R1- Vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2-Melasa šećerne repe

U tabeli 21 predstavljeni su regresioni koeficijenti potrebni za kalkulaciju SOP modela svih šest ispitivanih odziva hemijskog sastava.

Tabela 21. Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za šest modela odziva hemijskog sastava tri vrste keksa

	Y1 (Proteini)	Y2 (Skrob)	Y3 (Ukupni šećeri)	Y4 (Celuloza)	Y5 (Masti)	Y6 (Pepeo)
Keks sa svežim listovima sremuša						
β_0	11,23889*	47,32806*	2,180000	1,831667*	23,04806*	1,391389*
β_1	0,02267*	-0,04250*	-0,002000	0,029000*	-0,02050*	0,008167*
β_{11}	-0,00013	-0,00013	0,000000	0,000000	-0,00013	-0,000133
β_2	-0,15667*	-0,63500*	-0,050000	1,326667*	-0,31500*	-0,028333*
β_{22}	0,00667	0,00667	0,020000	-0,020000	0,00667	0,006667
β_{12}	0,00000	0,00100	-0,000000	-0,002000	0,00100	0,001000
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1						
β_0	11,23889*	47,32806*	2,178889*	1,830833*	23,04806*	1,390000
β_1	0,00567*	-0,04250*	0,008667*	0,013833*	-0,02050*	0,024000
β_{11}	0,00007	-0,00013	-0,000133	-0,000000	-0,00013	0,000000
β_2	-0,15667*	-0,63500*	-0,036667	1,328333*	-0,31500*	-0,020000
β_{22}	0,00667	0,00667	0,006667	-0,020000	0,00667	0,000000
β_{12}	-0,00000	0,00100	0,000000	-0,001000	0,00100	0,000000
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R2						
β_0	11,23917*	47,32806*	2,176667*	1,831944*	23,04806*	1,387778*
β_1	0,01217*	-0,04250*	0,007333*	0,019500*	-0,02050*	0,006667*
β_{11}	-0,00000	-0,00013	0,000000	-0,000067	-0,00013	0,000133
β_2	-0,15167*	-0,63500*	-0,026667	1,315000*	-0,31500*	-0,010000
β_{22}	-0,00000	0,00667	-0,000000	-0,006667	0,00667	-0,006667
β_{12}	0,00100	0,00100	0,000000	-0,001000	0,00100	0,000000

* Statistički značajno na nivou $p < 0,05$, R1 - Vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2 -Melasa šećerne repe

Na osnovu slike 19 na kojoj je predstavljen grafički prikaz jednačina odzivne površine sadržaja proteina keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim sremušem u R1 i R2 (a-c), uočava se daje došlo da porasta sadržaja proteina, pri čemu je prema nagibu krive najveći porast zapažen kod keksa sa svežim sremušem, gde variranje količine sremuša ima veći uticaj na porast proteina. Kod keksa sa osmotski dehidrisanim sremušem u vodenom rastvoru NaCl i saharoze, a posebno u melasiviše je izražen uticaj origana na porast vrednosti sadržaja proteina.

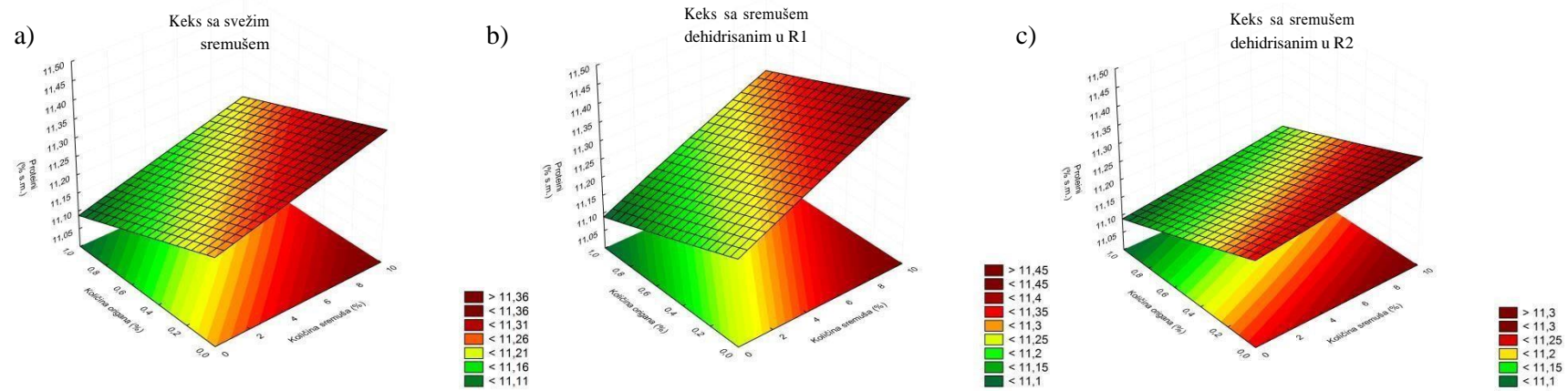
Slika 20 (a-c) prikazuje identične trendove ponašanja za sve tri vrste keksa, gde sadržaj skroba opada sa postepenim povećanjem obe nezavisno promenljive.

Dijagram a) na slici 21 pokazuje opadajući trend sadržaja šećera sa povećanjem doze dodataka u keksu sa svežim sremušem. Nasuprot tome b) i c) dijagrami potvrđuju rastući trend sadržaja šećera sa povećanjem udela dodataka, u obe vrste keksa sa osmotski dehidrisanim sremušem, pri čemu je variranje količine sremuša uticajnije na povećanje šećera.

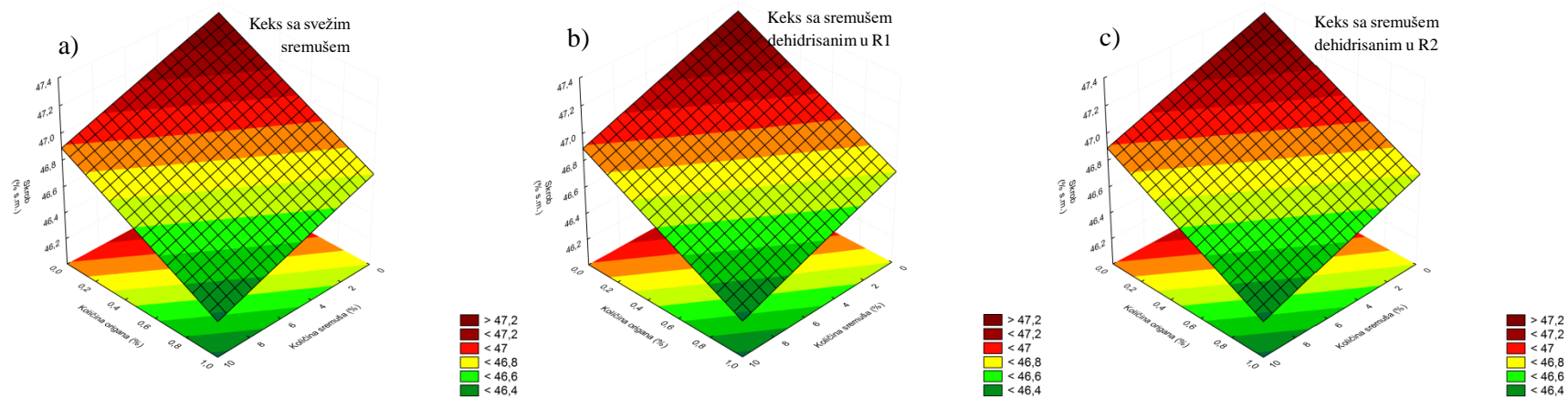
Na slici 22, sva tri dijagrama prikazuju da se povećanjem količine dodataka u sirovinski sastav keksa postižu više vrednosti ukupne celuloze, a takođe se uočava i veći uticaj količine origana na ispitivani odziv, za sve tri vrste keksa.

Na slici 23 a-c, zapažaju se po izgledu i nagibu slične odzivne površine kao i u slučaju skroba, opadanje sadržaja masti u skladu sa višim udelima dodataka.

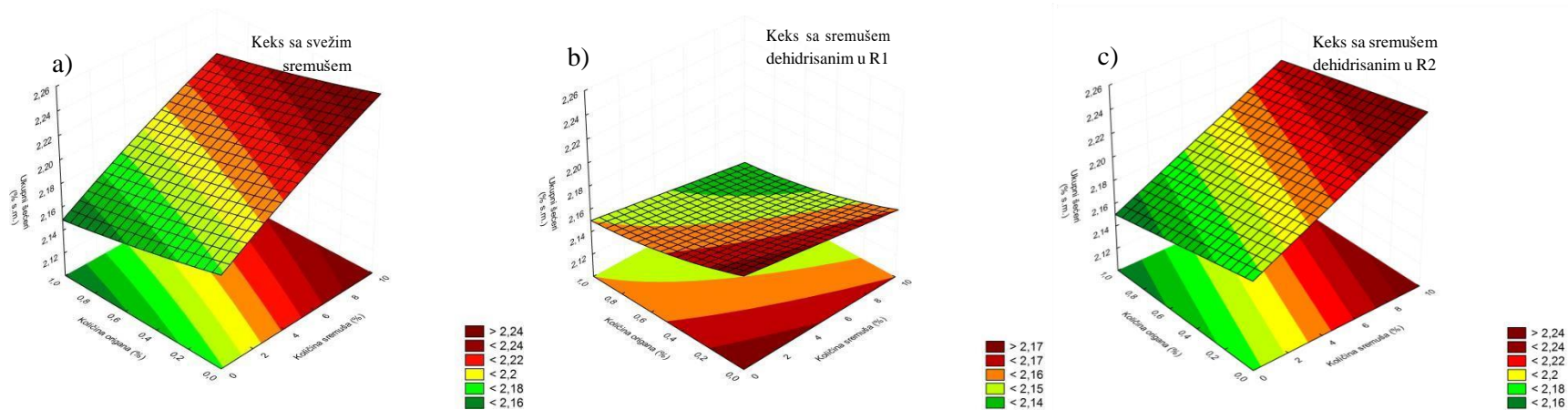
Sva tri dijagrama koji prikazuju zavisnost promene pepela u zavisnosti od promene dodatih količina sremuša i origana u tri ispitivane vrste keksa (slika 24), ukazuju na to da je povećanjem količine sremuša pri konstantnoj količini origana postignuta veća vrednost ukupnog pepela u datom uzorku keksa. Najizraženiji rastući trend pepela primećuje se kod keksa sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u vodenom rastvoru saharoze i soli.



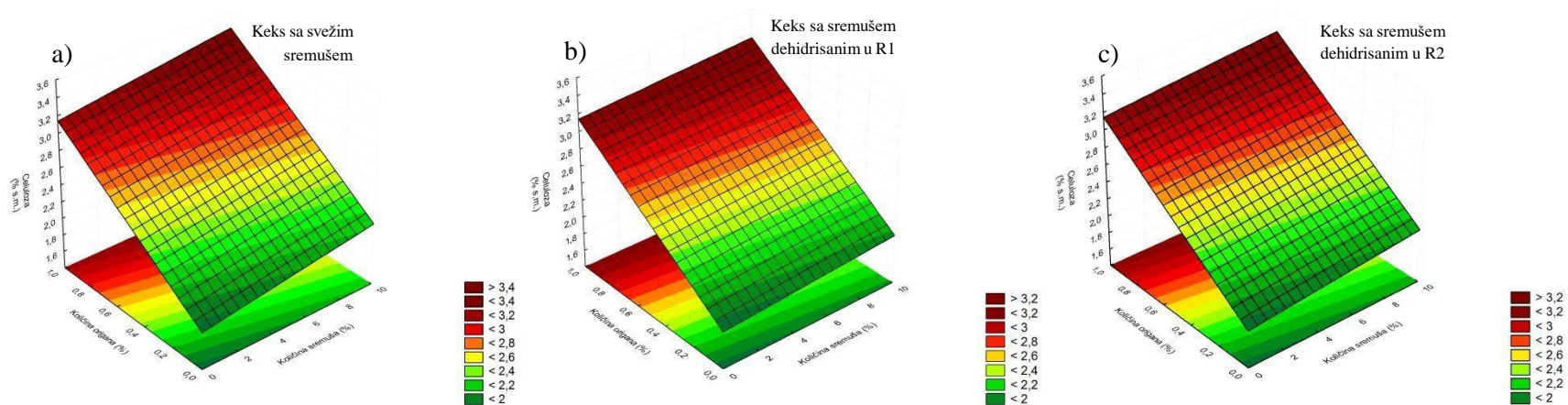
Slika 21. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva proteina hemijskog sastava keksa: a– c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



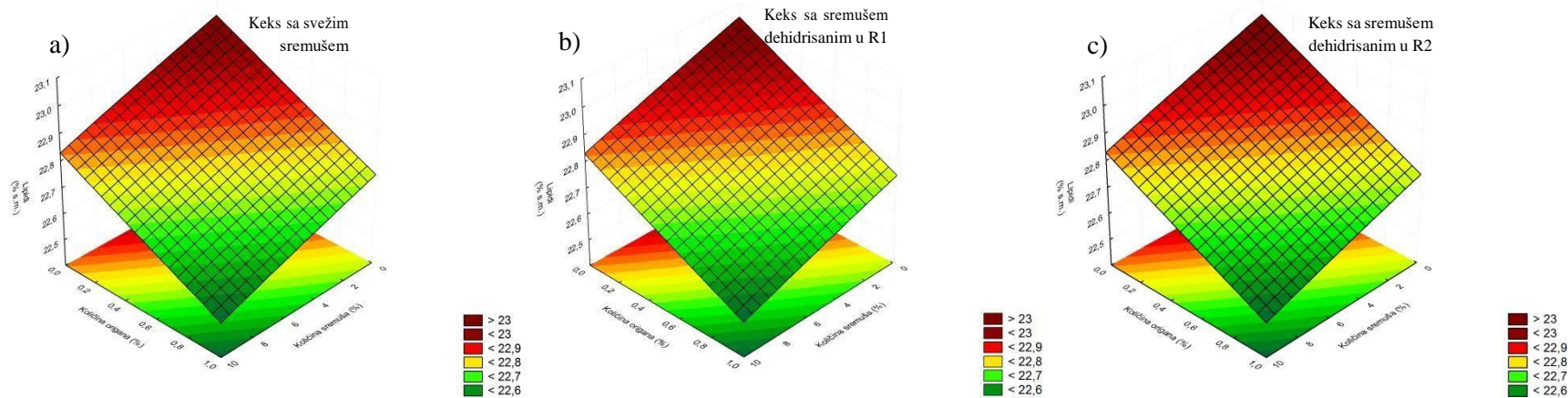
Slika 22. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva skroba hemijskog sastava keksa: a– c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



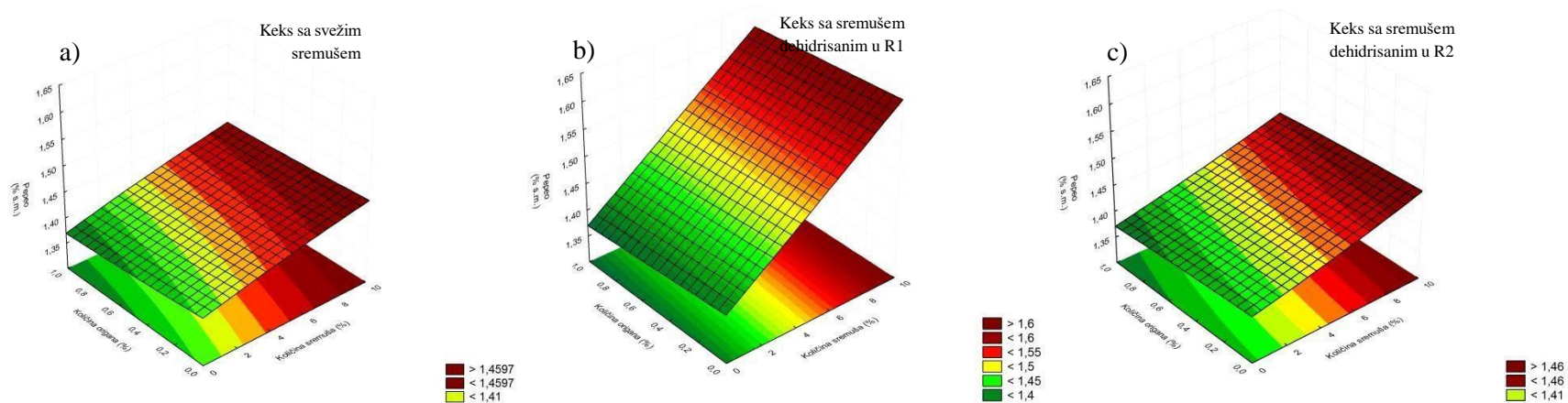
Slika 23. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva ukupnih šećera hemijskog sastava keksa: a– c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima srećuša u R1 i R2



Slika 24. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva celuloze hemijskog sastava keksa: a– c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima srećuša u R1 i R2



Slika 25. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva masti hemijskog sastava keksa: a– c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



Slika 26. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva pepela hemijskog sastava keksa: a– c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2

. Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na promenu mineralnog sastava keksa

U tabeli 22 su predstavljeni rezultati analize mineralnog sastava za sve ispitivane uzorke slanog keksa.

Tabela 22. Rezultati određivanja mineralnog sastava keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša

R. br.	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Fe (mg/kg)	K (mg/kg)
1	15,10 ± 0,25 ^a	2,53 ± 0,08 ^a	837,90 ± 17,70 ^a	1264,39 ± 16,99 ^a	61,93 ± 1,69 ^a	3000,02 ± 15,09 ^a
2	16,65 ± 0,35 ^{bc}	2,73 ± 0,07 ^{a-f}	880,19 ± 20,80 ^{a-e}	1404,40 ± 21,51 ^{e-g}	70,70 ± 0,99 ^{bc}	3171,07 ± 21,03 ^{a-d}
3	17,85 ± 0,47 ^{de}	3,00 ± 0,17 ^{c-h}	921,69 ± 24,18 ^{c-e}	1535,63 ± 19,59 ^{ij}	78,49 ± 1,15 ^{de}	3326,12 ± 17,06 ^{c-i}
4	15,31 ± 0,18 ^a	2,55 ± 0,07 ^a	839,47 ± 20,70 ^a	1288,43 ± 20,91 ^{ab}	62,71 ± 2,00 ^a	3111,06 ± 21,04 ^{ab}
5	16,77 ± 0,20 ^{bc}	2,72 ± 0,09 ^{a-e}	882,90 ± 17,73 ^{a-e}	1440,61 ± 23,54 ^{f-h}	71,13 ± 1,59 ^{bc}	3262,04 ± 20,06 ^{b-g}
6	18,15 ± 0,21 ^e	3,12 ± 0,19 ^{f-j}	926,49 ± 29,40 ^{de}	1559,09 ± 11,73 ^j	79,53 ± 0,69 ^e	3416,90 ± 17,07 ^{f-i}
7	15,52 ± 0,29 ^a	2,61 ± 0,03 ^{a-c}	840,92 ± 17,16 ^a	1307,23 ± 16,69 ^{a-c}	63,36 ± 1,01 ^a	3205,12 ± 20,05 ^{a-e}
8	16,98 ± 0,34 ^{bc}	2,85 ± 0,08 ^{a-g}	887,85 ± 19,96 ^{a-e}	1485,30 ± 20,93 ^{hi}	72,08 ± 2,00 ^{bc}	3351,48 ± 19,07 ^{c-i}
9	18,26 ± 0,19 ^e	3,26 ± 0,14 ^{h-j}	930,46 ± 20,04 ^e	1595,07 ± 26,49 ^j	80,06 ± 2,09 ^e	3393,65 ± 18,08 ⁱ
10	15,10 ± 0,25 ^a	2,53 ± 0,08 ^a	837,90 ± 17,70 ^a	1264,39 ± 16,99 ^a	61,93 ± 1,69 ^a	3000,02 ± 15,09 ^a
11	16,40 ± 0,12 ^b	2,60 ± 0,11 ^{ab}	860,85 ± 16,18 ^{a-c}	1315,05 ± 13,33 ^{a-c}	68,49 ± 1,50 ^b	3165,46 ± 18,04 ^{a-c}
12	17,02 ± 0,32 ^{b-d}	2,85 ± 0,12 ^{a-g}	883,18 ± 11,89 ^{a-e}	1400,81 ± 19,79 ^{e-g}	76,71 ± 0,89 ^{b-d}	3308,48 ± 19,09 ^{b-i}
13	15,31 ± 0,18 ^a	2,55 ± 0,07 ^a	839,47 ± 20,70 ^a	1288,43 ± 20,91 ^{ab}	62,71 ± 2,00 ^a	3111,06 ± 21,04 ^{ab}
14	16,42 ± 0,24 ^b	2,69 ± 0,19 ^{a-d}	859,17 ± 15,96 ^{ab}	1320,51 ± 21,69 ^{a-c}	69,62 ± 1,99 ^b	3297,99 ± 18,09 ^{b-i}
15	17,14 ± 0,20 ^{b-d}	2,99 ± 0,21 ^{b-h}	888,13 ± 19,87 ^{a-e}	1408,73 ± 13,64 ^{e-g}	76,93 ± 2,29 ^{b-d}	3406,02 ± 16,08 ^{e-i}
16	15,52 ± 0,29 ^a	2,61 ± 0,03 ^{a-c}	840,92 ± 17,16 ^a	1307,23 ± 16,69 ^{a-c}	63,36 ± 1,01 ^a	3205,12 ± 20,05 ^{a-e}
17	16,61 ± 0,31 ^{bc}	2,81 ± 0,07 ^{a-g}	866,63 ± 21,00 ^{a-d}	1336,74 ± 24,60 ^{b-d}	70,53 ± 2,00 ^{bc}	3341,06 ± 19,07 ^{c-i}
18	17,30 ± 0,30 ^{cd}	3,07 ± 0,05 ^{d-i}	890,33 ± 19,18 ^{a-e}	1432,17 ± 20,06 ^{f-h}	77,63 ± 1,17 ^{cd}	3401,04 ± 20,07 ^{hi}
19	15,10 ± 0,25 ^a	2,53 ± 0,08 ^a	837,90 ± 17,70 ^a	1264,39 ± 16,99 ^a	61,93 ± 1,69 ^a	3000,02 ± 15,09 ^a
20	16,93 ± 0,07 ^{bc}	3,00 ± 0,13 ^{c-h}	869,15 ± 20,83 ^{a-e}	1351,61 ± 15,00 ^{c-e}	74,71 ± 1,44 ^{bc}	3252,16 ± 22,04 ^{a-c}
21	18,34 ± 0,39 ^e	3,46 ± 0,11 ^{i-k}	907,51 ± 23,18 ^{b-e}	1434,73 ± 18,65 ^{f-h}	90,92 ± 2,08 ^e	3386,07 ± 22,06 ^{b-h}
22	15,31 ± 0,18 ^a	2,55 ± 0,07 ^a	839,47 ± 20,70 ^a	1288,43 ± 20,91 ^{ab}	62,71 ± 2,00 ^a	3111,06 ± 21,04 ^{ab}
23	17,16 ± 0,11 ^{b-d}	3,09 ± 0,12 ^{a-i}	881,33 ± 7,99 ^{a-e}	1361,74 ± 10,95 ^{c-e}	75,07 ± 1,59 ^{b-d}	3342,06 ± 24,06 ^{b-f}
24	18,52 ± 0,17 ^{ef}	3,51 ± 0,24 ^{ik}	909,16 ± 27,16 ^{b-e}	1460,22 ± 12,70 ^{gh}	92,08 ± 1,83 ^{ef}	3471,08 ± 23,04 ^{d-i}
25	15,52 ± 0,29 ^a	2,61 ± 0,03 ^{a-c}	840,92 ± 17,16 ^a	1307,23 ± 16,69 ^{a-c}	63,36 ± 1,01 ^a	3205,12 ± 20,05 ^{a-e}
26	17,27 ± 0,20 ^{cd}	3,17 ± 0,11 ^{sj}	884,71 ± 9,82 ^{a-e}	1390,71 ± 20,61 ^{d-f}	75,70 ± 1,19 ^{cd}	3415,51 ± 23,08 ^{c-i}
27	19,29 ± 0,33 ^f	3,72 ± 0,23 ^k	915,36 ± 19,13 ^{b-e}	1487,93 ± 24,51 ^{hi}	92,70 ± 2,20 ^f	3528,03 ± 24,06 ^{g-i}

^{a-k} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa), uzorci 1,10,19; 4,13,22; 7,16,25 su ponovljeni radi lakšeg praćenja promena u okviru variranih parametara

U kontrolnom keksu detektovana količina mineralnih materija potiče iz spelte, koja je bogata ispitivanim komponentama. Pokazalo se da se mineralni sastav keksa povećao sa dodatkom origana, svežeg i osmotski dehidrisanog sremuša, naročito u melasi, s obzirom da osmotska dehidracija u melasi dodatno obogaćuje dehidrisani materijal brojnim mineralnim materijama.

Sadržaj Zn u uzorcima keksa sa dodatkom origana (uzorci 4 i 7) je porastao u odnosu na kontrolni uzorak, iako ne statistički značajno. Dodaci svežeg i osmotski dehidrisanog sremuša doprinose statistički značajnom povećanju u odnosu na keks bez dodataka (uzorak 1), ali se ovi uzorci keksa međusobno statistički značajno ne razlikuju. U odnosu na njih uzorci sa dodatkom listova sremuša dehidrisanih u melasi dovode do dodatnog statistički značajnog porasta Zn, ukazujući na to da u ovom slučaju pored doprinosa količine cinka iz sremuša postoji i doprinos količine cinka iz melase. Maksimalan dodatak sremuša dehidrisanog u melasi i origana u formulaciju keksa uticao je na povećanje početnog sadržaja ovog minerala (uzorak 1) za 27,75% (uzorak 27).

Kao i za sadržaj Zn, sadržaj Cu u keksu je viši sa uključivanjem dodataka i povećanjem njihovih udela u formulaciju keksa. Za razliku od količine origana koji nije statistički značajno uticao na promenu sadržaja Cu, dodaci svežeg i osmotski dehidrisanog sremuša imaju statistički značajan efekat na porast Cu u sastavu dobijenog keksa, u odnosu na kontrolni keks. Primetno je da je dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u vodenom rastvoru saharoze i soli izazvao manji porast sadržaja Cu, u odnosu na dodatak svežeg sremuša. U uzorku keksa sa 2,5% dodatka osmotski dehidrisanog sremuša u vodenom rastvoru (uzorak 12) izmereno je 2,85 mg/kg Cu, dok keks sa istim nivoom dodatka svežeg sremuša (uzorak 3) ima 3,00 mg/kg Cu. Ovaj rezultat je najverovatnije posledica trećeg toka materije tokom osmotskog procesa u vodenom rastvoru NaCl i saharoze, gde deo mineralnih materija zajedno sa vodenim tokom difunduje iz materijala koji se dehidrira u okolni rastvor (Koprivica i sar., 2014; Ahmed i sar., 2016). Nasuprot tome, najveći porast sadržaja Cu u uzorcima sa dodatim sremušem dehidrisanim u melasi je rezultat penetracije ove mineralne komponente iz melase u tkivo sremuša tokom osmotskog procesa. Dodavanjem maksimalne doze listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi uočava se porast Cu za 36,57% u odnosu na osnovnu formulaciju keksa, a kada je dodato još 1% origana (uzorak 27) za 47,03%.

Dodatak origana je neznatno povećao količinu Mg u keksu. S obzirom da je sremuš bogat izvor Mg, sadržaj ovog minerala u keksu je statistički značajno povećan njegovim dodatkom. Udeo od 2,5% svežeg sremuša povećao je sadržaj Mg u keksu za 10% (uzorak 3). U poređenju sa ovim rezultatom, dodatak sremuša osmotski dehidrisanog u R1 (uzorak 12) je u manjem procentu doprineo povećanju sadržaja Mg u keksu (za 5,4%). Smanjenje udela komponente Mg u odnosu na svež sremuš je verovatno nastalo kao posledica isticanja dela ćelijskih sokova iz sremuša u osmotski rastvor, što je u skladu sa istraživanjima Nićetin i sar. (2019) gde je sadržaj Mg u celeru osmotski dehidrisanom u vodenom rastvoru NaCl i saharoze smanjen i do 1,3 puta u odnosu na svež. U odnosu na sremuš osmotski dehidrisan u R1, sremuš osmotski dehidrisan u melasi, kao dodatak sirovinskom sastavu slanog keksa, više doprinosi povećanju sadržaja Mg, za 8,3% (uzorak 21) u odnosu na kontrolni keks. Ipak, u uzorku 9 u kom je prisutno 2,5% dodatog svežeg sremuša i 1% origana zapažen je najveći porast količine Mg za 11% u odnosu na uzorak 1.

Dodatak svežeg sremuša najviše je uticao na povećanje Ca u dobijenim uzorcima keksa, pri čemu je najveće povećanje uočeno za uzorak 9, sa maksimalnom dodatkom količinom svežeg sremuša i origana, za 26,2% u odnosu na uzorak bez dodataka. U odnosu na ovo povećanje, uzorci keksa sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša pokazali su manji porast sadržaja Ca. Ovo je moguće objasniti činjenicom da je svež sremuš bogat kalcijumom, a u osmotski dehidrisanim listovima

sreмуša deo procenta suve materije u vidu dodatka je zamenjen rastvorenim supstancama šećera i soli iz R1, i rastvorkom iz melase (R2). Takođe, postoji mogućnost isticanja izvesne količine Ca iz listova sremuša za vreme osmotske dehidracije, zajedno sa vodenim tokom. Uzorak keksa sa 1% origana i maksimalnom dozom osmotski dehidrisanog sremuša u melasi (uzorak 27) doprineo je povećanju sadržaju Ca za 17,7%, a sa maksimalnom dozom osmotski dehidrisanog sremuša u R1 (uzorak 18) za 13,3%, u odnosu na keks bez dodataka. Bolji rezultat u pogledu sadržaja Ca u keksu sa osmotski dehidrisanim sremušem u melasi, najverovatnije je posledica difuzije ovog minerala iz melase u listove sremuša tokom osmotskog procesa.

Sadržaj Fe u uzorcima keksa se nije statistički značajno povećao dodatkom origana, ali su dodaci sremuša doprineli statistički značajnom povećanju ovog mikroelementa u keksu. U odnosu na kontrolni keks, maksimalni udeo svežeg sremuša doprineo je povećanju sadržaja Fe za 26,73% (uzorak 3), maksimalni udeo sremuša dehidrisanog u vodenom rastvoru za 23,86% (uzorak 12) i maksimalni udeo sremuša dehidrisanog u melasi za 46,81% (uzorak 21). Na osnovu rezultata primetan je uticaj melase kao osmotskog rastvora, gde je moguće da je putem sekundarnog masenog transfera došlo do inkorporacije Fe iz melase u potopljeno tkivo sremuša. Maksimalno povećanje postignuto je dodatkom 2,5% sremuša dehidrisanog u melasi i 1% origana (uzorak 27) i iznosi 49,69% u odnosu na uzorak 1, tj. sadržaj Fe u ovom uzorku keksa je povećan za oko 1,5 puta u odnosu na početni uzorak.

U slučaju K zabeležen je statistički značajan uticaj kako vrste, tako i doze dodatka na povećanje ovog makroelementa u keksu. Pri istim nivoima dodataka, količina ukupnog K se nije statistički značajno menjala za keks sa dodatkom svežeg sremuša i osmotski dehidrisanog sremuša u oba rastvora. Primetno je da je u uzorcima keksa sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi postignut viši sadržaj K, u odnosu na uzorke keksa sa dodatkom svežih listova sremuša i osmotski dehidrisanih u R1. Najveći porast sadržaja K, uočen je u uzorku 27 (2,5% osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi, 1% origana), za 17,6%, tj. u ovom uzorku keksa ima za 1,18 puta više kalijuma u odnosu na kontrolni keks.

Može se zaključiti da dodatak sremuša (svežeg i osmotski dehidrisanog) i origana poboljšava mineralni status keksa i pozitivno doprinosi preporučenom dnevnom unosu minerala. Posebno je značajan visok nivo Fe, K i Ca, pre svega za starije potrošače (Šobot i sar., 2019).

Eksperimentalno dobijeni rezultati za sadržaj šest ispitivanih mineralnih materija u tri vrste keksa, posmatrani su u zavisnosti od količine dodatog sremuša i origana, pomoću ANOVA analize. Na osnovu podataka prikazanih u tabeli 23, obe nezavisno promenljive (količina sremuša i origana) kao linearni članovi, statistički značajno su uticale na formiranje SOP modela za Zn, Cu, Mg, Ca i Ku keksu sa svežim sremušem, dok za matematičko modelovanje Fe nije uočena statistička značajnost. Količina sremuša je faktor koji ima statistički važan uticaj na nivou $p < 0,05$, na formiranje SOP modela svih šest analiziranih minerala u keksu sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2. Za ove dve vrste keksa, postoji i statistička značajnost količine origana prilikom matematičkog modelovanja za sve minerale, osim za Mg i Ca u keksu sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R2. Za kalkulaciju odziva Cu i Mg, kod keksa sa svežim sremušem, uticajan je član interakcije količine sremuša i origana, kvadratni član količine sremuša za Zn, Cu, Ca, kod keksa sa sremušem dehidrisanim u R1 i za Fe i K, kod keksa sa sremušem dehidrisanim u R1. U odnosu na sve pomenute članove za izračunavanje modela ispitivanih minerala, linerani član količine sremuša ima najveći uticaj.

Vrednosti u tabeli 23, koje ukazuju na ostatke varijanse nisu statistički značajne, dok su koeficijenti determinacije za sve razvijene SOP modele izrazito visoki, što ukazuje na pouzdanu predikciju sadržaja analiziranih minerala u keksu putem predloženih modela.

Tabela 23. Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela šest odziva mineralnog sastava tri vrste keksa

Tehnološki parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata					K (mg/kg)
			Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Fe (mg/kg)	
Keks sa svežim listovima sremuša								
Količina sremuša	Linearni	1	11,56482*	0,476017*	11297,02*	114744,7*	418,00119	112195,2*
	Kvadratni	1	0,02067	0,012272*	1,36	681,8	0,1682	751,6
Količina origana	Linearni	1	0,22427*	0,035267*	63,05*	5592,5*	3,19749	34207,5*
	Kvadratni	1	0,00056	0,002222	0,09	13,8	0,0008	975,9
Proizvod	Sremuš x origano	1	0,00002	0,008100*	8,27*	68,9	0,0049	4731,4
Greška	Ostatak varijanse	3	0,00307	0,002211	1,90	324,1	0,0952	1887,8
	Ukupan zbir kvadrata	8	11,56482	0,536089	11371,69	121425,8	421,4676	154749,3
R ²			0,99922	0,99588	0,99983	0,99733	0,99977	0,9878
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1								
Količina sremuša	Linearni	1	5,096817*	0,248067*	3424,870*	24277,39*	312,0488*	106490,7*
	Kvadratni	1	0,120050*	0,008889*	2,442	1372,18*	0,2200	1746,0
Količina origana	Linearni	1	0,138017*	0,043350*	42,400*	1532,48*	3,2120*	37329,2*
	Kvadratni	1	0,002450	0,000006	2,184	24,62	0,0009	2425,8
Proizvod	Sremuš x origano	1	0,004900	0,004900	4,264	32,95	0,0650	3166,3
Greška	Ostatak varijanse	3	0,009167	0,002211	13,163	118,59	0,2978	946,7
	Ukupan zbir kvadrata	8	5,371400	0,307422	3489,324	27358,21	315,8446	152104,7
R ²			0,99829	0,99281	0,99623	0,99567	0,99906	0,99378
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R2								
Količina sremuša	Linearni	1	17,40807*	1,500000*	7614,131*	45558,53*	1281,882*	190453,0*
	Kvadratni	1	0,02276	0,001089	22,356	67,32	9,017*	5620,8*
Količina origana	Linearni	1	0,48735*	0,043350*	116,424	3043,80	2,940*	43419,7*
	Kvadratni	1	0,01227	0,002006	1,061	13,90	0,009	210,1*
Proizvod	Sremuš x origano	1	0,07023	0,008100	5,832	26,83	0,031	996,7*
Greška	Ostatak varijanse	3	0,08782	0,002544	49,470	77,17	0,181	48,9
	Ukupan zbir kvadrata	8	18,08849	1,557089	7809,275	48787,57	1294,059	240749,2
R ²			0,99515	0,99837	0,99367	0,99842	0,99986	0,9998

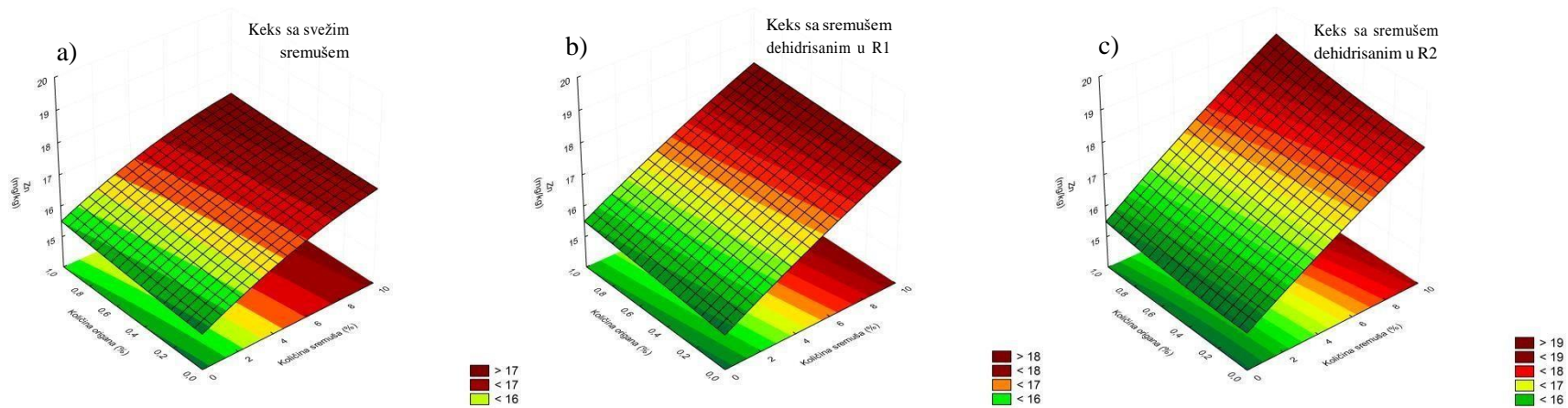
⁺ Broj stepeni slobode, * Statistički značajno na nivou $p < 0,05$

Vrednosti regresionih koeficijenata za izračunavanje SOP modela šest minerala, za tri vrste keksa, uz prikaz njihove statističke značajnosti, predstavljene su u tabeli 24.

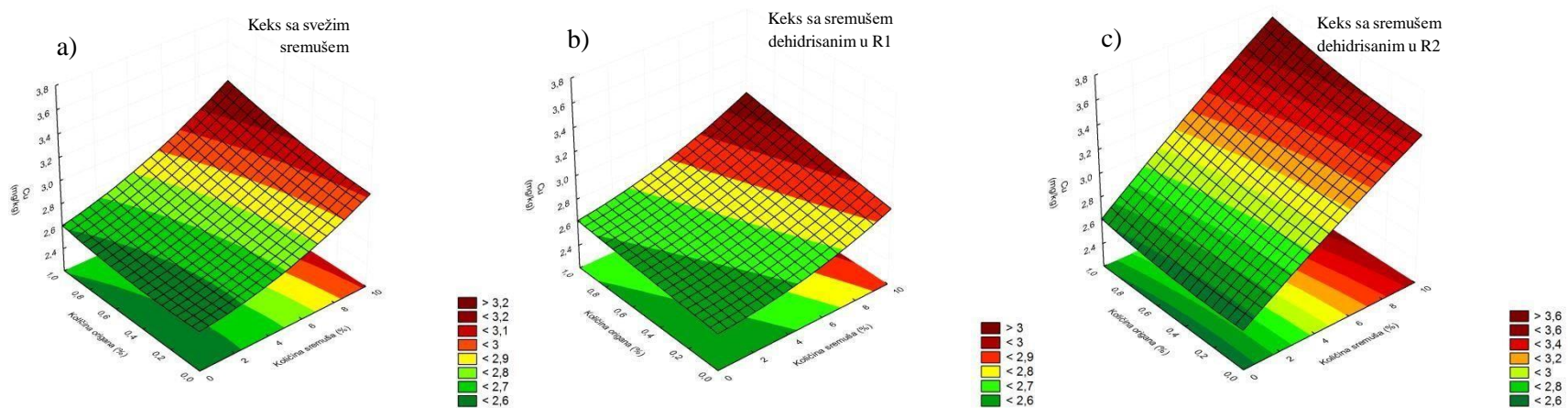
Tabela 24. Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za šest modela odziva mineralnog sastava tri vrste keksa

	Y1 (Zn)	Y2 (Cu)	Y3(Mg)	Y4(Ca)	Y5 (Fe)
Keks sa svežim listovima sremuša					
β_0	15,10861*	2,542778*	837,6975*	261,1789*	61,96500*
β_1	0,31883*	0,016000	8,7208*	34,2133*	1,77833*
β_{11}	-0,00407	0,003133*	-0,0330	-0,7385	-0,01160
β_2	0,45833	-0,070000	2,7483	42,2533	1,47000
β_{22}	-0,06667	0,133333	0,8600	10,5067	-0,08000
β_{12}	-0,00100	0,018000*	0,5750*	1,6600	0,01400
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1					
β_0	15,13500*	2,513889*	838,1525*	24277,39*	61,81472*
β_1	0,28933*	0,007000	4,1298*	1372,18*	1,33517*
β_{11}	-0,00980*	0,002667*	0,0442	1532,48	0,01327
β_2	0,23333	0,093333	-0,9283	24,62	1,63167
β_{22}	0,14000	0,006667	4,1800	32,95	0,08667
β_{12}	-0,01400	0,014000	0,4130	118,59	-0,05100
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R2					
β_0	15,18361*	2,533889*	835,9897*	267,6289*	62,03194*
β_1	0,35683*	0,100333*	8,2205*	14,5890*	2,05650*
β_{11}	-0,00427	-0,000933	-0,1337	0,2321	0,08493*
β_2	-0,00833	-0,046667	9,3083	29,3200	1,49167
β_{22}	0,31333	0,126667	-2,9133	10,5467	-0,26667
β_{12}	0,05300	0,018000	0,4830	1,0360	0,03500

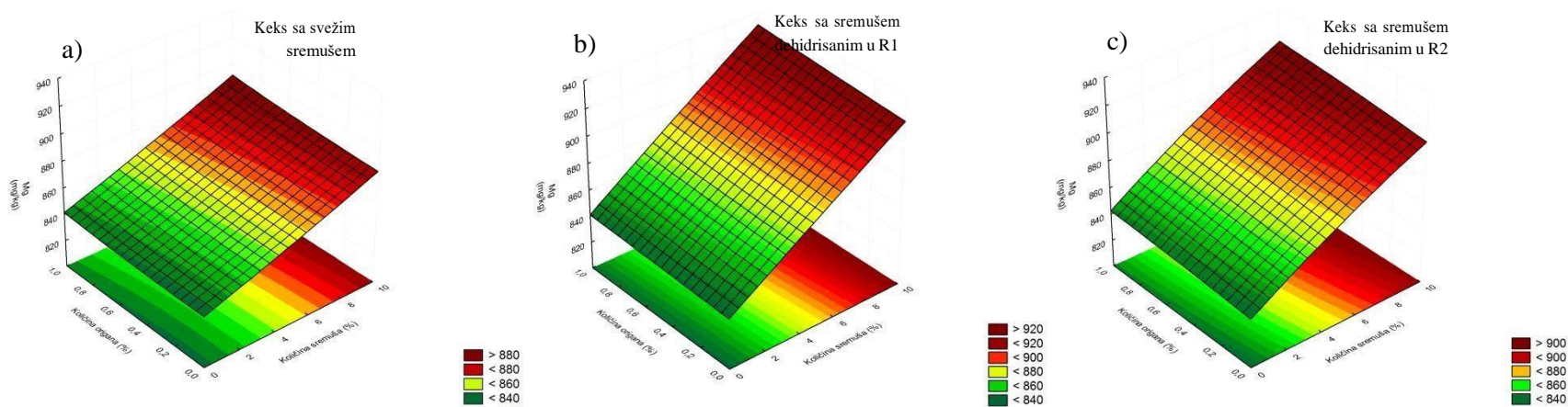
* Statistički značajno na nivou $p < 0,05$



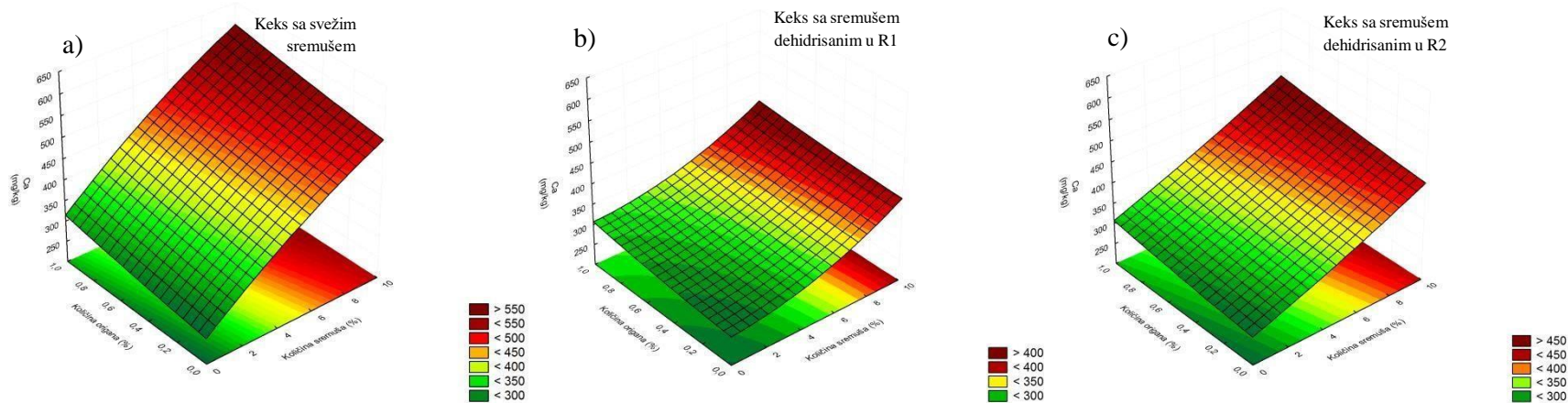
Slika 27. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva Zn mineralnog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



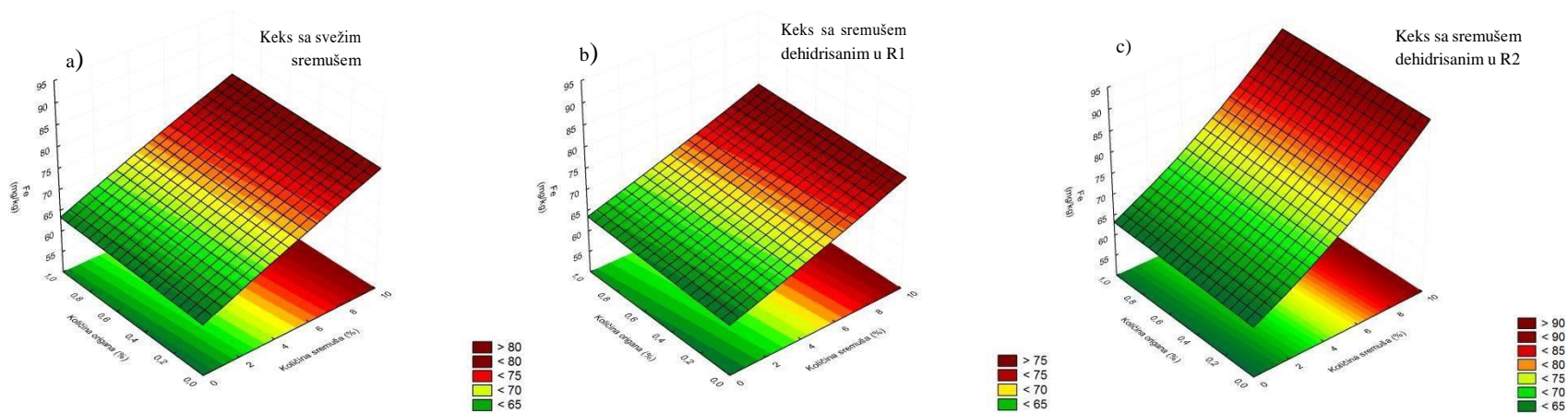
Slika 28. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva Cu mineralnog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



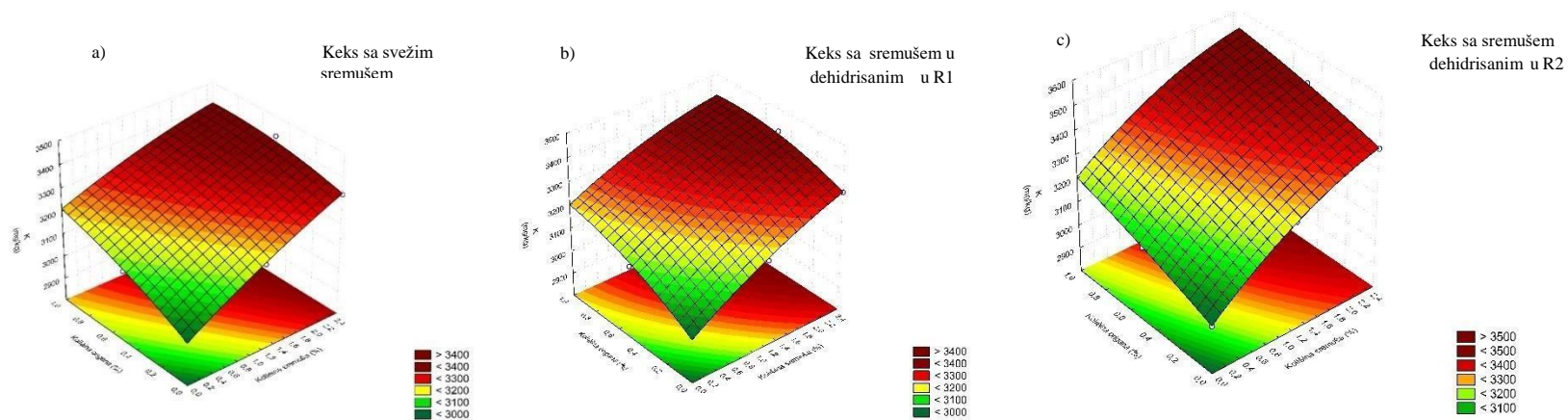
Slika 29. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva Mg mineralnog sastava keksa: a– c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



Slika 30. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva Ca mineralnog sastava keksa: a– c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



Slika 31. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva Fe mineralnog sastava keksa: a– c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2



Slika 32. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva K mineralnog sastava keksa: a– c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2

Na slikama 25, 26, 27, 28, 29, 30 a-c su grafičke ilustracije jednačina odzivne površine sadržaja Zn, Cu, Mg, Ca, Fe i K u keksu sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2. Na osnovu nagiba, na svim dijagramima se uočava rastući trend, tj. sadržaj minerala u keksu se povećava sa povećanjem doze sve tri vrste dodataka. Posmatranjem grafika, jasno se može kvantifikovati izraženiji uticaj promene količine sremuša, u odnosu na promenu količine origana u svim prikazanim slučajevima. Slike 25, 26, 29 i 30 a-c, prikazuju da je povećanje količine dodataka najviše uticalo na porast sadržaja Zn, Cu, Fe i K u keksu sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R2, zatim u keksu sa svežim sremušem, a najmanje u keksu sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1. Na slikama 27 i 28 a-c, u skladu sa višim udelima dodataka, najizraženiji rastući trend je uočen kod kekasa sa svežim sremušem, zatim u keksu sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R2, a ponovo najmanji u keksu sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1.

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na antioksidativna svojstva kekasa

Uticaj odabranih dodataka i njihovih udela na antioksidativnu aktivnost kekasa određenu ABTS i DPPH metodom i izraženu preko IC_{50} vrednosti predstavljen je u tabeli 25.

Tabela 25. Rezultati antioksidativne aktivnosti kekasa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša

R. br.	ABTS (mg/ml)	DPPH (mg/ml)
1	12,651 ± 0,080 ^a	64,092 ± 0,147 ^a
2	12,580 ± 0,071 ^{a-d}	63,800 ± 0,099 ^{a-c}
3	12,543 ± 0,065 ^{a-d}	63,545 ± 0,110 ^{b-e}
4	12,577 ± 0,047 ^{a-d}	63,718 ± 0,127 ^{a-d}
5	12,528 ± 0,030 ^{a-d}	63,431 ± 0,140 ^{c-f}
6	12,465 ± 0,069 ^{a-d}	63,156 ± 0,134 ^{e-h}
7	12,504 ± 0,077 ^{a-d}	63,349 ± 0,139 ^{d-g}
8	12,455 ± 0,055 ^{a-d}	63,060 ± 0,103 ^{f-h}
9	12,390 ± 0,059 ^{cd}	62,817 ± 0,115 ^h
10	12,651 ± 0,080 ^a	64,092 ± 0,147 ^a
11	12,617 ± 0,073 ^{ab}	63,917 ± 0,120 ^{ab}
12	12,585 ± 0,054 ^{a-d}	63,760 ± 0,109 ^{a-d}
13	12,577 ± 0,047 ^{a-d}	63,718 ± 0,127 ^{a-d}
14	12,545 ± 0,070 ^{a-d}	63,549 ± 0,105 ^{b-e}
15	12,510 ± 0,067 ^{a-d}	63,386 ± 0,149 ^{c-g}
16	12,504 ± 0,077 ^{a-d}	63,349 ± 0,139 ^{d-g}
17	12,473 ± 0,060 ^{a-d}	63,180 ± 0,154 ^{e-h}
18	12,447 ± 0,069 ^{a-d}	63,013 ± 0,107 ^{gh}
19	12,651 ± 0,080 ^a	64,092 ± 0,147 ^a
20	12,600 ± 0,087 ^{a-c}	63,800 ± 0,118 ^{a-c}
21	12,540 ± 0,091 ^{a-d}	63,540 ± 0,149 ^{b-e}
22	12,577 ± 0,047 ^{a-d}	63,718 ± 0,127 ^{a-d}
23	12,520 ± 0,039 ^{a-d}	63,455 ± 0,140 ^{c-f}
24	12,470 ± 0,050 ^{a-d}	63,165 ± 0,127 ^{e-h}
25	12,504 ± 0,077 ^{a-d}	63,328 ± 0,139 ^{d-g}
26	12,431 ± 0,070 ^{b-d}	63,050 ± 0,150 ^{f-h}
27	12,369 ± 0,056 ^d	62,800 ± 0,129 ^h

^{a-h} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa), uzorci 1,10,19; 4,13,22; 7,16,25 su ponovljeni radi lakšeg praćenja promena u okviru variranih parametara

Dodatak origana u količini od 0,5% i 1% nije statistički značajno povećao antioksidativnost keksa izmerenu ABTS metodom, dok je dodatak 1% origana statistički značajno povećao antioksidativnost keksau odnosu na kontrolni uzorak, kada je upotrebljena DPPH metoda.

Dodatak svežeg sremuša u sirovinski sastav keksa uticao je na povećane vrednosti antioksidativne aktivnosti koje su dobijene kao rezultat obe metode (ABTS i DPPH), a nešto veće vrednosti su kada su dodate veće doze sremuša i origana. Kada se uporede uzorci keksa sa dodacima listova sremuša osmotski dehidrisanih u R1, sa uzorcima keksa sa svežim sremušem, uočava se da su dobijene nešto niže vrednosti antioksidativne aktivnosti. To je u saglasnosti sa prethodnim rezultatima, koji su pokazali da se ukupna antioksidativnost sremuša smanjuje za 10-20% nakon osmotske dehidracije u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida.

Sa druge strane, uzorci keksa koji su sadržali osmotski dehidrisane listove sremuša u melasi, pri istim nivoima dodataka pokazali su veće vrednosti antioksidativnog kapaciteta određenog ABTS i DPPH metodama, u poređenju sa uzorcima keksa sa svežim sremušem. Najnižu koncentraciju potrebnu za inhibiciju 50% ABTS i DPPH radikala, 12,37 mg/ml i 62,80 mg/ml, pokazao je uzorak 27, koji u svom sastavu ima 2,5% listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi i 1% origana. Ovaj rezultat je očekivan, obzirom da je analizom već potvrđeno da je nakon procesa osmotske dehidracije u melasi šećerne repe povećana ukupna antioksidativnost listova sremuša.

Rezultati ANOVA testiranja prikazani u tabeli 26 potvrdili su da linearni članovi količine sremuša i količine origana doprinose predikciji matematičkih modela za oba odziva koji opisuju antioksidativnost (ABTS i DPPH) keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2, i to statistički značajno, na nivou $p < 0,05$. Ostali članovi nisu pokazali statističku značajnost za matematičko modelovanje antioksidativnosti keksa.

Prikazane vrednosti koeficijenata determinacije za ispitivane odzive su veće od 0,99. Ostaci varijanse nisu statistički značajni. Oba saznanja ukazuju na dobro poklapanje predloženih matematičkih modela sa eksperimentalnim rezultatima.

U tabeli 27 su prikazani izračunati regresioni koeficijenti polinoma drugog stepenaza dva modela odziva antioksidativne aktivnosti keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u oba rastvora.

Obojene trodimenzionalne površine, koje ilustruju zavisnost promene antioksidativnosti (izmerene ABTS i DPPH metodom) od promene količine dodatog sremuša i origana, u tri vrste keksa prikazane su na slikama 31 i 32 a-c. Na svim dijagramima zapažen je blagi opadajući trend sa postepenim povećanjem količine dodataka, što ukazuje na povećanje antioksidativnosti u odnosu na uzorak keksa bez dodataka (IC_{50} vrednosti). U keksu sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša R2, (dijagram c, slike 31 i 32), pri istim udelima dodataka, najizraženiji je pad vrednosti, tj. najveća postignuta antioksidativnost, iako razlike u nagibima dijagrama (a, b i c) nisu mnogo izražene.

Tabela 26. Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela dva odziva antioksidativne aktivnosti tri vrste keksa

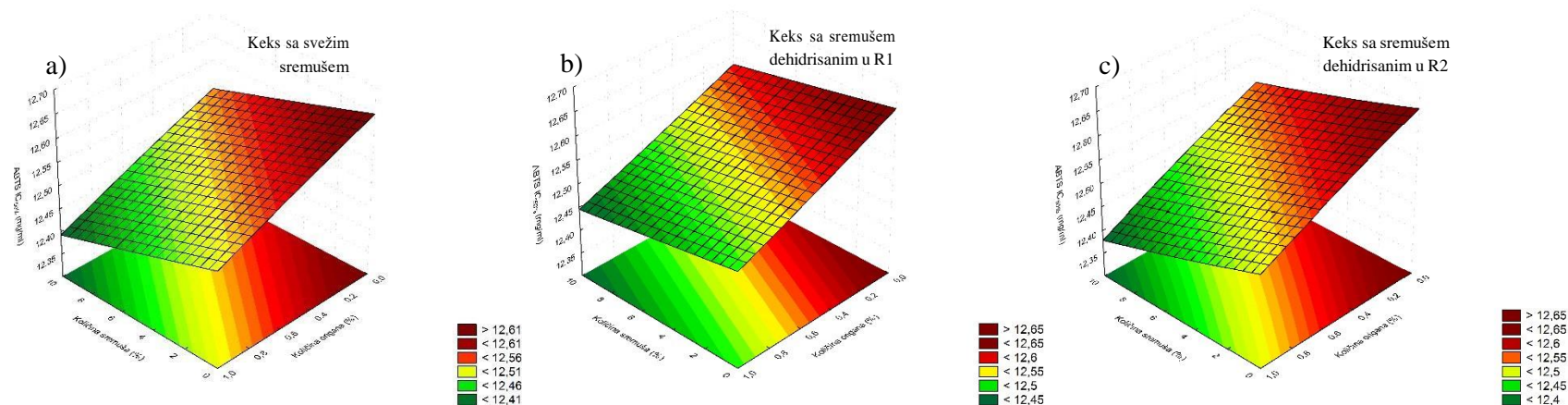
Tehnološki parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata					
			Keks sa svežim listovima sremuša		Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1		Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R2	
			ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH
Količina sremuša	Linearni	1	0,01859*	0,458161*	0,006017*	0,166667*	0,019267*	0,452101*
	Kvadratni	1	0,000001	0,000430	0,000001	0,000038	0,000014	0,000093
Količina origana	Linearni	1	0,03010*	0,831048*	0,030674*	0,826588*	0,037921*	0,818443*
	Kvadratni	1	0,000016	0,000053	0,000009	0,000001	0,000029	0,000044
Proizvod	Sremuš x origano	1	0,000009	0,000001	0,000020	0,000004	0,000049	0,000025
Greška	Ostatak varijanse	3	0,000267	0,000141	0,000016	0,000024	0,000141	0,000427
	Ukupan zbir kvadrata	8	0,048990	1,289834	0,036736	0,993322	0,057422	1,271133
R ²			0,99454	0,99989	0,99958	0,99998	0,99755	0,99966

+ Broj stepeni slobode, * Statistički značajno na nivou $p < 0,05$

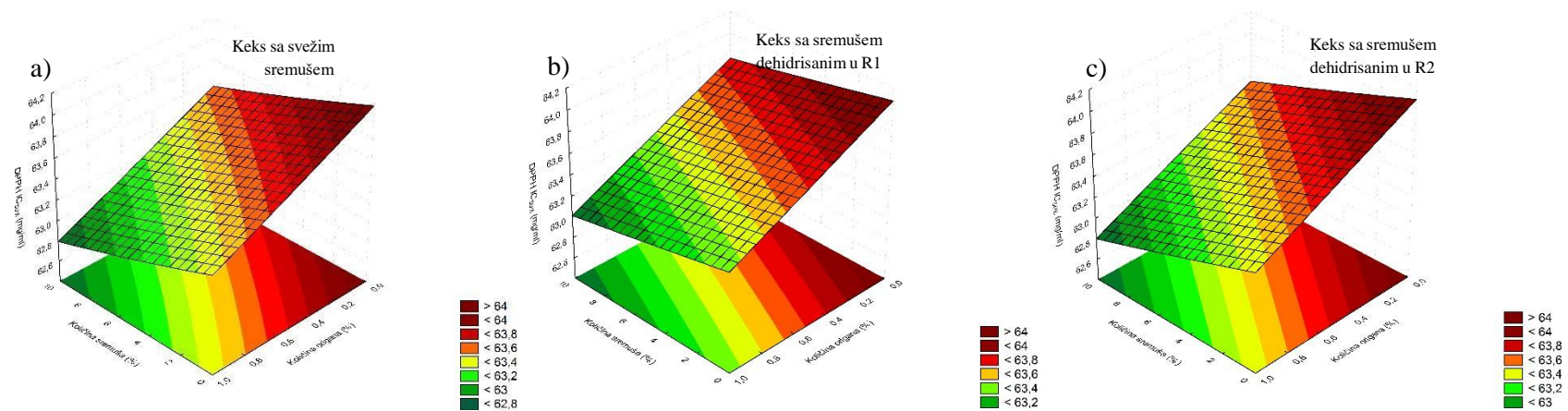
Tabela 27. Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za dva modela odziva antioksidativne aktivnosti tri vrste keksa

	Keks sa svežim listovima sremuša		Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1		Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R2	
	Y1 (ABTS)	Y2 (DPPH)	Y1 (ABTS)	Y2 (DPPH)	Y1 (ABTS)	Y2 (DPPH)
β_0	12,64572*	64,09306*	12,65181*	64,09011*	12,65106*	64,08994*
β_1	-0,01110*	-0,06103*	-0,00705*	-0,03487*	-0,01170*	-0,05813*
β_{11}	0,00003	0,00059	0,00003	0,00017	0,00011	0,00027
β_2	-0,12733*	-0,76400*	-0,15617*	-0,74367*	-0,13667*	-0,72500*
β_{22}	-0,01133	0,02067	0,00867	0,00333	-0,01533	-0,01867
β_{12}	-0,00060	-0,00020	0,00090	-0,00040	-0,00140	0,00100

* Statistički značajno na nivou $p < 0,05$



Slika 33. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva ABTS antioksidativne aktivnosti keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidriranim listovima sreмуša u R1 i R2



Slika 34. Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva DPPH antioksidativne aktivnosti keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidriranim listovima sreмуša u R1 i R2

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na senzorna svojstva keksa

U tabeli 28 prikazani su rezultati deskriptivne senzorne analize slanog keksa, na osnovu kojih se vidi da se dodatkom listova sremuša, kako svežih tako i osmotski dehidrisanih, u značajnoj meri menjaju deskriptori izgleda, ukusa, mirisa i teksture, u odnosu na keks bez dodatka sremuša.

Tabela 28. Rezultati deskriptivne senzorne analiza izgleda i ukusa keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša

R. br.	Izgled				Ukus			
	Karakt- rističan	Intenzitet Boje	Ujednačne- nost boje	Izgled površine	Gorak	Pikantan	Karamel	Zeljast
1	8,00 ± 0,17 ^a	5,33 ± 0,33 ^{ab}	10,00 ± 0,00 ^a	4,25 ± 0,25 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	2,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a
2	8,17 ± 0,17 ^a	6,33 ± 0,33 ^{cd}	6,83 ± 0,17 ^{bc}	5,25 ± 0,25 ^{bc}	4,00 ± 0,00 ^d	4,25 ± 0,25 ^{b-d}	2,00 ± 0,00 ^a	4,25 ± 0,25 ^c
3	7,00 ± 0,00 ^c	6,83 ± 0,17 ^{de}	5,00 ± 0,00 ^f	6,25 ± 0,25 ^d	6,00 ± 0,17 ^{fg}	6,25 ± 0,25 ^{e-g}	1,83 ± 0,17 ^a	6,50 ± 0,50 ^{ef}
4	8,00 ± 0,00 ^a	5,00 ± 0,17 ^a	10,00 ± 0,00 ^a	4,00 ± 0,17 ^a	2,00 ± 0,00 ^b	3,17 ± 0,17 ^b	2,33 ± 0,33 ^a	3,00 ± 0,17 ^b
5	8,00 ± 0,25 ^a	5,83 ± 0,17 ^{bc}	7,00 ± 0,17 ^b	5,00 ± 0,33 ^b	5,00 ± 0,00 ^e	5,25 ± 0,25 ^{c-e}	2,33 ± 0,33 ^a	5,00 ± 0,00 ^d
6	7,25 ± 0,25 ^c	7,17 ± 0,17 ^{ef}	5,25 ± 0,33 ^f	5,87 ± 0,17 ^{cd}	7,50 ± 0,25 ^j	7,00 ± 0,00 ^{f-h}	2,17 ± 0,17 ^a	7,50 ± 0,25 ^{gh}
7	7,83 ± 0,17 ^{ab}	5,00 ± 0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^a	4,00 ± 0,17 ^a	3,25 ± 0,25 ^c	4,00 ± 0,33 ^{bc}	2,17 ± 0,17 ^a	4,00 ± 0,00 ^c
8	8,00 ± 0,00 ^a	6,17 ± 0,17 ^c	7,00 ± 0,00 ^b	5,00 ± 0,25 ^b	6,00 ± 0,00 ^{fg}	5,75 ± 0,25 ^{d-f}	2,00 ± 0,00 ^a	7,17 ± 0,17 ^g
9	7,00 ± 0,00 ^c	7,25 ± 0,25 ^{ef}	5,50 ± 0,50 ^{ef}	6,00 ± 0,17 ^d	6,83 ± 0,17 ^{hi}	8,00 ± 0,00 ^h	2,00 ± 0,00 ^a	9,00 ± 0,00 ⁱ
10	8,00 ± 0,17 ^a	5,33 ± 0,33 ^{ab}	10,00 ± 0,00 ^a	4,25 ± 0,25 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	2,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a
11	7,00 ± 0,25 ^c	7,17 ± 0,17 ^{ef}	6,50 ± 0,50 ^{b-d}	6,00 ± 0,25 ^d	5,33 ± 0,33 ^e	5,00 ± 0,25 ^{c-e}	2,00 ± 0,00 ^a	5,33 ± 0,33 ^d
12	7,00 ± 0,00 ^c	8,00 ± 0,25 ^{gh}	3,83 ± 0,17 ^{gh}	7,00 ± 0,33 ^{ef}	6,00 ± 0,17 ^{fg}	7,17 ± 0,83 ^{f-h}	2,00 ± 0,00 ^a	7,00 ± 0,25 ^{fg}
13	8,00 ± 0,00 ^a	5,00 ± 0,17 ^a	10,00 ± 0,00 ^a	4,00 ± 0,17 ^a	2,00 ± 0,00 ^b	3,17 ± 0,17 ^b	2,33 ± 0,33 ^a	3,00 ± 0,17 ^b
14	6,83 ± 0,17 ^c	7,25 ± 0,25 ^{ef}	6,17 ± 0,17 ^{cd}	6,00 ± 0,00 ^d	5,50 ± 0,25 ^{ef}	6,00 ± 0,00 ^{e-g}	2,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^e
15	7,00 ± 0,00 ^c	8,00 ± 0,25 ^{gh}	4,00 ± 0,00 ^{gh}	7,25 ± 0,25 ^f	6,50 ± 0,25 ^{gh}	7,50 ± 0,00 ^{gh}	2,00 ± 0,00 ^a	7,50 ± 0,00 ^{gh}
16	7,83 ± 0,17 ^{ab}	5,00 ± 0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^a	4,00 ± 0,17 ^a	3,25 ± 0,25 ^c	4,00 ± 0,33 ^{bc}	2,17 ± 0,17 ^a	4,00 ± 0,00 ^c
17	7,00 ± 0,00 ^c	7,00 ± 0,25 ^{ef}	6,00 ± 0,50 ^{de}	6,00 ± 0,33 ^d	6,17 ± 0,17 ^g	6,50 ± 0,00 ^{e-h}	2,00 ± 0,00 ^a	6,50 ± 0,00 ^{ef}
18	7,17 ± 0,17 ^c	8,00 ± 0,00 ^{gh}	4,00 ± 0,25 ^{gh}	7,00 ± 0,00 ^{ef}	7,50 ± 0,25 ^j	8,00 ± 0,00 ^h	2,00 ± 0,00 ^a	8,00 ± 0,00 ^h
19	8,00 ± 0,17 ^a	5,33 ± 0,33 ^{ab}	10,00 ± 0,00 ^a	4,25 ± 0,25 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	2,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a
20	7,00 ± 0,00 ^c	7,17 ± 0,17 ^{ef}	6,00 ± 0,00 ^{de}	6,00 ± 0,25 ^d	5,00 ± 0,00 ^e	5,25 ± 0,25 ^{c-e}	4,00 ± 0,17 ^b	5,00 ± 0,00 ^d
21	7,00 ± 0,25 ^c	8,25 ± 0,25 ^h	4,00 ± 0,00 ^{gh}	7,00 ± 0,17 ^{ef}	6,00 ± 0,33 ^{fg}	7,33 ± 0,33 ^{f-h}	4,50 ± 0,25 ^{bc}	7,00 ± 0,17 ^{fg}
22	8,00	5,00	10,00	4,00	2,00	3,17	2,33	3,00

	$\pm 0,00^a$	$\pm 0,17^a$	$\pm 0,00^a$	$\pm 0,17^a$	$\pm 0,00^b$	$\pm 0,17^b$	$\pm 0,33^a$	$\pm 0,17^b$
23	7,25 $\pm 0,25^c$	7,00 $\pm 0,00^{ef}$	6,00 $\pm 0,00^{de}$	5,83 $\pm 0,17^{cd}$	6,00 $\pm 0,00^{fg}$	6,00 $\pm 0,33^{e-g}$	4,00 $\pm 0,00^b$	6,00 $\pm 0,33^e$
24	7,33 $\pm 0,33^{bc}$	8,17 $\pm 0,17^h$	4,25 $\pm 0,25^g$	7,25 $\pm 0,25^f$	7,00 $\pm 0,00^{h-j}$	7,50 $\pm 0,25^{gh}$	4,33 $\pm 0,33^b$	7,50 $\pm 0,00^{gh}$
25	7,83 $\pm 0,17^{ab}$	5,00 $\pm 0,00^a$	10,00 $\pm 0,00^a$	4,00 $\pm 0,17^a$	3,25 $\pm 0,25^c$	4,00 $\pm 0,33^{bc}$	2,17 $\pm 0,17^a$	4,00 $\pm 0,00^c$
26	7,00 $\pm 0,00^c$	7,00 $\pm 0,00^{ef}$	6,17 $\pm 0,17^{cd}$	6,00 $\pm 0,25^d$	6,50 $\pm 0,00^{gh}$	7,33 $\pm 0,33^{f-h}$	5,00 $\pm 0,00^c$	7,17 $\pm 0,17^g$
27	7,17 $\pm 0,17^c$	7,50 $\pm 0,00^{fg}$	3,50 $\pm 0,25^h$	6,50 $\pm 0,00^{de}$	7,17 $\pm 0,17^{ij}$	7,50 $\pm 0,00^{gh}$	5,00 $\pm 0,00^c$	8,00 $\pm 0,00^h$

^{a-j} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa), uzorci 1,10,19; 4,13,22; 7,16,25 su ponovljeni radi lakšeg praćenja promena u okviru variranih parametara

Dodatak origana u količini od 0,5 i 1% (uzorci 4 i 7) nije statistički značajno menjao izgled keksa, ali je uticao na neke deskriptore za ukus (gorak, pikantan, zeljast) i miris (opor, začinsko bilje, zeljast). Keks sa dodatim svežim sremušem, osmotski dehidrisanim u R1 i R2 odstupao je od karakterističnog izgleda keksa bez dodataka, od polazne ocene 8 do 7. Dodaci svežeg i osmotski dehidrisanog sremuša u oba osmotska rastvora, doprineli su povećanju intenziteta boje dobijenih uzoraka keksa ali su srazmerno tome smanjili ujednačenost boje, u poređenju sa keksom bez sremuša. Sa dodatkom listova sve tri vrste sremuša u sirovinski sastav keksa, značajno se menjao deskriptor za izgled površine keksa, od glađeg za keks bez dodataka do hrapavijeg.

U odnosu na kontrolni keks, dodaci značajno menjaju deskriptore za ukus, pri čemu je maksimalni dodatak origana (1%) i maksimalan dodatak (2,5%) osmotski dehidrisanog sremuša u R1 najviše uticao na povećanje deskriptora za gorak ukus (1-7,5), dodatak svežeg sremuša na povećanje deskriptora za zeljast ukus (1-9), dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u melasi je jedini uticao na značajnije povećanja deskriptora za karamel ukus (2-5), dok su izraženoj pikantnosti ukusa podjednako doprineli dodaci svežeg i osmotski dehidrisanog sremuša u R1 (1-8), a nešto manje i osmotski dehidrisan sremuš u melasi (1-7,5).

Uzorak 18 (1% origana, 2,5% osmotski dehidrisanog sremuša u R1) je ocenjen kao keks sa najizraženijim oporim ukusom. Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da je ukus slanog keksa sa osmotski dehidrisanim sremušem u melasi prijatan i prihvatljiv potrošačima, ali i kompleksniji u poređenju sa ukusom ostalih analiziranih uzoraka keksa.

Tabela 29. Rezultati deskriptivne senzorne analize mirisa i teksture kekisa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša

R. br.	Miris				Tekstura			
	Opor	Karamel	Začinsko bilje	Zeljast	Čvrstoća	Lomljivost	Prhkost	Topivost
1	1,00 ± 0,00 ^a	2,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	6,50 ± 0,50 ^{a-c}	3,33 ± 0,33 ^{ab}	9,00 ± 0,17 ^a	3,00 ± 0,00 ^a
2	3,00 ± 0,00 ^b	2,17 ± 0,17 ^a	2,17 ± 0,17 ^b	4,00 ± 0,00 ^c	6,83 ± 0,17 ^{b-d}	5,25 ± 0,25 ^{ef}	5,00 ± 0,00 ^{de}	6,17 ± 0,17 ^b
3	5,00 ± 0,00 ^{ef}	2,00 ± 0,00 ^a	5,17 ± 0,17 ^{de}	7,00 ± 0,50 ^g	6,17 ± 0,17 ^{ab}	5,83 ± 0,17 ^{f-h}	6,00 ± 0,00 ^c	7,17 ± 0,17 ^d
4	2,83 ± 0,13 ^b	2,25 ± 0,25 ^a	6,00 ± 0,50 ^{fg}	3,00 ± 0,00 ^b	6,17 ± 0,17 ^{ab}	3,33 ± 0,33 ^{ab}	9,17 ± 0,17 ^a	3,00 ± 0,25 ^a
5	4,33 ± 0,33 ^{de}	2,17 ± 0,17 ^a	7,75 ± 0,25 ⁱ	4,00 ± 0,00 ^c	7,25 ± 0,25 ^{c-d}	5,00 ± 0,50 ^{d-f}	5,25 ± 0,25 ^{cd}	6,50 ± 0,25 ^{bc}
6	6,00 ± 0,00 ^{g-i}	2,00 ± 0,25 ^a	7,75 ± 0,25 ⁱ	7,00 ± 0,17 ^g	6,00 ± 0,17 ^a	6,50 ± 0,50 ^h	6,00 ± 0,50 ^c	7,25 ± 0,25 ^d
7	4,25 ± 0,25 ^{c-e}	2,25 ± 0,25 ^a	7,00 ± 0,00 ^{hi}	4,17 ± 0,17 ^c	6,00 ± 0,00 ^a	2,83 ± 0,17 ^a	9,00 ± 0,00 ^a	3,00 ± 0,17 ^a
8	5,25 ± 0,25 ^{fg}	2,00 ± 0,00 ^a	7,25 ± 0,25 ^{hi}	5,00 ± 0,00 ^d	6,83 ± 0,17 ^{b-d}	5,25 ± 0,25 ^{ef}	5,50 ± 0,25 ^{cd}	6,00 ± 0,00 ^b
9	6,00 ± 0,00 ^{g-i}	2,17 ± 0,17 ^a	7,17 ± 0,17 ^{hi}	6,17 ± 0,17 ^f	6,00 ± 0,00 ^a	6,25 ± 0,25 ^{gh}	6,87 ± 0,17 ^b	7,17 ± 0,17 ^d
10	1,00 ± 0,00 ^a	2,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	6,50 ± 0,50 ^{a-c}	3,33 ± 0,33 ^{ab}	9,00 ± 0,17 ^a	3,00 ± 0,00 ^a
11	3,50 ± 0,50 ^{bc}	2,00 ± 0,00 ^a	3,00 ± 0,00 ^c	5,33 ± 0,33 ^{de}	8,50 ± 0,25 ^f	4,00 ± 0,00 ^{bc}	4,33 ± 0,33 ^{ef}	6,00 ± 0,17 ^b
12	6,17 ± 0,83 ^{hi}	2,00 ± 0,00 ^a	5,00 ± 0,00 ^{de}	7,25 ± 0,25 ^g	7,33 ± 0,33 ^{de}	5,00 ± 0,00 ^{d-f}	5,50 ± 0,50 ^{cd}	7,50 ± 0,50 ^d
13	2,83 ± 0,13 ^b	2,25 ± 0,25 ^a	6,50 ± 0,50 ^{gh}	3,00 ± 0,00 ^b	6,17 ± 0,17 ^{ab}	3,33 ± 0,33 ^{ab}	9,17 ± 0,17 ^a	3,00 ± 0,25 ^a
14	5,00 ± 0,00 ^{ef}	2,00 ± 0,00 ^a	5,50 ± 0,50 ^{ef}	5,50 ± 0,25 ^{d-f}	8,00 ± 0,25 ^{ef}	4,00 ± 0,00 ^{bc}	4,00 ± 0,00 ^f	6,00 ± 0,00 ^b
15	6,50 ± 0,00 ^{ij}	2,00 ± 0,00 ^a	6,50 ± 0,50 ^{gh}	7,50 ± 0,25 ^g	7,00 ± 0,17 ^{cd}	5,25 ± 0,25 ^{ef}	5,33 ± 0,33 ^{cd}	7,17 ± 0,17 ^d
16	4,25 ± 0,25 ^{c-d}	2,25 ± 0,25 ^a	7,00 ± 0,00 ^{hi}	4,17 ± 0,17 ^c	6,00 ± 0,00 ^a	2,83 ± 0,17 ^a	9,00 ± 0,00 ^a	3,00 ± 0,17 ^a
17	6,17 ± 0,17 ^{hi}	2,00 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,00 ^{fg}	6,00 ± 0,00 ^{ef}	7,83 ± 0,17 ^{ef}	4,25 ± 0,25 ^{cd}	4,17 ± 0,33 ^f	6,00 ± 0,00 ^b
18	7,25 ± 0,25 ⁱ	2,00 ± 0,00 ^a	7,00 ± 0,17 ^{hi}	8,25 ± 0,25 ^h	7,00 ± 0,00 ^{cd}	5,50 ± 0,25 ^{e-g}	5,00 ± 0,17 ^{de}	7,00 ± 0,00 ^{cd}
19	1,00 ± 0,00 ^a	2,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	6,50 ± 0,50 ^{a-c}	3,33 ± 0,33 ^{ab}	9,00 ± 0,17 ^a	3,00 ± 0,00 ^a
20	4,00 ± 0,25 ^{cd}	4,25 ± 0,00 ^b	3,00 ± 0,33 ^c	5,00 ± 0,50 ^d	8,00 ± 0,00 ^{ef}	4,00 ± 0,00 ^{bc}	4,00 ± 0,00 ^f	6,17 ± 0,17 ^b
21	6,00 ± 0,00 ^{g-i}	4,83 ± 0,17 ^c	5,33 ± 0,33 ^{ef}	7,17 ± 0,17 ^g	7,25 ± 0,25 ^{c-e}	5,33 ± 0,33 ^{ef}	5,50 ± 0,50 ^{cd}	7,00 ± 0,00 ^{cd}
22	2,83 ± 0,13 ^b	2,25 ± 0,25 ^a	6,50 ± 0,50 ^{gh}	3,00 ± 0,00 ^b	6,17 ± 0,17 ^{ab}	3,33 ± 0,33 ^{ab}	9,17 ± 0,17 ^a	3,00 ± 0,25 ^a
23	5,50 ± 0,00 ^{f-h}	4,17 ± 0,17 ^b	4,50 ± 0,00 ^d	6,00 ± 0,25 ^{ef}	8,00 ± 0,17 ^{ef}	4,00 ± 0,00 ^{bc}	4,00 ± 0,33 ^f	6,33 ± 0,33 ^b
24	6,50 ± 0,00 ^{ij}	4,25 ± 0,25 ^b	6,00 ± 0,00 ^{fg}	7,50 ± 0,25 ^g	7,25 ± 0,25 ^{c-d}	5,00 ± 0,25 ^{d-f}	5,25 ± 0,25 ^{cd}	7,00 ± 0,00 ^{cd}
25	4,25 ± 0,25 ^{c-e}	2,25 ± 0,25 ^a	7,00 ± 0,00 ^{hi}	4,17 ± 0,17 ^c	6,00 ± 0,00 ^a	2,83 ± 0,17 ^a	9,00 ± 0,00 ^a	3,00 ± 0,17 ^a

26	6,17 ± 0,17 ^{hi}	5,00 ± 0,00 ^c	5,25 ± 0,25 ^{d-f}	7,25 ± 0,25 ^g	8,33 ± 0,33 ^f	4,83 ± 0,17 ^{c-e}	4,00 ± 0,00 ^f	6,50 ± 0,00 ^{bc}
27	7,00 ± 0,25 ⁱ	5,33 ± 0,33 ^c	6,50 ± 0,00 ^{gf}	8,33 ± 0,33 ^h	7,50 ± 0,00 ^{de}	5,00 ± 0,00 ^{d-f}	5,50 ± 0,25 ^{cd}	6,50 ± 0,25 ^{bc}

^{a-j} Različitaslova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa), uzorci 1,10,19; 4,13,22; 7,16,25 su ponovljeni radi lakšeg praćenja promena u okviru variranih parametara

Statistički značajno povećanje mirisa na karamel svojstveno je samo uzorcima keksa sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u melasi, a u uzorku 27 je maksimalno izražen i iznosi 5,33 od početnih 2, što je posledica određenog sadržaja melase u krajnjem proizvodu (tabela 29). Miris na začinsko bilje više je izražen u uzorcima keksa sa dodatkom svežeg sremuša, u odnosu na one sa dodacima osmotski dehidrisanih listova sremuša u R1 i R2, dok je zeljastom mirisu najviše doprineo dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u melasi. Keks sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi u odnosu na kontrolni keks ima veću senzornu čvrstoću, veću lomljivost, manju prhkost i veću topivost.

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na ukupne fenole, flavonoide i tiosufinate u keksu

Za ispitivanje promene sadržaja ukupnih fenola, flavonoida i tiosufinata, kao i za dalje analize, odabrani su uzorci keksa 9,18 i 27 sa dozom origana od 1% u sva tri uzorka i 2,5% listova svežeg sremuša, 2,5 % osmotski dehidrisanih u vodenom rastvoru saharoze i 2,5 % natrijum hlorida i osmotski dehidrisanih u melasi, redom. Promena ovih bioaktivnih jedinjenja u dobijenim uzorcima keksa praćena je u odnosu na njihov sadržaj u uzorku 1 (kontrolni keks), a rezultati su predstavljeni u tabeli 26.

Tabela 30. Rezultati određivanja ukupnih fenola, flavonoida i tiosufinata u keksu sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša

Uzorak	Ukupni fenoli (g EGK/ 100g s.m.)	Ukupni flavonoidi (g EK/100g s.m.)	Ukupni tiosulfinati (g EAC/ 100g s.m.)
Kontrolni keks	0,24±0,001 ^a	0,09±0,001 ^a	0,25±0,03
Keks sa svežim listovima sremuša	0,30±0,00 ^b	0,16±0,00 ^b	0,36±0,0 ^b
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1	0,25±0,001 ^a	0,12±0,001 ^{ab}	0,28±0,01 ^{ab}
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R2	0,42±0,001 ^c	0,22±0,0001 ^c	0,38±0,04 ^c

R1 – Vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2 – Melasa šećerne repe, EGK- ekvivalenti galne kiseline, EK- ekvivalenti katehina, EAC- ekvivalenti alicina

^{a-c} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$ (na osnovu post-hoc Tukey-evog HSD testa)

U odnosu na keks bez dodatka, u kom sadržaj ukupnih fenola iznosi 0,24 g EGK/100 g s.m., dodatak svežeg sremuša i origana je povećao sadržaj ukupnih fenola u keksu na 0,30 g EGK/100 g s.m., tj. za 25%. Sa dodatkom listova sremuša osmotski dehidrisanih u vodenom rastvoru šećera i soli

povećanje sadržaja ukupnih fenola je manje izraženo, i iznosi samo 5%. Nasuprot tome, dodatak osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi, doprineo je porastu količine ukupnih fenola u keksu na 0,42 g EGK/100 g s.m., tj. za 1,75 puta je povećan sadržaj ukupnih fenola u odnosu na kontrolni keks. Rezultati su u skladu sa prethodnom analizom sadržaja ukupnih fenola u sremušu pre i posle osmotske dehidracije u R1 i R2 (tabela 12), gde je pokazano da melasa doprinosi povećanom sadržaju fenola, dok R1 utiče na sniženi ukupni sadržaj fenola u sremušu.

Iz tabele 30 se takođe vidi da je keks obogaćen osmotski dehidrisanim sremušem u melasi pokazao sadržaj ukupnih flavonoida 2,4 puta veći od kontrolnog kekasa. Dodatak svežih listova sremuša u osnovni sirovinski sastav kekasa je povećao vrednost ukupnih flavonoida za 1,7 puta, a dodatak listova sremuša osmotski dehidrisanih u R1 za 1,3 puta. Najbolji rezultat u pogledu sadržaja ukupnih flavonoida u keksu sa sremušem osmotski dehidrisanim u R2 kao sastojkom, ukazuju na to da deo flavonoida iz melase unapređuje sastav ovog kekasa.

Isti trend su pratili i ukupni tiosulfinati, jer se dodatkom svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša u R1 i R2, povećava njihov sadržaj u odnosu na kontrolni uzorak kekasa. Najvećem porastu ukupnih tiosulfinata u odnosu na početni sadržaj doprineo je dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u melasi (1,52 puta), zatim dodatak svežeg sremuša (1,44 puta), a najmanje je doprineo dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u R1 (1,12 puta).

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na kvalitativni i kvantitativni profil polifenola u keksu

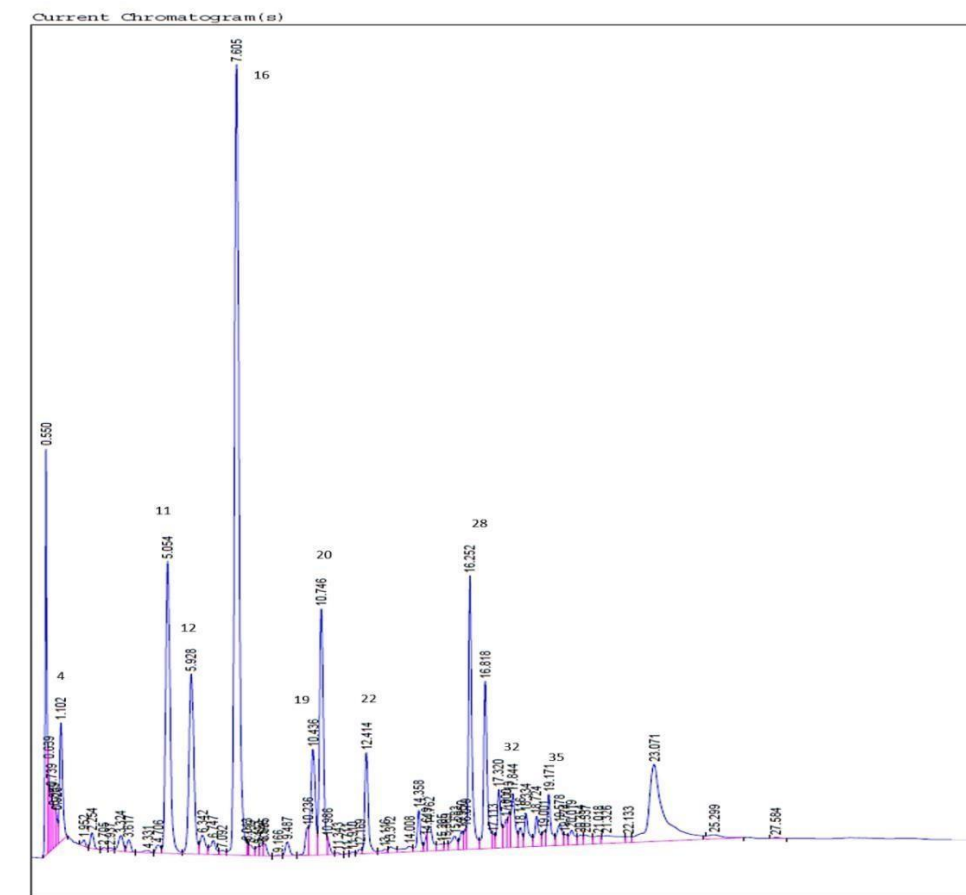
Identifikacija i kvantifikacija polifenola prisutnih u biljnim ekstraktima je komplikovan i kompleksan zadatak, s obzirom na veliku brojnost i raznovrsnost ovih jedinjenja koja pripadaju različitim klasama, i kojapored jednostavnih aglikonskih formi mogu biti u formi glikozida ili složenih polimera, a takođe se razlikuju i prema polarnosti (Zhang i sar., 2017).

Kvalitativni i kvantitativni profil najzastupljenijih detektovanih polifenolnih jedinjenja u ispitivanim uzorcima, primenom HPLC-DAD tehnike i upotrebom metanola kao rastvarača i ultrazvučne tehnike ekstrakcije prikazan je u tabeli 31. Sa dobijenih hromatograma su očitani najznačajniji pikovi, a fenolne komponente prisutne u uzorcima su identifikovane poređenjem retencionih vremena i spektara očitanih pikova sa retencionim vremenom i spektrom odgovarajućih standarda za svaku komponentu, i uz pomoć podataka dostupnih u literaturi (Tomšik i sar. 2017). Neki pikovi su ostali neidentifikovani, što se može objasniti činjenicom da se veliki deo prisutnih fenola nalazi u vezanoj formi (kao glikozidi ili polimeri) i teže ih je detektovati i kvantifikovati na osnovu dobijenih HPLC hromatograma.

Na osnovu rezultata izvedene HPLC analize, uočljiva je jasna razlika u hemijskom sastavumetanolnih ekstrakta svežeg i osmotski dehidrisanog sremuša, što se odrazilo i na različitost hemijskog sastava ekstrakata kekasa sa njihovim dodacima. Na osnovu dobijenog hromatograma (slika 33), najzastupljeniji fenolne komponente u uzorku svežeg sremuša su bile one kojima odgovaraju pikovi 4, 7, 11, 16, 19, 20, 22 i 28.

HPLC analiza metanolnih ekstrakata ispitivanih uzoraka potvrdila je prisustvo derivata dva flavonoida: kamferola i katehina i dve hidroksicimetne fenolne kiseline: ferulne i hlorogenske kiseline, kao najdominantnijih fenolnih jedinjenja. Do zaključka da su prisutni derivati (najverovatnije glikozidi), a ne čista jedinjenja kamferola, katehina, ferulne i hlorogenske kiseline, došlo se upoređivanjem njihovih apsorpcionih spektara i retencionih vremena sa standardima odgovarajućeg fenola. Uočeno je da postoji velika sličnost spektara i preklapanje maksimuma

apsorpcije čistog fenolnog jedinjenja i jedinjenja detektovanih u uzorcima, ali s obzirom da se eluiraju na različitim retencionim vremenima može se pretpostaviti da su u pitanju derivati istog jedinjenja. Na primer, derivatikamferola koji su identifikovani u najvećoj meri, imaju spektar podudaran sa aglikonom kamferola, ali različita retencionna vremena.



Slika 35. Hromatogram svežih listova sremuša sa obeleženim najznačajnijim pikovima

Na osnovu hromatograma prikazanog na slici 33, pikovi 16-27 mogu se smatrati derivatima kamferola. U poređenju sa ostalim detektovanim derivatima fenola, derivati kamferola su kvantitativno najsuperiorniji. Ukupna koncentracija derivata ovog flavonida u svežem sremušu iznosi 924,17 mg/100 g s.m. (tabela 31). To je u saglasnosti sa istraživanjima autora koji su ispitivali fenolni profil sremuša i dokazali da su glikozidi i derivati kamferola bili najdominantiji. Carutenuto i sar. (1996) identifikovali su u etanolnim ekstraktima sremuša pet glikozida kamferola, među kojima i dva vezana *p*-kumarinskom i ferulnom kiselinom. Wu i sar. (2009) su iz etanolnog ekstrakta sremuša uspeli da izoluju sedam glikozida kamferola, dok su Oszmiański i sar. (2013) u lišću sremuša identifikovali dvadesetjedno fenolno jedinjenje, i sva otkrivena jedinjenja su derivati kamferola. U svom radu, Oszmiański i sar. (2013) su za pripremu ekstrakata koristili metanol kao rastvarač sa dodatkom 1% sirćetne kiseline, i dobili su rezultat da ukupan sadržaj derivata kamferola u lišću sremuša iznosi 1856,31 mg/100g suve materije lišća. U skladu sa HPLC hromatogramima ekstrakata sremuša (Pavlović i sar., 2017) u metanolnom ekstraktu su pronađene najveće količine 3,7-kamferol-diglukozida i kamferol 3-glukozida, a ferulna kiselina je detektovana u tragovima.

Prema koncentraciji jedinjenja detektovanih u okviru ove disertacije, nakon derivata kamferola sledi derivat katehina, derivat ferulne i derivat hlorogenske kiseline. Takođe, u istraživanju autora Tomšik i sar. (2017), u ekstraktu sremuša koji je dobijen ekstrakcijom subkritičnom vodom,

je potvrđeno prisustvo katehina. Prisustvo ferulne kiseline je u skladu sa istraživanjem Vlase i sar. (2012) koji su u hidrolizovanom (dodatak kiseline) i nehidrolizovanom etanolnom ekstraktu sremuša, detektovali ferulnu i *p*-kumarinsku kiselinu, dok su kamferol detektovali samo u hidrolizovanom ekstraktu. Analiziranjem fenolnih profila više *Allium* vrsta, Parvu i sar. (2010) su identifikovali ferulnu i *p*-kumarinsku kiselinu u svim uzorcima, i zaključili da je *Allium ursinum* vrsta koja je najbogatija derivatima kamferola u odnosu na ostale analizirane vrste. Krivokapić i sar. (2020) su u metanolnom ekstraktu sremuša identifikovali i kvantifikovali kamferol 3-O-glukozid kao najzastupljeniju fenolnu komponentu (376 mg/ 100g suvog ekstrakta), zatim *p*-kumarinsku kiselinu, ferulnu kiselinu, slobodan kamferol i ursolnu kiselinu. U ekstraktu koji je pripremljen sa dodatkom kiseline kvantifikovana je veća koncentracija ovih fenolnih kiselina, jer je moguće da je hidroliza uticala na oslobađanje ovih jedinjenja iz forme glikozida (Gizir i sar., 2008, Vlase i sar., 2012). U odnosu na dostupna naučna istraživanja koja se bave analizom fenolnog profila sremuša i popriličnosu oskudna, HPLC analizom sprovedenom u okviru ove disertacije derivat hlorogenske kiseline u sremušu je identifikovan prvi put. Pored toga, identifikovan je i derivat naringenina koji je prisutan uveoma maloj količini u svežem sremušu (3,7 mg/100 g s.m.). Nakon osmotske dehidracije u oba osmotska rastvora dodatno mu opada koncentracija, a u uzorcima keksa derivat naringenina nije detektovan.

Tabela 31. Rezultati određivanja koncentracije dominantnih polifenola u ekstraktima ispitivanih uzoraka

Pik	RT (min)	Detektovano jedinjenje	Koncentracija (mg/100g s.m. uzorka)						
			Sveži listovi sremuša	Listovi sremuša dehidrisani u R1	Listovi sremuša dehidrisani u R2	Kontrolni keks	Keks sa svežim listovima sremuša	Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1	Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R2
4	1.1	derivat katehina	241,30	219,73	298,66	28,34	57,48	55,39	64,75
7	2.2	derivat naringenina	3,70	0,67	3,56	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
11	5	derivat hlorogenske kiseline	104,56	963,9	156,49	n.d.	10,25	10,02	12,89
16	7.6	derivat kampferola	556,73	524,19	563,40	n.d.	35,42	30,93	52,94
19	10.4	derivat kampferola	107,65	104,16	116,05	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
20	10.7	derivat kampferola	154,08	111,32	152,09	n.d.	9,37	7,37	10,34
22	12.4	derivat kampferola	105,71	104,01	109,31	n.d.	8,28	6,09	9,32
28	16.2	derivat ferulne kiseline	124,27	109,93	125,86	n.d.	11,04	10,03	14,07

RT- retenciono vreme, R1- Vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2- Melasa šećerne repe

Rezultati u tabeli 31 pokazuju da je proces osmotske dehidracije uticao na promenu početne koncentracije derivata katehina, kamferola, hlorogenske i ferulne kiseline. Osmotska dehidracija u rastvoru saharoze i natrijum hlorida uticala je na smanjene svih detektovanih derivata fenolnih jedinjenja, dok je osmotska dehidracija u melasi doprinela povećanju njihove koncentracije. Doprinos melase povećanju količine fenolnih komponenti prisutnih u sremušu može se objasniti činjenicom da je melasa bogata fenolima.

U radu Nićetin i sar., 2022, HPLC-DAD analizom je potvrđeno da melasa šećerne repe sadrži 86,07 mg/100 g s.m. katehina, 98,03 mg/100g s.m. kamferola, 156,06 mg/100g s.m. ferulne kiseline i 36,82 mg/100 g s.m. hlorogenske kiseline. U radu Cvetković i sar. (2019) nakon osmotske dehidracije kupusa u melasi, povećao se sadržaj kamferola, katehina, *p*-kumarinske, kafene i galne kiseline. Pozitivan uticaj upotrebe melase kao osmotskog rastvora na sadržaj fenolnih jedinjenja pokazao se i u ispitivanim uzorcima keksa.

U odnosu na sva četiri analizirana uzorka keksa, keks sa dodatkom osmotski dehidrisanog sremuša u melasi je imao najveću vrednost derivata katehina, kamferola, hlorogenske i ferulne kiseline. U istraživanju Filipčev i sar. (2015) dodatak melase šećerne repe u bezglutenskom keksu je doprineo povećanju većine identifikovanih fenolnih jedinjenja. Melasa u bezglutenskom keksu je uzrokovala povećanje sadržaja katehina, *p*-kumarinske kiseline, ferulne kiseline i galne kiseline. Sa druge strane, keks sa dodatkom osmotski dehidrisanog sremuša u rastvoru R1 imao je niže koncentracije fenolnih komponenti u odnosu na keks sa svežim sremušem. U kontrolnom keksu koji je bez dodataka detektovan je samo derivat katehina, koji potiče iz spelte.

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na promenu sadržaja betaina ukeksu

U dosadašnjoj literaturi postoje podaci da pekarski i konditorski proizvodi, posebno oni na bazi pšeničnog brašna sadrže niske nivoe betaina (Filipčev i sar., 2018). Sa ciljem da se poveća nivo betaina u ovim proizvodima i posledično unapredi dnevni unos betaina u ishrani populacije, predlaže se da se postojeće formulacije modifikuju uključivanjem sastojaka bogatih betainom poput melase šećerne repe, amarantusa, spelte, kinoe, prosa u sastav proizvoda.

Tabela 32. Rezultati određivanja sadržaja betaina u ispitivanim uzorcima

Uzorak	Sadržaj betaina (mg/100 g suve materije uzorka)
Melasa šećerne repe	5884,93
Melasa posle osmotske dehidracije	5439,55
Sveži listovi sremuša	n.d.
Listovi sremuša dehidrisani u R1	n.d.
Listovi sremuš dehidrisani u R2	4338,36
Kontrolni keks	540,89
Keks sa svežim listovima sremuša	315,25
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1	453,45
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R2	843,22

n.d. – količine ispod nivoa detekcije, R1- vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2- Melasa šećerne repe

Analiza betaina je pokazala da se u uzorku melase šećerne repe nalazi 5884,927 mg/100g s.m., što je u skladu sa literaturnim navodima da se u melasi nalazi 5-6% betaina (Filipčev i sar., 2015). Nakon procesa osmotske dehidracije listova sremuša, u melasi je ostalo 5439,55 mg/100g s.m., pa se može zaključiti da je oko 8% betaina iz melase (od ukupnih 17,46% SG) inkorporirano u dehidrisani

uzorak sremušaputem masenog trans fera. U uzorcima svežeg sremuša i sremuša osmotski dehidrisanog u rastvoru saharoze i natrijum hlorida količina analiziranog betaina je bila ispod nivoa detekcije (tabela 32). S druge strane, u 100 g suve materije listova sremuša dehidrisanih u melasi nalazi se oko 4 g betaina iz melase.

U kontrolnom keksu bez dodatka detektovana je značajna količina betaina od 540 mg/100g, kojoj najverovatnije u potpunosti doprinosi integralno speltino brašno. U istraživanju Kojić i sar., (2017) speltino brašno je procenjeno kao najbogatije betainom, u odnosu na brašna ostalih žita. Svež sremuš dodat u formulaciju keksa smanjio je ukupan sadržaj betaina u kontrolnom keksu za oko 42%. Sremuš dehidrisan u rastvoru saharoze i natrijum hlorida je dodat u manjoj količini zbog većeg sadržaja suve materije i smanjio je ukupni sadržaj betaina u keksu manje u odnosu na keks sa svežim sremušem, za oko 17%. Dodatak u količini od 2,5% sremuša dehidrisanog u melasi (računato na brašno) doprineo je povećanju sadržaja betaina za 56% tj., 1,56 puta je veći sadržaj betaina u keksu sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi, u odnosu na kontrolni keks.

Veći dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u melasi koji je moguć do 30% povećao bi sadržaj betaina za oko 18 puta. To je maksimalno moguće povećanje. Dobijeni rezultati u skladu su sa prethodnim istraživanjima koja su pokazala da obogaćivanje produkata na bazi žita sa melasom šećerne repe, čak i pri nižim udelima, značajno povećava sadržaj betaina i može se smatrati praktičnim načinom da se poboljša zdravstveni efekat produkta (Filipčev i sar., 2018). Dodatak melase šećerne repe u uobičajenu formulaciju keksa značajno je povećao sadržaj betaina od 11 mg/100g s.m. do 473 mg/100 g (Filipčev i sar., 2015). U bezglutenskom keksu obogaćenom sa 30%melase (računato na brašno) nivo betaina je približno 64 puta povećan u odnosu na kontrolni keks (Filipčev i sar., 2016a).

Porcija100g keksa od brašna spelte celog zrna sa dodatkom sremuša osmotski dehidrisanog u melasi obezbeđuje unos 843 mg betaina, što je više od preporučene dnevne porcije koja iznosi 500 mg i malo više od pola preporučene dnevne količine betaina (1500 mg/dan) koja doprinosi normalnom metabolizmu homocisteina, prema evropskoj regulativi (Commision Regulation EU No. 432/2012).

Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na promenu sadržaja dijetnih vlakana u keksu

Na osnovu rezultata u tabeli 33, može se zaključiti kako je dodatak origana i sremuša (svežeg i osmotski dehidrisanog u oba rastvora), u maksimalnim odabranim udelima u okviru ove disertacije, uticao na promenu sadržaja ukupnih i nerastvorljivih dijetnih vlakana u dobijenim uzorcima keksa.

Uočava se da sve četiri vrste keksa sadrže značajan procenat dijetnih vlakana, u čemu prednjači keks obogaćen svežim sremušem, sa sadržajem ukupnih vlakana od 17,03% i nerastvorljivih vlakana od 6,96%. Ovaj rezultat ukazuje na to da su listovi sremuša dobar izvor rastvorljivih i nerastvorljiva vlakna, i kao dodatak keksu mogu ga značajno obogatiti ovim,sa nutritivnog i zdravstvenog aspektavažnim ugljenim hidratima. Poznato je da dijetna vlakna imaju potencijalnu ulogu u smanjenju rizika od hipertenzije, gojaznosti, dijabetesa, bolesti srca, moždanog udara i određenih gastrointestinalnih poremećaja, zbog čega je preporuka da se dijetetska vlakna koriste u ishrani u količini od 25–35 g dnevno (Jagelaviciute i sar., 2022). Dodatak svežih listova sremuša u osnovni sirovinski sastav keksa (2,5% s.m. računato na brašno), uticao je na povećanje sadržaja ukupnih dijetnih vlakana za 24,67%, a nerastvorljivih vlakana za 15,6% u odnosu na keks bez dodatka.

Ista količina sremuša osmotski dehidrisanog u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida smanjila je početni sadržaj ukupnih dijetnih vlakana za 12,17% i celuloze za 10,6%. Do smanjenja sadržaja vlakana u odnosu na kontrolni keks dolazi zbog toga što se deo brašna supstituiše osmotski dehidrisanim listovima sremuša koji u svom sastavu suve materije imaju veći deo šećera i soli, nego komponenti iz sremuša. Suprotno tome, dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u melasi doprineo je povećanju količine ukupnih dijetnih vlakana, ali manje u poređenju sa dodatkom svežeg sremuša, za 10,27%, dok je sadržaj nerastvorljivih vlakana ostao gotovo nepromenjen. Dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasiu sirovinski sastav keksa se unosi manji deo (oko 30%) rastvorljivih i nerastvorljivih vlakana iz sremuša, i veći deo suve materije iz melase (oko 70%), koja u izvesnom procentu sadrži rastvorljiva dijetna vlakna, ali ne i nerastvorljiva (Filipčev i sar., 2015a).

Tabela 33. Rezultati određivanja ukupnih i nerastvorljivih dijetnih vlakana u uzorcima keksa

Uzorak keksa	Ukupna dijetna vlakna (%)	Nerastvorljiva dijetna vlakna (%)
Kontrolni keks	13,66	4,46
Keks sa svežim listovima sremuša	17,03	6,96
Keks sa listovima sremuša dehidrisanim u R1	11,22	4,20
Keksa sa listovima sremuša dehidrisanim u R2	14,04	4,47

R1- vodeni rastvor NaCl i saharoze, R2- Melasa šećerne repe

Iako je dodatak svežeg sremuša u količini od 2,5% s.m. direktno doprineo da se dobije keks sa navećim procentom ukupnih dijetnih vlakana, za 1,24 puta više nego kod kontrolnog keksa, treba imati u vidu da je ovo maksimalno moguć dodatak svežeg sremuša kakose ne bi narušila tekstura testa. U slučaju dodavanja osmotski dehidrisanih listova sremuša u formulaciju keksa su moguće više doze dodataka, pa se očekuje i poboljšani uticaj na sastav vlakana keksa. Maksimalni moguć dodatak osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi (30% s.m. računato na brašno, tj. 101,8g), povećao bi količinu ukupnih dijetnih vlakana za 12,3 puta u odnosu na keks bez dodataka.

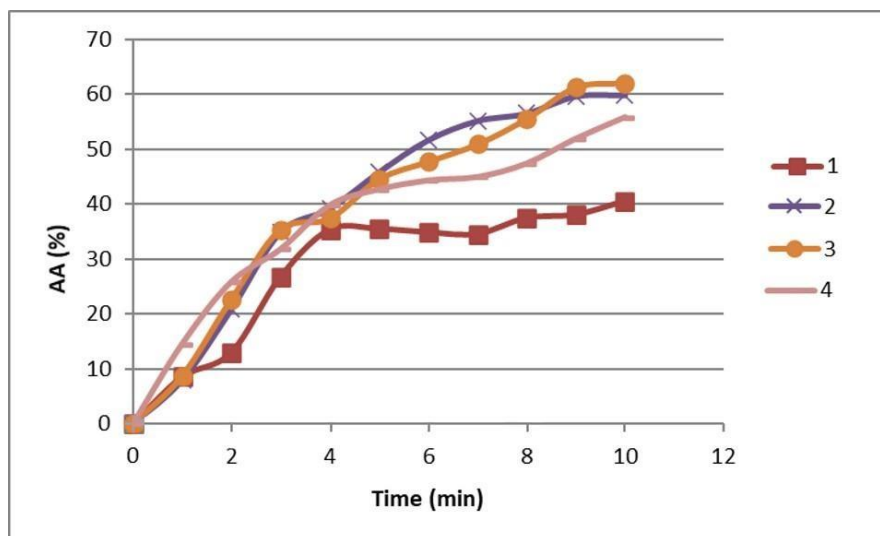
Uticaj dodatka osmotski dehidrisanih listova sremuša na antioksidativnu aktivnost keksa nakon *in vitro* digestije

Primena *in vitro* digestije kao modela, daje uvid u ponašanje bioaktivnih jedinjenja iz hrane nakon prolaska kroz digestivni trakt čoveka. Za vreme digestije aktivna jedinjenja uzorka su izložena različitim uslovima sredine kao što su promena pH, prisustvo želudačnih i crevnih sokova, delovanje enzima, pa je potrebno ispitati njihov uticaj na bioaktivnost uzorka. Osim svarljivosti važno je da jedinjenje zadrži ili oslobodi neku biološku aktivnost koja neće biti narušena nakon digestije (Minekus i sar., 2014; Čakarević, 2021).

U okviru ovog istraživanja, proces digestije je simuliran radi procene bioaktivnih osobina i otpornosti aktivnih jedinjenja, kada bi se keks konzumirao direktno. Ispitane su bioaktivne osobine kontrolnog keksa, keksa sa svežim sremušem, keksa sa sremušem osmotski dehidrisanim u vodenom rastvoru NaCl i saharoze i keksa sa osmotski dehidrisanim sremušem u melasi, koji prođu kroz uslove gastrointestinalnog trakta. Antioksidativna aktivnost ova 4 uzorka pre i posle digestije prikazana je na slici 34.

Antioksidativna aktivnost hidrolizata keksova, dobijenih *in vitro* digestijom, ispitana je metodom neutralizacije ABTS katjon radikala i beležena je svakog minuta u vremenskom toku od 10

minuta. Dobijena aktivnost (AA) izražena je kao procenat (%). Prema prikazanim rezultatima dokazano je da svi uzorci nakon digestije poseduju određene biološke aktivnosti.



Slika 36. Antioksidativna aktivnost uzoraka (1-4) posle digestije, uzorak 1-kontrolni keks, uzorak 2-keks sa svežim listovima sremuša, uzorak 3- keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u melasi, uzorak 4- keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u vodenom rastvoru NaCl i saharoze

Kod svih uzoraka uočava se sličan trend krive, gde antioksidativna aktivnost raste tokom vremena i dostiže maksimalnu vrednost nakon 10 minuta. Na osnovu prikazanih rezultata, uočava se da je najmanja aktivnost uklanjanja ABTS radikala nakon digestije zabeležena kod kontrolnog uzorka keksova, i iznosi 40%. Uzorci keksova obogaćenih svežim i osmotski dehidrisanim sremušem imaju veću antioksidativnu aktivnost u odnosu na kontrolni uzorak. Najveća aktivnost je izmerena za keks obogaćen osmotski dehidrisanim sremušem u melasi od oko 63%, a nešto manja za keks sa osmotski dehidrisanim sremušem u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida od oko 56%. Hidrolizat keksova sa svežim sremušem takođe ima izraženu sposobnost neutralizacije ABTS⁺ radikala, gde AA dostiže vrednost od 60%.

Povećanje antioksidativne aktivnosti hidrolizata uzorka keksova tokom prolaska kroz digestivni trakt može biti posledica oslobađanja sadržaja fenolnih komponentata u enzimskim procesima. U istraživanju Čakarević (2021), pokazano je da svi ispitivani keksovi obogaćeni inkapsulatom (proteinski izolat i sok cvekle) nakon digestije poseduju antioksidativnu aktivnost, pri čemu je najveća aktivnost (oko 80%) izmerena pri najvećem dodatku inkapsulata (30%). Pretpostavljeno je da do povećanja aktivnosti dolazi zahvaljujući prisustvu fenolnih komponenti iz soka cvekle i peptida koji se oslobađaju iz proteina.

Ovakvi rezultati ukazuju na to da ispitivani uzorci keksova nakon direktne konzumacije tj. izloženosti utičaju gastrontestinalnog trakta, pokazuju dobro svojstvo hvatača slobodnih radikala. Prema tome, obogaćivanje keksova sremušem, a pre svega sremušem osmotski dehidrisanim u melasi može povećati antioksidativnu aktivnost proizvoda prilikom njegovog konzumiranja.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata dobijenih ispitivanjem efikasnosti procesa osmotske dehidracije i uticaja odabranih uslova procesa na nutritivna, mikrobiološka i antioksidativna svojstva listova sremuša, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Oba kinetička parametra, gubitak vode i priraštaj suve materije, proučavana kao pokazatelji efikasnosti osmotske dehidracije listova sremuša u melasi i vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida, statistički značajno rastu sa povećanjem trajanja i temperature procesa. Najviše vrednosti gubitka vode (0,811 g/g p.u. za sremuš osmotski dehidrisan u melasi i 0,618 g/g p.u. za sremuš osmotski dehidrisan u rastvoru saharoze i natrijum hlorida) i prirasta suve materije (0,208 g/g p.u. za sremuš osmotski dehidrisan u melasi i 0,242 g/g p.u. za sremuš osmotski dehidrisan u vodenom rastvoru soli i šećera) su postignute pri najvišim režimima procesa, nakon četvoročasovne imerzije listova sremuša, na temperaturi od 50°C, pri čemu je u pogledu efikasnosti osmotske dehidracije melasa šećerne repe okarakterisana kao superiorniji osmotski rastvor.
- Osmotskom dehidracijom u melasi povećan je sadržaj suve materije sremuša od 2,6 (1 h, 20°C) do 8,8 puta (4 h, 50°C) u odnosu na početni sadržaj suve materije svežih listova sremuša (7,91%), dok je isti proces u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida doprineo povećanju krajnjeg saržaja suve materije listova sremuša u rasponu od 2,2 (1 h, 20°C) do 6,5 puta (4 h, 50°C). Očigledno je da je upotreba melase kao osmotskog rastvora rezultovala višim vrednostima sadržaja suve materije u uzorcima, pri svim ispitivanim uslovima procesa, u poređenju sa osmotskim rastvorom šećera i soli.
- U poređenju sa vodenim rastvorom šećera i soli, melasa je efikasniji osmotski rastvor i u pogledu održivosti listova sremuša, jer je u svim analiziranim uzorcima, pri istim uslovima procesa, doprinela dostizanju nižih a_w vrednosti. Posle četvoročasovne osmotske dehidracije, na temperaturi od 50°C izmerene su najniže a_w vrednosti: 0,658 za sremuš osmotski dehidrisan u melasi i 0,706 za sremuš osmotski dehidrisan u vodenom rastvoru, koje su ograničavajuće za rast većine bakterija, kvasaca i plesni.
- Upotrebom metode odzivne površine su definisani matematički modeli na osnovu kojih se mogu predvideti željeni odzivi postupka osmotske dehidracije, u zavisnosti od ulaznih parametara. Takođe, statističkom analizom je utvrđeno da je vreme uticajniiji parametar u odnosu na temperaturu.
- Mikrobiološkom analizom potvrđeno je da je osmotska dehidracija u oba primenjena rastvora statistički značajno doprinela smanjenju inicijalnog broja *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* i koliformnih bakterija, ukupnog broja mikroorganizama, kvasaca i plesni u listovima sremuša, pri čemu su bolji rezultati postignuti dehidracijom u melasi šećerne repe.
- Ispitivanjem hemijskog sastava, uočeno je da sadržaj proteina, celuloze i masti ostaje nepromenjen u listovima sremuša nakon osmotske dehidracije u oba rastvora. Osmotskom dehidracijom došlo je do inkorporacije redukujućih šećera iz osmotskih rastvora (10,08 % iz vodenog rastvora i 9,77% iz melase) u dehidrisani sremuš. Takođe, sadržaj pepela u osmotski dehidrisanim uzorcima je povećan u odnosu na sveže listove. Za oko 4% je veći sadržaj pepela nakon dehidracije u vodenom rastvoru NaCl i saharoze, kao rezultat usvajanja soli (natrijuma) putem masenog transfera tokom procesa, a za oko 2% nakon dehidracije u melasi šećerne repe, kao posledica inkorporacije mineralnih materija iz melase.
- Nakon osmotske dehidracije u rastvoru saharoze i natrijum hlorida, količina K i Mg u listovima sremuša se smanjila za oko 30%, a količine Ca, Fe, Zn, i Cu za oko 40%, kao posledica difuzije dela ćelijskih sokova iz tkiva sremuša u okolni rastvor. Nasuprot tome, melasa je zbog svog bogatog mineralnog sastava putem masenog transfera uticala na

povećanje Ca i Mg za oko 1,2 puta, Cu i Zn oko 1,8 puta, K 3,56 puta i Fe 6 puta u osmotski dehidrisanim listovima sremuša. Takođe, porast Na u listovima osmotski dehidrisanim u melasi je manje izražen u odnosu na porast Na u onim osmotski dehidrisanim u vodenom rastvoru, pa, sa zdravstvenog i nutritivnog aspekta, melasa kao osmotski rastvor predstavlja mnogo povoljniji izbor.

- Proces osmotske dehidracije koji se odvija na sobnoj temperaturi u trajanju od 4 sata u rastvoru šećera i soli, uticao je na smanjenju ukupne antioksidativnosti u ispitivanim uzorcima listova sremuša, za oko 20% određeno ABTS metodom, i oko 10% mereno DPPH metodom u odnosu na početnu antioksidativnost svežih listova. Pri istim uslovima procesa, osmotska dehidracija u melasi, doprinela je povećanju antioksidativnosti testirane ABTS i DPPH metodama, za oko 15% u odnosu na inicijalne vrednosti svežeg sremuša.
- Nakon osmotskog sušenja u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida, sadržaj ukupnih fenola i flavonoida je redukovano za oko 10% u odnosu na kontrolni uzorak listova sremuša. Melasa šećerne repe, kao osmotski rastvor, je uticala na porast ukupnih fenola za oko 10% i flavonoida za oko 15%, u dehidrisanim listovima sremuša, putem sekundarnog transfera ovih bioaktivih jedinjenja iz melase u tkivo listova tokom procesa.
- S obzirom da su tiosulfinati termolabilni, četvoročasovna osmotska dehidracija listova sremuša na sobnoj temperaturi u oba rastvora, utiče na blago smanjenje ukupnih tiosulfinata, s tim da nakon dehidracije u melasi gubitak tiosulfinata nije statistički značajan.

Ispitivanje uticaja dodatka svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša i origana na odabrane parametre kvaliteta slanog keksa od integralnog speltinog brašna, dovelo je do sledećih zaključaka :

- Analiziranjem parametara teksture uzoraka keksa kreiranih prema eksperimentalnom planu, utvrđeno je da uzorak bez dodatka (kontrolni) ima najveću čvrstoću (5930,26 g), a najmanju (4071,82 g) uzorak keksa sa najvećim dodatkom listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi (2,5% na s.m. brašna) i origana (1% na s.m. brašna). U odnosu na kontrolni keks, dodatak 1% origana, 2,5 % svežeg sremuša, 2,5% sremuša dehidrisanog u vodenom rastvoru saharoze i soli i istog procenta listova sremuša dehidrisanih u melasi, je doveo do povećanja lomljivost keksa za 2,23, 2,35 i 2,59 puta, redom.
- Instrumentalna analiza boje keksa je pokazala da se u odnosu na početnu vrednost L^* (67,43), sa dodatkom origana i listova sremuša (svežeg i osmotski dehidrisanog) statistički značajno smanjuje svetloća keksa, a dodatno povećavanjem udela njihovog udela. Najtamniji (vrednost parametra L^* 60,04) je bio uzorak keksa u koji je dodata maksimalna količina listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi (2,5%) i origana (1%), čemu doprinose obojene materije iz melase, pre svega melanoidini.
- Bez obzira na vrstu i ideo dodatka, za vrednost parametra a^* , u svim uzorcima keksa uočen je trend statistički značajnog smanjenja u odnosu na kontrolni uzorak, i porast udela zelene boje, pri čemu je porast udela zelene boje najviše izražen u keksu sa 2,5% dodatog osmotski dehidrisanih listova sremuša u rastvoru saharoze i natrijum hlorida i 1% origana, gde vrednost parametra a^* iznosi -1,71.
- Vrednosti udela žutih tonova u keksu (parametar b^*), kao i razlika u obojenosti i tonovima (C i h) su bile statistički značajno povećane sa povećanjem odgovarajućih dodatka u sirovinski sastav keksa, s tim da je najveći uticaj na rast ovih parametara postignut dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi.
- Ukupan sadržaj skroba i masti u slanom keksu se smanjuje dodatkom svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša i origana, zbog uključivanja sirovina koje ne sadrže ove komponente u osnovnu formulaciju keksa, dok se ukupan sadržaj proteina ne menja značajno.
- Sadržaj celuloze u keksu sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u vodenom rastvoru šećera i soli i melasi je niži u poređenju sa keksom sa dodatim svežim sremušem, s obzirom

da deo suve materije u osmotski dehidrisanim listovima sremuša potiče iz osmotskih rastvora koji ne sadrže celulozu.

- Ukupni sadržaj šećera u keksu se smanjuje sa dodatkom svežeg origana i sremuša, dok dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u šećerno-slanom rastvoru i melasi dovodi do povećanja sadržaja ukupnih šećera u keksu.
- Ukupan sadržaj pepela u uzorcima keksa se povećao sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša, zbog toga što se usled njihovih prirasta suve materije tokom procesa, u formulaciju keksa uvode minerali iz melase i natrijum iz vodenog rastvora.
- Pri istom udelu dodataka, u dobijenim uzorcima keksa, najveći sadržaj Zn, Cu, Fe i K je postignut dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi, što je direktan doprinos visokog sadržaja ovih minerala u melasi šećerne repe. U odnosu na početni sadržaj ovih minerala u kontrolnom keksu, maksimalno povećanje je uočeno za keks sa najvećim udelom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi (2,5%) i origana (1%): 27,75% za Zn, 47,03% za Cu, 49,69% za Fe i 17,6% za K.
- Dodatak svežeg sremuša najviše je uticao na povećanje Mg i Ca u dobijenim uzorcima keksa. Uzorak sa maksimalnim količinama svežeg sremuša i origana (2,5% i 1%), povećao je sadržaj Mg za 11%, a sadržaj Ca za 26,2% u odnosu na polazni uzorak. U poređenju sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida sirovinskom sastavu keksa, bolji rezultat u pogledu povećanja sadržaja Mg i Ca je ostvaren dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi. Uzorak keksa sa 1% origana i maksimalnim udelom osmotski dehidrisanog sremuša u melasi doprineo je povećanju sadržaju Mg za 9,2% i Ca za 17,7%, a sa maksimalnim udelom osmotski dehidrisanih listova sremuša u vodenom rastvoru, porastu Mg za 6,2% i Ca za 13,3%, u odnosu na keks bez dodataka.
- Povećanju antioksidativne aktivnosti keksa značajno je doprineo dodatak kako svežih, tako i osmotski dehidrisanih listova sremuša, pri čemu je pri istim količinama na poboljšanje ukupne antioksidativnosti najviše uticao dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u melasi, zatim svež sremuš, a najmanje sremuš osmotski dehidrisan u vodenom rastvoru. Najniža koncentraciju potrebna za inhibiciju 50% ABTS i DPPH radikala, 12,37 mg/ml i 62,80 mg/ml, određena je za uzorak koji u svom sastavu ima 2,5% listova sremuša osmotski dehidrisanih u melasi i 1% origana.
- Razvijeni matematički modeli su se dobro poklapali sa eksperimentalnim rezultatima i pokazali su se kao adekvatni za predviđanje karakteristika kvaliteta keksa u zavisnosti od vrste i količine dodataka.
- Dodatak origana i listova sremuša (svežeg i osmotski dehidrisanih) u izvesnoj meri je menjao deskriptore za karakterističan izgled keksa, uticao na hrapaviji izgled površine keksa, povećao intenzitet boje, a smanjio njenu ujednačenost, u odnosu na keks bez dodataka. Na osnovu rezultata senzorne analize može se zaključiti da je ukus slanog keksa sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša u melasi prijatan i prihvatljiv potrošačima, ali kompleksiji u odnosu na ostale uzorke keksa, zbog toga što menja ukus i miris na karamel, kao i deskriptor za zeljast miris. Keks sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi ima veću čvrstoću, veću lomljivost, manju prhkost i veću topivostu odnosu na kontrolni keks.
- U odnosu na keks bez dodataka (sadržaj ukupnih fenola 0,24 g EGK/100 g s.m.), dodatak svežeg sremuša i origana je povećao sadržaj ukupnih fenola u keksu za 25%, dodatak listova sremuša osmotski dehidrisanih u vodenom rastvoru šećera i soli za samo 5%, dok je dodatak osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi doprineo porastu količine ukupnih fenola u keksu na 0,42 g EGK/100 g s.m., tj. za 1,75 puta je povećan sadržaj ukupnih fenola u odnosu na kontrolni keks. Takođe, u keksu obogaćenom osmotski dehidrisanim listovima sremuša u melasi utvrđen je 2,4 puta veći sadržaj ukupnih flavonoida nego u kontrolnom keksu. U odnosu na početni sadržaj ukupnih tiosulfinata, povećanju je najviše doprineo dodatak

osmotski dehidrisanog sremuša u melasi u osnovni sirovinski sastav keksa (1,52 puta), zatim dodatak svežih listova sremuša (1,44 puta), a najmanje dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u vodenom rastvoru (1,12 puta).

- Kvalitativna i kvantitativna analiza fenolnog profila svežeg sremuša potvrdila je prisustvo derivata kamferola kao najdominantnijih (924,17 mg/100g s.m.), zatim sledi derivat katehina (241,30 mg/100g s.m), derivat ferulne (124,27 mg/100g s.m) i derivat hlorogenske kiseline (104,56 mg/100g s.m). Identifikovan je i derivat naringenina, prisutan u maloj koncentraciji u svežem sremušu (3,7 mg/100g s.m.), kojem nakon osmotske dehidracije u oba osmotska rastvora dodatno opada koncentracija, a u uzorcima keksa nije detektovan. Osmotska dehidracija u rastvoru saharoze i natrijum hlorida uticala je na smanjene početne koncentracije detektovanih derivata fenola, dok je osmotska dehidracija u melasi doprinela povećanju njihove koncentracije. Pozitivan uticaj upotrebe melase kao osmotskog rastvora na sadržaj fenolnih jedinjenja pokazao se i u ispitivanim uzorcima keksa. U odnosu na sva četiri analizirana uzorka keksa, keks sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi je imao najveću koncentraciju derivata katehina, kamferola, hlorogenske i ferulne kiseline.
- Kao rezultat upotrebe speltinog integralnog brašna, u kontrolnom keksu je detektovana značajna količina betaina od 540 mg/100g. Sveži listovi sremuša dodati u formulaciju keksa smanjili su ukupan sadržaj betaina u kontrolnom keksu za oko 42%, sremuš dehidrisan u rastvoru saharoze i natrijum hlorida uticao je na smanjenje sadržaja betaina u keksu za oko 17%, dok je dodatak od 2,5% sremuša dehidrisanog u melasi doprineo povećanju sadržaja betaina za 56%. Drugim rečima, 1,56 puta je veći sadržaj betaina u keksu sa dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi, u odnosu na kontrolni keks. Veći udeo dodataka osmotski dehidrisanih listova sremuša u melasi u osnovni sirovinski sastav keksa, koji je moguć do 30%, povećala bi sadržaj betaina za oko 18 puta.
- Porcija 100 g keksa od integralnog brašna spelte sa dodatkom sremuša osmotski dehidrisanog u melasi obezbeđuje unos 843 mg betaina, što je više od preporučene dnevne doze koja iznosi 500 mg i malo više od pola preporučene dnevne količine betaina (1500 mg/dan) koja doprinosi normalnom metabolizmu homocisteina, prema preporuci Evropske komisije (Commission Regulation EU No. 432/2012).
- U odnosu na keks bez dodataka, svež i sremuš osmotski dehidrisan u melasi su uticali na povećanje sadržaja ukupnih dijetnih vlakana za 24,67% i 10,27%, dok je dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida doveo do smanjenja udela vlakana za 12,17%. Dodatak svežeg sremuša je doprineo povećanju procenta nerastvorljivih vlakana, dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u vodenom rastvoru je doprineo sniženju, a dodatak osmotski dehidrisanog sremuša u melasi nije uticao sadržaj nerastvorljivih vlakana.
- Najmanja aktivnost uklanjanja ABTS radikala nakon digestije zabeležena je kod kontrolnog uzorka keksa, i iznosila je 40%. Najveća aktivnost je izmerena za keks obogaćen osmotski dehidrisanim listovima sremuša u melasi od oko 63%, zatim keks obogaćen svežim sremušem gde sposobnost neutralizacije radikala dostizala vrednost od 60%, a nešto manja aktivnost izmerena je za keks sa osmotski dehidrisanim sremušem u vodenom rastvoru saharoze i natrijum hlorida od oko 56%. Povećanje antioksidativne aktivnosti hidrolizata uzoraka keksa tokom prolaska kroz digestivni trakt, je najverovatnije posledica oslobađanja sadržaja fenolnih komponenata u enzimskim procesima.
- U okviru ove disertacije kreiran je inovativni, nutritivno poboljšani, keks na bazi speltinog brašna, kroz čiju se proizvodnju valorizuje sporedni proizvod prehrambene industrije šećera – melasa šećerne repe. Uspešno realizovana istraživanja pokazala su da se dodatkom osmotski dehidrisanih listova sremuša na ekonomski prihvatljiv, energetski efikasan i ekološki pogodan način može proizvoditi slani keks unapređenih nutritivnih i funkcionalnih svojstava, bez negativnih efekata na njegove senzorne i teksturalne karakteristike.

7. LITERATURA

- AACC 10-50D (2000).: "Baking Quality of Cookie Flour", Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 10th ed. AACC International, St. Paul, MN, USA.
- Abdel-Aal E.S.M. i Hucl P. (2002). Amino acid composition and *invitro* protein digestibility of selected ancient wheats and their end products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 737-747.
- Abdel-Aal E.S.M. i Hucl P. (2005). Spelt: a specialty wheat for emerging food uses. In: Abdel-Aal E.S.M., Wood P.: Specialty grains for food and feed. St Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemists, 109-141.
- Abdel-Aal E-SM i Rabalski I. (2008). Effect of baking on nutritional properties of starch in organic spelt whole grain products. *Food Chemistry*, 111, 150-156.
- Ahmed I., Mabood Qazi I., Jamal S. (2016). Developments in osmotic dehydration technique for the preservation of fruits and vegetables, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 34, 29-43.
- Akbarian M., Ghasemkhani N., Moayedi, F. (2014). Osmotic dehydration of fruits in food industrial: A review. *International Journal of Biosciences*, 4, 42-57.
- Almeida J., Mussi L., Oliveira D., Pereira N. (2015). Effect of temperature and sucrose concentration on the retention of polyphenol compounds and antioxidant activity of osmotically dehydrated bananas. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39, 1061-1069.
- Arendt E., Zannini E. (2013). Cereal grains for the food and beverage industries, Woodhead Publishing, Elsevier, Cambridge, UK.
- Asikin Y, Takahashi M, Mishima T, Mizu M, Takara K, Wada K. (2013). Antioxidant activity of sugarcane molasses against 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride-induced peroxy radicals. *Food Chemistry*, 141, 466-72.
- Atares L., Sousa Gallagher M.J., Oliveira F.A.R. (2011). Process conditions effect on the quality of banana osmotically dehydrated. *Journal of Food Engineering*, 103, 401-408.
- Barak A.J., Beckenhauer H.C., Maillard M.E., Kharbanda K.K., Tuma D.J. (2003). Betain lowers elevated S-adenosylhomocysteine levels in hepatocytes from ethanol-fed rats. *Journal of Nutrition*, 133, 2845-2848.
- Bârlă G. F., Poroch – Serîţan M., Sănduleac (Tudosî) E., Ciornei (Ştefăroi) S.E. (2014). Antioxidant activity and total phenolic content in *Allium ursinum* and *Ranunculus ficaria*, *Journal of Faculty of Food Engineering*, XIII (4), 349-353.
- Błażewicz-Woźniak M. i Michowska A. (2011). The growth, flowering and chemical composition of leaves of three ecotypes of *Allium ursinum* L., *Acta Agrobotanica*, 64, (4), 171-180.

- Bodroža S. M., Vujić Đ., Ačanski M., Pezo L., Filipčev B., Mladenov N. (2014). Characterization of the liposoluble fraction of common wheat (*Triticum aestivum*) and spelt (*T. aestivum* ssp. *spelta*) flours using multivariate analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94 (13), 2613-2617.
- Bodroža S.M. i Filipčev B. (2020). Spelt vs common wheat: potential advantages and benefits. *Acta Innovations*, 35, 57-64.
- Bonafaccia G., Galli V., Francisci R., Mair V., Skrabanja, V., Kreft I. (2000). Characteristics of spelt wheat products and nutritional value of spelt wheat-based bread. *Food Chemistry*, 68 (4), 437-441.
- Burg M., Ferraris J., Dmitrieva N. (2007). Cellular response to hyper osmotic stresses. *Physiological Reviews*, 87(4),1441-1474.
- Caleja C., Barros L., Antonio A.L., Oliveira M.B.P.P, Ferreira I.C.F.R. (2017). A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits, *Food Chemistry*, 216, 342-346.
- Carotenuto, A., De Feo, V., Fattorusso, E., Lanzotti, V., Magno, S., Cicala, C. (1996). The flavonoids of *Allium ursinum*, *Phytochemistry* 41, 531–536.
- Champawat P.S., Waghmode A.S., Mudgal V.D., Madhu B. (2019). Effect of temperature and salt concentration during osmotic dehydration of garlic cloves. *International Journal of Seed Spices*, 9, 61-66.
- Chauhan A., Saxena D. C., Singh S. (2015). Total dietary fibre and antioxidant activity of gluten free cookies made from raw and germinated amaranth (*Amaranthus* spp.) flour. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 939-945.
- Chen M., Meng H., Zhao Y., Chen F., Yu S. (2015). Antioxidant and in vitro anticancer activities of phenolics isolated from sugar beet molasses. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 313- 321.
- Chen M, Zhao Z., Yu S. (2016). Cytotoxicity and apoptotic effects of polyphenols from sugar beet molasses on colon carcinoma cells in vitro. *International Journal of Molecular Sciences*, 17,993-1003.
- Chen M., Zhao Z., Meng H., Professor S. Y. (2017). The antibiotic activity and mechanisms of sugar beet (*Beta vulgaris*) molasses polyphenols against selected food-borne pathogens,*LWT - Food Science and Technology*, 82, 354-360.
- Chirife J., Fontana Jr.A.J. (2007). Introduction: Historical highlights of water activity in water activity in foods fundamentals and applications, Barbosa-Cánovas G.V., Fontana Jr., A.J., Schmidt S.J., Labuza, T.P. (Edt.), Blackwell Publishing.
- Coccimiglio J., Alipour M., Jiang Z.H., Gottardo C., Suntres Z. (2016). Antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activities of the ethanolic *Origanum vulgare* extract and its major constituents. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 1404505. doi: 10.1155/2016/1404505.
- Collignan A., Bohuon P., Deumier F., Poligne I. (2001). Osmotic treatment of fish and meat products.

Journal of Food Engineering, 49, 153-162.

- Condrat D., Mosoarca C., Zamfir A., Crisan F., Szabo M., Lupea A. (2010). Qualitative and quantitative analysis of gallic acid in *Alchemia vulgaris*, *Allium ursinum*, *Acorus calamus* and *Solidago virga-aurea* by chip-electrospray ionization mass spectrometry and high performance liquid chromatography. Central European Journal of Chemistry, 8, 530-535.
- Craig S.A. (2004). Betaine in human nutrition. The American Journal of Clinical Nutrition, 80, 539–549.
- Cvetković B., Pezo L., Mišan A., Mastilović J., Kevrešan Ž., Ilić N., Filipčev B. (2019). The effects of osmotic dehydration of white cabbage on polyphenols and mineral content. LWT-Food Science and Technology, 110, 332-337.
- Čakarević J. (2021). *In vitro* digestija i njen uticaj na aktivnost, stabilnost i dostupnost biološki aktivnih jedinjenja, Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Dauda A. O., Abiodun O. A., Arise A. K., Oyeyinka, S. A. (2018). Nutritional and consumers acceptance of biscuit made from wheat flour fortified with partially defatted groundnut paste. LWT - Food Science and Technology, 90, 265–269.
- De Sousa L.L., de Andrade S.C., Athayde A.J., de Oliveira C.E., de Sales C.V., Madruga M.S., de Suetza E.L. (2013). Efficacy of *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils in combination to control postharvest pathogenic Aspergilli and autochthonous mycoflora in *Vitis labrusca* L. (table grapes). International Journal of Food Microbiology, 165 (3), 312-318.
- De Zwart F.J., Slow S., Payne R.J., Lever M., George P.M., Gerrard J.A., Chambers S.T. (2003). Glycine betaine and glycine betaine analogues in common foods. Food Chemistry, 83, 197–204.
- Devic E., Guyot S., Daudin J.D., Bonazzi, C. (2010). Effect of temperature and cultivar on polyphenol retention and mass transfer during osmotic dehydration of apples. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 58, 606–614.
- Đurđević L., Dinić A., Pavlović P. Mitrović M., Karadžić B., Tešević V. (2004). Alleopathic potential of *Allium ursinum* L., Biochemical Systematics and Ecology, 32, 5633-544.
- Embascado M.E. (2015). Spices and herbs: Natural sources of antioxidants- a mini review. Journal of Functional Foods, 18, 811-819.
- Escarnot E, Agneessens R, Wathelet B, Paquot M. (2010). Quantitative and qualitative study of spelt and wheat fibres in varying milling fractions. Food Chemistry, 122, 857- 863.
- Escarnot E., Jacquemin, J.-M., Agneessens, R., Paquot M. (2012). Comparative study of the content and profiles of macronutrients in spelt and wheat, a review, BASE, 16(2), 243-256.
- European Commission (2012). Commission Regulation (EU) No 432/2012 of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. Official Journal of the European Union L, 136 (55), 1–40.

- Fernandes R.P.P., Trindade M.A, Tonin F.G., Pugine S.M.P., Lima C.G, Lorenzo J.M., de Melo M.P. (2017). Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. Food Chemistry, 233, 101-1099.
- Filipčev B., Lević Lj., Bodroža S.M., Mišljenović N., Koprivica G. (2010). Quality characteristics and antioxidant properties of breads supplemented with sugar beet molasses-based ingredients. International Journal of Food Properties, 13, 1035-1053.
- Filipčev B., Bodroža-Solarov M., Šimurina O., Cvetković B. (2012). Use of sugar beet molasses in processing of gingerbread type biscuits: effect on quality characteristics, nutritional profile, and bioavailability of calcium and iron. Acta Alimentaria Hungarica, 41 (4), 494- 505.
- Filipčev B., Šimurina O., Bodroža S.M., Brkljača J. (2013). Dough rheological properties in relation to cracker-making performance of organically grown spelt cultivars. International Journal of Food Science and Technology, 48, 2356–2362.
- Filipčev B., Šimurina O., Bodroža S.M., Obreht D. (2013a). Comparison of the bread-making performance of spelt varieties grown under organic conditions in the environment of norther Serbia and their responses to dough strengthening improvers. Hemijska Industrija, 67 (3), 443-453.
- Filipčev B., Brkljača J., Krulj J., Bodroža-Solarov M. (2015). The betaine content in common cereal-based and gluten-free food from local origin. Food & Feed Research, 42, 129–138.
- Filipčev B., Šimurina O., Mišan A., Šarić B., Filipović V., Lončar M., Nićetin M. (2015a). Antioxidant activity and phenolic compounds in gluten-free cookies enriched with sugar beet molasses, IV International Congress „Engineering, Environment and Materials in Processing Industry“ Jahorina, 4th - 6th March 2015. Bosnia and Herzegovina; University of East Sarajevo Faculty of Technology Zvornik, Proceedings, pp. 1135-1140.
- Filipčev B., Krulj J., Brkljača J., Šimurina O., Jambrec D., Bodroža-Solarov M., Pestorić M. (2016). Quality attributes of cookies enriched with betaine, III International Congress “Food Technology, Quality and Safety”, 25.-27.10.2016., Novi Sad, 46-51.
- Filipčev B., Mišan A., Šarić B., Šimurina O. (2016a). Sugar beet molasses as an ingredient to enhance the nutritional and functional properties of gluten-free cookies. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 67, (3), 249-256.
- Filipčev B., Kojić J., Krulj J., Bodroža-Solarov M., Ilić N. (2018). Betaine in cereal grains and grain-based products. Foods, 7 (4), 49, doi: 10.3390/foods7040049.
- Filipović I., Čurčić B., Filipović V., Nićetin M., Filipović J., Knežević, V. (2017). The effects of technological parameters on chicken meat osmotic dehydration process efficiency. Journal of Food Processing and Preservation, 41, e13116.
- Filipović I. (2020). Uticaj procesa osmotske dehidratacije na promene mikrobiološkog profila dehidriranog poluproizvoda od pilećeg mesa, Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Filipović J., Pezo L., Filipović V., Brkljača J., Krulj J. (2015). The effects of omega-3fatty acids and

inulin addition to spelt pasta quality. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 43-51.

Filipović J., Ivkov M., Košutić M., Filipović V. (2016). Ratio of omega -6/omega-3 of Spelt and Flax seed Pasta and Consumer Acceptability. *Czech Journal of Food Science*, 34 (6), 522-528.

Filipović V., Ćurčić B., Nićetin M., Plavšić D., Koprivica, G. (2012). Mass transfer and microbiological profile of pork meat dehydrated in two different osmotic solutions. *Hemijska industrija*, 66 (5), 743-748.

Filipović V., Lončar B., Filipović, J., Nićetin M., Knežević V., Šeregelj V., Košutić M., Bodroža S.M. (2022). Addition of combinedly dehydrated peach to the cookies—technological quality testing and optimization. *Foods*, 11, 1258.

Galla N.R., Pamidighantam R.P., Karakala B., Gurusiddaiah R.M., Akula S. (2017). Nutritional, textural and sensory quality of biscuits supplemented with spinach (*Spinacia oleracea* L.). *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 7(1), 20–26.

Ganesan B., Rajesh R., Anandan R., Dhandapani N. (2007). Biochemical studies on the protective effect of betaine on mitochondrial function in experimentally induced myocardial infarction in rats. *Journal of Health Studies*, 53, 671-681.

Gawlik-Dziki U., Swieca M., Dzik D. (2012). Comparison of phenolic acids profile and antioxidant potential of six varieties of spelt (*Triticum spelta* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 4603–4612.

Gîtin L., Dinică R., Parnavel R. (2012). The influence of extraction method on the apparent content of bioactive compound in Romanian *Allium* spp. leaves. *Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca*, 40(1), 93-97.

Glamočlija Đ., Janković S., Pivić R. (2012). *Alternativna žita*. Monografija, Institut za zemljište, Beograd.

Gođevac D., Vujisic Lj-, Mojovic M., Ignjatovic A., Spasojevic I., Vajs V. (2008) Evaluation of antioxidant capacity of *Allium ursinum* L. volatile oil and its effect on membrane fluidity, *Food Chemistry*, 107, 1692-1700.

Golijan J, Živanović Lj. Kostić A.Ž. (2017). Nutritivni značaj krupnika (*triticum aestivum* ssp. *Spelta*) u ljudskoj ishrani. *Hrana i Ishrana* (Beograd), 58 (1), 39-44.

González M.J., Ricart C.M., Miranda-Massari J. (2004). A vitamin, mineral, herb dietary supplement effect on blood glucose in uncontrolled type II diabetic subjects. *Puerto Rico Health Science Journal*, 23(2), 119-20.

Grbeša D. (2004). *Metode procjene i tablice kemijskog sastava i hranljive vrijednosti krepkih krmiva*. Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatsko agronomsko društvo, 134-137.

Guimarães C.M., Gião M.S., Martinez S.S., Pintado A.I., Bento L.S., Malcata F.X. (2007). Antioxidant activity of sugar molasses, including protective effect against DNA oxidative damage. *Journal of Food Science*, 72, 39-43.

- Gutierrez-Grijalva E.P., Picos-Salas M.A., Leyva-Lopez N., Criollo-Menudeo M.S., Vazquez-Olivo G., Heredia J.B. (2017). Flavonoids and phenolic acids from oregano: occurrence, biological activity and health benefits. *Plants*, 7(1), 2.
- Hammed A.M. i Simsek S. (2014). Hulled Wheats: A Review of nutritional properties and processing methods. *Cereal Chemistry*, 91, 97-104.
- Han J., Lawson, L., Han G., Han, P. (1995). A spectrophotometric method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulfinates. *Analytical Biochemistry*, 225(1), 157–160.
- Harborne J.B. (1989). *Methods in plant biochemistry*, 1, Plant Phenolics.
- Hereida A., Peinado I., Barrera C., Andres G. A. (2009). Influence of process variables on colour changes, carotenoids retention and cellular tissue alteration of cherry tomato during osmotic dehydration. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 285-294.
- Hoffman J.R., Ratamess N.A., Kang J., Rashti S.L., Faigenbaum A.D. (2009). Effect of betaine supplementation on power performance and fatigue. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 6, 7-17.
- Horwitz W. (2019). „Official Methods of Analysis of AOAC International“, 21th ed., AOAC International, Gaithersburg, MD., USA.
- Ikanović J., Popović V., Janković S., Dražić G., Pavlović S., Tatić M., Kolarić Lj., Sikora V. Tivanović Lj. (2016). Impact of agro-ecological conditions on protein synthesis in hexaploid wheat - spelt (*Triticum Spelta*). *Biotechnology in Animal Husbandry*, 32 (1), 91-100.
- Ivkov M., Košutić M., Filipović J., Filipović V. (2018). Spelt pasta with addition of inulin as a functional food: sensory evaluation and consumer attitudes. *Romanian Biotechnological Letters*, 23 (3), 13615-13624.
- ISO 8589:2007; *Sensory Analysis—General Guidance for the Design of Test Rooms*. ISO: Geneva, Switzerland, 2007.
- ISO 6658:2017; *Sensory Analysis—Methodology—General Guidance*. ISO: Geneva, Switzerland, 2017.
- Jagelaviciute J, Basinskiene L, Cizeikiene D, Syrpas M. (2022). Technological properties and composition of enzymatically modified cranberry pomace. *Foods*, 11(15), 2321.
- Janković S., Ikanović, J., Popović, V. Rakić, S. Pavlović, S., Ugrenović V., Simić D., Dončić D. (2015). Morphological and productive traits of spelt wheat –*Triticum spelta* L., *Agriculture & Forestry*, 61(2), 173-182.
- Javadian S., Sabouni F., Haghbeen K. (2016). *Origanum vulgare* L. extracts versus thymol: An anti-inflammatory study on activated microglial and mixed glial cells. *Journal of Food Biochemistry*, 40 (1), 100-108.
- Jevtić-Mučibabić R., Grbić J., Mišlenović N., Koprivica G., Kuljanin T., Radivojević S. (2011). Nitrogen copounds in molasses. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 15 (3), 169-

172.

- Kaur D., Singh M., Zalpouri R., Singh I. (2022). Osmotic dehydration of fruits using unconventional natural sweeteners and non-thermal-assisted technologies: A review. *Journal of Food Processing and Preservation*, <https://doi.org/10.1111/jfpp.16890>.
- Kaur M., Singh V., Kaur, R. (2017). Effect of partial replacement of wheat flour with varying levels of flaxseed flour on physicochemical, antioxidant and sensory characteristics of cookies. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 9, 14–20.
- Kessler, H.G. (2002). *Food and bioprocess engineering - dairy technology*. München: Verlag A. Kessler (Publishing House A. Kessler).
- Klunklin W. i Savage G. (2018). Biscuits: A substitution of wheat flour with purple rice flour. *Advances in Food Science and Engineering*, 2, 81-97.
- Knežević V., Lončar B., Nićetin M., Filipović V., Pezo L., Kuljanin T., Lević Lj. (2014). Osmotic treatment of nettle leaves in two different solutions-mass transfer kinetics, *Journal on processing and energy in agriculture*, 18(3), 123-125.
- Knežević V., Pezo L., Lončar B., Filipović V., Nićetin, M., Gorjanović S., Šuput D. (2019). Antioxidant capacity of nettle leaves during osmotic treatment, *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 63(3), 491-498.
- Kohajdová Z. i Karovicova J. (2008). Nutritional value and baking applications of spelt wheat. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7, 5-14.
- Kojić J., Krulj J., Ilić N., Lončar E., Pezo L., Mandić A., Bodroža S.M. (2017). Analysis of betaine levels in cereals, pseudocereals and their products. *Journal of Functional Foods*, 37, 157–163.
- Kojić J., Ilić N., Kojić P., Pezo L., Banjac V., Krulj J., Bodroža-Solarov M. (2019). Multiobjective process optimization for betaine enriched spelt flour based extrudates. *Journal of Food Process Engineering*, 42, e12942.
- Kojić J., Belović M., Krulj J., Pezo L., Teslić N., Kojić P., Tukuljac L.P., Šeregelj V., Ilić N. (2022). Textural, color and sensory features of spelt wholegrain snack enriched with betaine. *Foods*, 11, 475.
- Koprivica G., Pezo L., Čurčić B., Lević Lj., Šuput D. (2014). Optimization of osmotic dehydration of apples in sugar beet molasses. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38 (4), 1705-1715.
- Krivokapić M., Bradić J., Petković A., Popović M. (2018). Phytochemical and pharmacological properties of *Allium ursinum*. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*, <https://doi.org/10.2478/sjecr2018-0003>.
- Krivokapić M., Jakovljević V., Sovrlić M., Bradić J., Petković A., Radojević I., Branković S., Comić Lj., Anđić M., Kocović A., Tomović M. (2020). Biological activities of different extracts from *Allium ursinum* leaves. *Natural drugs*, 77 (1), 121-129.
- Krulj J., Jevtić-Mučibabić R., Grbić J., Brkljača J., Milovanović I., Filipčev B., Bodroža-Solarov M.

- (2014). Determination of betaine in sugar beet molasses. *Journal of Processing and Energy in Agriculture*, 18 (4), 179-181.
- Kubatka P., Kello M., Kajo K., Kruzliak P., Výbohová D., Mojžiš J., Adamkov M., Fialová S., Veizerová L., Zulli A., Pěč M. (2017). Oregano demonstrates distinct tumour-suppressive effects in the breast carcinoma model. *European Journal of Nutrition*, 56 (3), 1303-1316.
- Kvapil M.F., Chaillou L.L., Qüesta A.G., Masheroni R.H. (2020). Osmotic dehydration of pumpkin (*Cucurbita moshata*) in sucrose and sucrose-salt solutions. Effect of solution composition and sample size. *Latin American Applied Research*, 50 (3), 241-246.
- Lachowicz S., Kolniak-Ostek J., Oszmiański J., Wiśniewski R. (2017). Comparison of phenolic content and antioxidant capacity of bear garlic (*Allium ursinum* L.) in different maturity stages, *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1), e12921.
- Landim, A.P.M., Barbosa, M. I. M. J., Barbosa, J.J.L. (2016). Influence of osmotic dehydration on bioactive compounds, antioxidant capacity, color and texture of fruit and vegetables: a review. *Ciência Rural*, 46,1714-1722.
- Leahu A., Ghinea C., Oroian M.A. (2020). Osmotic dehydration of apple and pear slices: color and chemical characteristics. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 31 (2), 73-79.
- Lončar B., Pezo L., Filipović V., Nićetin M., Filipović J., Pezo, M., Šuput D., Aćimović, M. (2022). Physico-chemical, textural and sensory evaluation of spelt muffins supplemented with apple powder enriched with sugar beet molasses. *Foods*, 11, 1750.
- Madamba P.S. (2002). The response surface methodology: An application to optimize dehydration operations of selected agricultural crops. *LWT- Food Science and Technology*, 35, 584-592.
- Maestro-Durán R., Borja R., Jiménez A. M., León M. M. (1996). Phenolic compounds in sugar beet molasses. *Agrochimica*, 40,173-179.
- Mahmutovic O., Tahirovic I., Copra A., Memic M., Ibragic S., Karic L. (2009). Comparative analysis of total phenols and sulfur content in some plant organs of ramsons and two garlic species. *Planta Medica*, 75, 43.
- Marco C. i Rosell C. M. (2008). Effect of different protein isolates and transglutaminase on rice flour properties. *Journal of Food Engineering*, 84, 132-139.
- Marconi E., Carcea M., Schiavone M., Cubadda R. (2002). Spelt (*Triticum spelta* L.) pasta quality: Combined effect of flour properties and drying conditions. *Cereal Chemistry*, 79 (5), 634-639.
- Mihaylova D.S., Lante A., Tinello F., Krastanov A.I. (2014). Study on the antioxidant and antimicrobial activities of *Allium ursinum* L. pressurised-liquid extract. *Natural product research*, 28(22), 2000-2005.
- Milutinović M., Šiler-Marinković S., Antonović D., Mihajlovski K., Pavlović M., Dimitrijević-Branković S. (2013). Antioksidativna svojstva sušenih ekstrakata iz otpadne espreso kafe, *Hemijska Industrija*, 67,261-267.
- Minekus M., Alminger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carrière F., Boutrou R.,

- Corredig M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Karakava S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie. A., Marze S., McClements D. J., Ménard O., Recio I., Santos N.C., Singh R. P., Vegarud G. E., Wickham M. S. J., Weitschies W., Brodkorb A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food and Function*, 5, 1113-1124.
- Mirzay B., Heydari A., Jabbari A. (2018). The effects of Sucrose/NaCl/Time interactions on the osmotic dehydration of banana slices. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21, e2017228.
- Mišan A. Č., Mimica-Dukić N. M., Mandić A. I., Sakač M. B., Milovanović I. L., Sedej, I. J. (2011). Development of a rapid resolution HPLC method for the separation and determination of 17 phenolic compounds in crude plant extracts. *Central European Journal of Chemistry*, 9(1), 133–142.
- Mišljenović N., Koprivica G., Pezo L., Lević Lj., Čurčić B., Filipović V., Nićetin M. (2012). Optimization of the osmotic dehydration of carrot cubes in sugar beet molasses. *Thermal Science*, 16 (1), 43-52.
- Molina-CortésA., Sánchez-Motta T., Tobar-TosseF.,Quimbaya M. (2020). Spectrophotometric estimation of total phenolic content and antioxidant capacity of molasses and vinasses generated from the sugar industry. *Waste and Biomass Valorization*, 11, 3453-3463.
- Nićetin M., Pezo L., Lončar, B., Filipović, V., Kuljanin T., Knežević V., Šuput D. (2014). Mass transfer kinetics and efficiency of osmotic dehydration of celery leaves. *Journal on Processing and Energy in Agriculture* 18, 137-139.
- Nićetin M., Pezo L., Lončar B., Filipović V., Knežević V., Kuljanin T., Filipović J. (2019). The variation of mineral content in celery root during the treatment in two osmotic solutions. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 19, 114-119.
- Nićetin M., Pezo L., Filipović V., Lončar B., Filipović J., Šuput D., Knežević V. (2021). Effects of solution type temperature and time on antioxidant capacity of osmotically dried celery leaves. *Thermal Science*, 25, 1759–1770.
- Nićetin M, Pezo L, Pergal M, Lončar B, Filipović V, Knežević V, Demir H, Filipović J, Manojlović D. (2022). Celery root phenols content, antioxidant capacities and their correlations after osmotic dehydration in molasses. *Foods*, 11(13), 1945.
- Nowicka P., Wojdyło A., Lech K., Figel A. (2015). Influence of osmodehydration pretreatment and combined drying method on the bioactive potential of sour cherry fruits. *Food Bioprocess Technology*, 8, 824-836.
- Oniga I., Puscas C., Silaghi-Dumitrescu R., Olah N.K., Sevastre B., Marica R., Marcus I., Sevastre-Berhian A.C., Bendec D., Pop C.E., Hangan D. (2018). *Origanum vulgare* ssp. vulgare: Chemical composition and biological studies. *Molecules*, 23(8), 2077.
- Osorio C., Franco M.S., Castano M.P., Gonzales-Miret M.L., Hereida, F., Morales A.L. (2007). Colour and flavour changes during osmotic dehydration of fruits. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8, 353-359.
- OszmiańskiJ, Kolniak-Ostek J., Wojdyło A. (2013). Characterization and content of flavonol

- derivatives of *Allium ursinum* L. Plant, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61, 176-184.
- Parvu M., Toiu A., Vlase L., Parvu E.A. (2010). Determination of some polyphenolic compounds from *Allium* species by HPLC-UV-MS, Natural Product Research, 1-7, 2010.
- Parvu M., Parvu A.E., Vlase L., Rosca-Casian O., Parvu O. (2011). Antifungal properties of *Allium ursinum* L. ethanol extract. Journal of Medicinal Plant Research, 5 (10), 2041-2046.
- Pasqualone A., Bianco A.M., Paradiso V.M., Summo C., Gambacorta G., Caponio F. (2014). Physico-chemical, sensory and volatile profiles of biscuits enriched with grape marc extract, Food Research International, 65, 385-393.
- Pavlović D., Veljković M., Stojanović N., Gočmanac-Ignjatović M., Mihailov-Krstev T., Branković S., Sokolović D., Marčetić M., Radulović N., Radenković M. (2017). Influence of different wild garlic (*Allium ursinum*) extracts on the gastrointestinal system: spasmolytic, antimicrobial and antioxidant properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 69, 1208-1218.
- Payet B., Cheong Sing A.S., Smadja J. (2006). Comparison of the concentration of phenolic constituents in cane sugar manufacturing products with their antioxidant activities. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 7270-7276.
- Pejatović T., Samardžić D., Krivokapić S. (2017). Antioxidative properties of a traditional tincture and several leaf extracts of *Allium ursinum* L. (collected in Montenegro and Bosnia and Herzegovina). Journal of Materials and Environmental Sciences, 8 (6), 1929-1934.
- Piatkowska E., Kopec A., Leszczynska T. (2015). Basic chemical composition, content of micro- and macroelements and antioxidant activity of different varieties of garlic's leaves Polish origin, ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 1 (98), 181 – 192, DOI: 10.15193/zntj/2015/98/014
- Popović Lj., Peričin D., Vaštag Ž., Popović S., Krimer V., Torbica A. M. (2013). Antioxidative and functional properties of pumpkin oil cake globulin hydrolysates. Journal of American Oil Chemists' Society, 90, 1157-1165.
- Popović V., Savić M., Katić B. (2010). Origano *Origanum vulgare* L. – svojstva, proizvodnja i promet. Industrija, 3, UDC. 635.71:338.43.
- Pravilnik (2018). Pravilnik o prehranbenim aditivima. Službeni glasnik RS, 63/2018.
- Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za fine pekarske proizvode žita za doručak i snek proizvode (2016). Službeni glasnik RS, 68/2016.
- Pravilnik o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa (2018). Službeni glasnik RS, 62/2018.
- Pravitha M., Manikantan M.R., Kumar Ajesh V., Beegum S., Pandiselvam R. (2021). Optimization of process parameters for the production of jaggery infused osmo-dehydrated coconut chips. LWT- Food Science and Technology, 146, 111441.

- Preuss H.G, Clouatre D., Mohamadi A., Jarrell T., (2001). Wild garlic has a greater effect than regular garlic on blood pressure and blood chemistries of rats, *International Urology and Nephrology*, 32, 525-530.
- Quiles, A., Hernando, I., Pérez-Munuera, I., Larrea, V., Llorca, E., Lluch, M.A. (2005). Polyphenoloxidase (PPO) activity and osmotic dehydration in Granny Smith apple. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1017–1020.
- Raihan M. i Saini C. S. (2017). Evaluation of various properties of composite flour from oats, sorghum, amaranth and wheat flour and production of cookies thereof. *International Food Research Journal*, 24(6), 2278- 2284.
- Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S., Niranjana K., Knorr, D. (2002). Recent developments in osmotic dehydration: methods to enhance mass transfer. *Trends in Food Science and Technology*, 13, 48-59.
- Ratti C., Araya-Farias M., Mendez-Lagunas L., Makhoul J. (2007). Drying of garlic (*Allium sativum*) and its effect on allicin retention. *Drying Technology*, 25 (2), 349-356.
- Reiter E, Werteker M, Schmidt L, Berghofer E. (2000). Spelt wheats varieties: new aspects and technological properties, *Proceedings of the Second Croatian Congress of Cereals Technologist*, „Brašno-kruh'99“, Opatija, Croatia, 1999, Grafika d.o.o., Osijek (2000), 10-15.
- Rice-Evans C. (2001). Flavonoid antioxidants. *Current Medicinal Chemistry*, 8 (7), 797-807.
- Ross A.B., Zangger A., Guiraud S.P. (2014). Cereal foods are the major source of betaine in the Western diet—analysis of betaine and free choline in cereal foods and updated assessments of betaine intake. *Food Chemistry*, 145, 859–865.
- Ruibal-Mendieta N.L., Delacroix D.L., Meurens M. (2002). A comparative analysis of free, bound and total lipid content on spelt and winter wheat wholemeal. *Journal of Cereal Science*, 35(3), 337-342.
- Ruibal-Mendieta N. L., Delacroix D. L., Mignolet E., Pycke J. M., Marques C., Rozenberg R., Petitjean G, Habib-Jiwan J.L., Meurens M., Quetin-Leclercq J., Delzenne N. M., Larondelle Y. (2005). Spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) as a source of breadmaking flours and bran naturally enriched in oleic acid and minerals but not phytic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2751-2759.
- Sampaio G.R., Saldanha T., Soares R.A., Torres E.A. (2012). Effect of natural antioxidant combinations on lipid oxidation in cooked chicken meat during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 135 (3), 1383-1390.
- Sapunjjeva T., Alexieva J., Mihaylova D., Popova A. (2012). Antimicrobial and antioxidant activity of extracts of *Allium ursinum* L. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 143-145.
- Sauvant D., Perez J.M., Tran G. (2004). *Tables of composition and nutritional value of feed materials*. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 236-239.
- Schober T.J., Scott R.B., Kuhn M. (2006). Gluten proteins from spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) cultivars: archeological and size-exclusion high-performance liquid chromatography study.

Journal of Cereal Science, 44, 161-173.

- Schwahn B.C., Hafner D., Hohlfeld T., Balkenhol N., Laryea M.D., Wendel U. (2003). Pharmacokinetics of oral betaine in healthy subjects and patients with homocystinuria. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 55, 6–13.
- Sereno A.M., Moreira R., Martinez E. (2001). Mass transfer coefficients during osmotic dehydration of apple in single and combined aqueous solutions of sugar and salt. *Journal of Food Engineering*, 47, 43-49.
- Shafiq-Atikah M.K., Nor-Khaizura M.A.R., Mahyudin N.A., Abas F., Nur-Syifa' J., Ummul-Izzatul Y. (2020). Evaluation of phenolic constituent, antioxidant and antibacterial activities of sugarcane molasses towards foodborne pathogens. *Food Research*, 4 (2), 40-47.
- Shewry P.R. (2018). Do ancient types of wheat have health benefits compared with modern bread wheat? *Journal of Cereal Science*, 79, 469-476.
- Sikander M., Malik S., Parveen K., Ahmad M., Yadav D., Hafeez Z.B., Bansal M. (2013). Hepatoprotective effect of *Origanum vulgare* in Wistar rats against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Protoplasma*, 250 (2), 483-93.
- Silva V. M., Silva A.L., Andrade J. B., Veloso M.C., Santos G. V. (2008). Determination of moisture content and water activity in algae and fish by thermo analytical techniques. *Química Nova*, 31, 901-905.
- Singh P., Kothiyal P., Ratan P. (2018). Pharmacological and phytochemical studies of *Origanum vulgare*: A review. *International Research Journal of Pharmacy*, 9 (6), 30-35.
- Singleton V., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Skoufogianni E., Solomou A.D., Danalatos N.G. (2019). Ecology, cultivation and utilization of the aromatic Greek oregano (*origanum vulgare* L.): A review. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanica Cluj-Napoca*, 47(3), 545-552.
- Skrabanja V., Kovac, B., Golob, T., Liljeberg Elmståhl, H.G.M., Björck, I.M.E., Kreft I. (2001). Effect of spelt wheat flour and kernel on bread composition and nutritional characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (1), 497–500.
- Slow S., Donaggio M., Cressey P.J., Lever M., George P.M., Chambers S.T. (2005). The betaine content of New Zealand foods and estimated intake in the New Zealand diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 473–485.
- Smith A., Smith S., De Jager C., Whitbread P., Johnston C., Agacinski G. (2010). Homocysteine-lowering by B vitamins slows the rate of accelerated brain atrophy in mild cognitive impairment: A randomized controlled trial. *PLoS ONE*, 5(9), 122-144.
- Sobolewska D., Podolak I., Makowska-Was J. (2015). *Allium ursinum*: botanical, phytochemical and pharmacological overview, *Phytochemistry Reviews*, 14, 81-97.

- SRPS ISO 21527-1:2011. Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za određivanje broja kvasaca i plesni – Deo 1: Tehnika brojanja kolonija.
- SRPS EN ISO 6579-1:2017, Mikrobiologija lanca hrane — Horizontalna metoda za otkrivanje, određivanje broja i serotipizaciju *Salmonella* — Deo 1: Otkrivanje *Salmonella spp.*
- SRPS EN ISO 4833-1:2017, Mikrobiologija lanca hrane — Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama — Deo 1: Brojanje kolonija na 30 °C tehnikom nalivanja ploče.
- SRPS EN ISO 21528-2:2017, Mikrobiologija lanca hrane – Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja Enterobacteriaceae – Deo 2: Tehnika brojanja kolonija.
- SRPS EN ISO 6579-1:2017, Mikrobiologija lanca hrane — Horizontalna metoda za otkrivanje, određivanje broja i serotipizaciju *Salmonella* — Deo 1: Otkrivanje *Salmonella spp.*
- SRPS EN ISO 9308-2:2017, Kvalitet vode — Prebrojavanje *Escherichia coli* i koliformnih bakterija — Deo 2: Metoda najverovatnijeg broja.
- SRPS ISO 16649-2:2018, Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalni metodi za određivanje broja β -glukuronidaza pozitivne *Escherichia coli* - Deo 2: Tehnika brojanja kolonija na 44 °C pomoću 5-bromo-4-hloro-3-indolil β -D-glukuronida.
- SRPS ISO 18787: 2019, Prehrambeni proizvodi – Određivanje aktivnosti vode.
- Stojković M. (2014). Antioksidativna aktivnost, fenolni i mineralni sastav biljnih vrsta: *Geranium macrorrhizum* L., *Allium ursinum* L., *Stachys germanica* L. i *Primula veris* L.; Doktorska disertacija, Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju.
- Šarić Lj., Filipčev B., Šimurina O., Plavšić D., Šarić B., Lazarević J., Milovanović I. (2016). Sugar beet molasses: properties and applications in osmotic dehydration of fruits and vegetables, *Food and Feed Research*, 43 (2), 135-144.
- Šimurina O., Filipčev B., Lević Lj., Pribiš V., Pajin B. (2006). Sugar beet molasses as an ingredient in tea-cookie formulation. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 10 (3-4), 93-96.
- Šobot K., Laličić-Petronijević J., Filipović V., Nićetin M., Filipović J., Popović Lj. (2019). Contribution of osmotically dehydrated wild garlic on biscuits' quality parameters. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 63(3), 499–507.
- Šoronja-Simović D., Pajin B., Šubarić D., Dokić Lj., Šereš Z., Nikolić I. (2017). Quality, sensory and nutritional characteristics of cookies fortified with chestnut flour. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, e12887.
- Štajner D., Popović B.M., Čanadanović-Brunet, Štajner M.(2008). Antioxidant and scavenger activities of *Allium ursinum*, *Fitoterapia* 79, 303-305.
- Šput D., Lazić V., Pezo L., Lončar B., Filipović V. , Nićetin M., Knežević V. (2015). Effects of temperature and immersion time on diffusion of moisture and minerals during rehydration of osmotically treated pork meat cubes. *Hemijska Industrija*, 69, 297-304.
- Takara K., Ushijima K., Wada K., Iwasaki H., Yamashita M. (2007). Phenolic compounds from

- sugarcane molasses possessing antibacterial activity against cariogenic bacteria. *Journal of Oleo Science*, 56,611-614.
- Teixeira B., Marques A., Ramos C., Serrano C., Matos O., Neng N.R., Nogueira J.M.F., Saraiva J.A., Nunes M.L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 (11), 2707-2714.
- Tomšik A., Pavlič B., Vladić J., Ramić M., Brindza J., Vidović S. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 29, 502-511
- Tomšik A., Radojčin M., Stamenković Z., Kevrešan Ž., Mastilović J., Pavkov I., Vidović S. (2016a). Convective drying and preservation of functional ingredients of wild garlic (*Allium ursinum* L.) in dependence of drying temperature, III international Congress “Food Technology, Quality and Safety”, 25-27 October, Novi Sad, Serbia, 646-650.
- Tomšik A., Mastilović J., Kevrešan Ž., Vidović S. (2016b). Shelf life of ramson (*Allium ursinum* L.) under different storing conditions. III international Congress “Food Technology, Quality and Safety”, 25-27 October, Novi Sad, Serbia, 531-535.
- Tomšik A., Pavlič B., Vladić J., Cindrić M., Jovanov P., Sakač M., Mandić A., Vidović S. (2017). Subcritical water extraction of wild garlic (*Allium ursinum* L.) and process optimization by response surface methodology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 128, 79-88.
- Tonon R., Baroni A., Hubinger M. (2007). Osmotic dehydration of tomato in ternary solution: influence of process variables on mass transfer kinetics and an evaluation of the retention of carotenoids. *Journal of Food Engineering*, 82, 509-517.
- Urle U., Schubert H. (2001). Combined Osmotic and Microwave- Vacuum Dehydration of Apples and Strawberries. *Food Preservation Technology Series: Osmotic dehydration and Vacuum Impregnation*, Chapter 18.
- Valli V., Caravaca A.G., Di Nunzio M., Danesi F., Caboni M.F., Bordonni A. (2012). Sugar cane and sugar beet molasses, antioxidant-rich alternatives to refined sugar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 12508-12515.
- Van den Berg R., Haenen G., van den Berg H., Bast A. (1999). Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, 66, 511-17.
- Veenstra J.P., Johnson J-J. (2019). Oregano (*Origanum vulgare*) extract for food preservation and improvement in gastrointestinal health. *International Journal of Nutrition*, 3 (4), 43-52.
- Vitali D., Dragojević I. V., Šebečić B. (2009). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 114, 1462–1469.
- Vlase L., Parvu M., Parvu E.A., Toiu A. (2012). Phytochemical analysis of *Allium fistulosum* L. and *A. ursinum* L. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 8, 457-467.

- Vlase L., Parvu M., Parvu E.A., Toiu A. (2013). Chemical constituents of three *Allium* species from Romania, *Molecules*, 18 (1), 114-127.
- Voća S., Šic Žlabur J., Fabek Uher S., Peša M., Opačić N., Radman S. (2022). Neglected potential of wild garlic (*Allium ursinum* L.)—specialized metabolites content and antioxidant capacity of wild populations in relation to location and plant phenophase. *Horticulturae*, 8 (1), 24.
- Vučić G., Vasilišin L., Samelak I., Kukrić Z., Kukrić N. (2018). Sadržaj mineralnih materija u sremušu (*Allium ursinum*) sa različitih lokaliteta Republike Srpske, XXIII Savetovanje o Biotehnologiji, Zbornik radova, Čačak, Srbija.
- Vučković J., Bodroža-Solarov M., Vujić Đ., Bočarov-Stančić A., Bagi F. (2013). The protective effect of hulls on the occurrence of *Alternaria* mycotoxins in spelt wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 1996–2001.
- Vujičić M., Nikolić I., Kontogianni V.G., Saksida T., Charisiadis P., Orescanin-Dusić Z., Blagojević D., Stošić-Grujičić S., Tzakos A.G., Stojanović I. (2015). Methanolic extract of *Origanum vulgare* ameliorates type 1 diabetes through antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic activity. *The British Journal of Nutrition*, 113 (5), 770-82.
- Wang J., Chatzidimitriou E., Wood L., Hasanalieva G., Markellou E., Iversen P.O., Seal Ch., Baranski M., Vigar V., Ernst L., Willson A., Thapa M., Barkla B.J., Leifert C., Rempelos L. (2020). Effect of wheat species (*Triticum aestivum* vs *T. spelta*), farming system (organic vs conventional) and flour type (wholegrain vs white) on composition of wheat flour – Results of a retail survey in the UK and Germany – 2. Antioxidant activity, and phenolic and mineral content, *Food Chemistry*, 6, 100091.
- Wilson J.D., Bechtel D.B., Wilson G.W.T., Seib P.A. (2008). Bread quality of spelt wheat and its starch. *Cereal Chemistry*, 85 (5), 629-638.
- Wójtowicz A., Oniszczyk A., Kasprzak K., Olech M., Mitrus M., Oniszczyk T. (2020). Chemical composition and selected quality characteristics of new types of precooked wheat and spelt pasta products, *Food Chemistry*, 309, 125673.
- Wu H., Dushenkov S., Ho C.T., Sang S. (2009). Novel acetylated flavonoid glycosides from the leaves of *Allium ursinum*, *Food Chemistry*, 115, 592-595.
- Yadav A. K. i Singh S.V. (2014). Osmotic dehydration of fruits and vegetables: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 1654-1673.
- Zhang L., Guo S., Wang H., Li Q., Xu J., Chung Y., Ye C., Li L., Wang C. (2014). Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant and antiviral activities. *Food Chemistry*, 152, 300-306.
- Zhang L., Zhu M., Shi T., Gio 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 composition. *Food & Function*, 8, 341-351.
- Zhao Y, Chen M, Zhao Z, Yu S. (2015). The antibiotic activity and mechanisms of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) bagasse extract against food-borne pathogens. *Food Chemistry*,

185, 112-118.

Zieliński H., Ceglińska A., Michalska A. (2008). Bioactive compounds in spelt bread. *European Food Research and Technology*, 226 (3), 537-544.

Spisak tabela	
Tabela 1.	Sastav pojedinih mineralnih komponenata u melasi šećerne repe
Tabela 2.	Nivoi betaina u proizvodima na bazi žita određenih od strane različitih autora
Tabela 3.	Sirovinski sastav uzoraka keksa
Tabela 4.	Vrednosti odziva procesa osmotske dehidracije listova sremuša
Tabela 5.	Granične a_w vrednosti za određene grupe mikroorganizama
Tabela 6.	Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela odziva procesa osmotske dehidracije listova sremuša u melasi šećerne repe
Tabela 7.	Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela odziva procesa osmotske dehidracije listova sremuša u vodenom rastvoru NaCl i saharoze
Tabela 8.	Prikaz regresionih koeficijenata polinoma drugog stepena za četiri modela odziva procesa osmotske dehidracije listova sremuša u oba osmotska rastvora
Tabela 9.	Prikaz regresionih koeficijenata polinoma drugog stepena za četiri modela odziva procesa osmotske dehidracije listova sremuša u oba osmotska rastvora
Tabela 10.	Prikaz hemijskog sastava svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša
Tabela 11.	Rezultati antioksidativne aktivnosti (određene ABTS i DPPH metodom) svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša
Tabela 12.	Rezultati sadržaja ukupnih fenola, flavonoida i tiosulfinata u svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša
Tabela 13.	Rezultati instrumentalne analize teksture uzoraka keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša
Tabela 14.	Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela dva odziva instrumentalne analize teksture tri vrste keksa
Tabela 15.	Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za dva modela odziva instrumentalne analize teksture tri vrste keksa

Tabela 16.	Rezultati instrumentalnog određivanja boje keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša
Tabela 17.	Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela pet odziva instrumentalno određene boje tri vrste keksa
Tabela 18.	Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za pet modela odziva instrumentalne analize boje keksa sa osmotski dehidrisanim listovima sremuša
Tabela 19.	Rezultati određivanja hemijskog sastava keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša
Tabela 20.	Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela šest odziva hemijskog sastava tri vrste keksa
Tabela 21.	Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela šest odziva hemijskog sastava tri vrste keksa
Tabela 22.	Rezultati određivanja mineralnog sastava keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša
Tabela 23.	Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela šest odziva mineralnog sastava tri vrste keksa
Tabela 24.	Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za šest modela odziva mineralnog sastava tri vrste keksa
Tabela 25.	Rezultati antioksidativne aktivnosti keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša
Tabela 26.	Rezultati analize varijanse (ANOVA) modela dva odziva antioksidativne aktivnosti tri vrste keksa
Tabela 27.	Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za dva modela odziva antioksidativne aktivnosti tri vrste keksa
Tabela 28.	Rezultati deskriptivne senzorne analiza izgleda i ukusa keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša
Tabela 29.	Rezultati deskriptivne senzorne analize mirisa i teksture keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša
Tabela 30.	Rezultati određivanja ukupnih fenola, flavonoida i tiosufinata u keksu sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša

Tabela 31.	Rezultati određivanja koncentracije dominantnih polifenola u ekstraktima ispitivanih uzoraka
Tabela 32.	Rezultati određivanja sadržaja betaina u ispitivanim uzorcima
Tabela 33.	Rezultati određivanja ukupnih i nerastvorljivih dijetnih vlakana u uzorcima keksa

Spisak slika	
Slika 1.	Šematska ilustracija masenih tokova tokom procesa osmotske dehidracije (Filipović, 2020)
Slika 2.	Izgled sremuša (<i>Allium ursinum</i> L.) https://www.bastabalkana.com/2019/04/sremus-ili-medvedji-luk-allium-ursinum-lekovita-svojstva-divljeg-belog-luka/
Slika 3.	Cistein sulfoksidi u sremušu (metiin, aliin, propiin, izoaliin) (Sobolewska i sar., 2015)
Slika 4.	Različite vrste keksa na tržištu (https://www.keepitfit , https://mangobiocentar.rs , https://bambi)
Slika 5.	Spelta u zrnju i speltino brašno https://dijetaifitnes.com/spelta-i-speltino-brasno-upotreba-i-recepti-za-hleb-od-speltinog-brasna-sa-i-bez-kvasca/
Slika 6.	Strukturna formula betaina (Filipčev i sar., 2015).
Slika 7.	Ciklus transmetilacije https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/betain
Slika 8.	Izgled biljke origano (<i>Origanum vulgare</i>) https://hr.m.wikipedia.org/wiki/Datoteka:Origanum_vulgare.JPG
Slika 9.	Liofilizacija svežih i osmotski dehidrisanih listova sremuša
Slika 10.	Izgled pripremljenih uzoraka keksa: a) kontrolni uzorak, b) keks sa svežim listovima sremuša, c) keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u vodenom rastvoru NaCl i saharoze, d) keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u melasi šećerne repe
Slika 11.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva DMC osmotske dehidracije listova sremuša u: a) melasi šećerne repe, b) vodenom rastvoru NaCl i saharoze.
Slika 12.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva WL osmotske dehidracije listova sremuša u: a) Melasi šećerne repe, b) vodenom rastvoru NaCl i saharoze

Slika 13.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva SG osmotske dehidracije listova sremuša u: a) melasi šećerne repe, b) vodenom rastvoru NaCl i saharoze
Slika 14.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva a_w osmotske dehidracije listova sremuša u: a) melasi šećerne repe, b) vodenom rastvoru NaCl i saharoze.
Slika 15.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva instrumentalne analize teksture keksa: a–c) Čvrstoća keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2 d – f) Lomljivost keksa sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 16.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva L^* instrumentalne analize boje keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 17.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva a^* instrumentalne analize boje keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidriranim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 18.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva b^* instrumentalne analize boje keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 19.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva C instrumentalne analize boje keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 20.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva h instrumentalne analize boje keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 21.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva proteina hemijskog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 22.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva skroba hemijskog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 23.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva ukupnih šećera hemijskog sastava keksa:

	a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 24.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva celuloze hemijskog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 25.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva masti hemijskog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 26.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva pepela hemijskog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 27.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva Zn mineralnog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 28.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva Cu mineralnog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 29.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva Mg mineralnog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 30.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva Ca mineralnog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 31.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva Fe mineralnog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 32.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva K mineralnog sastava keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 33.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva ABTS antioksidativne aktivnosti keksa: a–c) sa svežim i osmotski dehidriranim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 34.	Grafički prikaz jednačina odzivne površine odziva DPPH antioksidativne aktivnosti keksa:

	a–c) sa svežim i osmotski dehidrisanim listovima sremuša u R1 i R2
Slika 35.	Hromatogram svežih listova sremuša sa obeleženim najznačajnijim pikovima
Slika 36.	Antioksidativna aktivnost uzoraka (1-4) posle digestije, uzorak 1-kontrolni keks, uzorak 2- keks sa svežim listovima sremuša, uzorak 3- keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u melasi, uzorak 4- keks sa listovima sremuša osmotski dehidrisanim u vodenom rastvoru NaCl i saharoze

Skraćenice	Pun naziv
ABTS	(2,2'-azino -bis (3 -etilbenzotiazolin -6 - sulfonska kiselina)
ANOVA	Analiza varijanse
aw	vrednosti aktivnosti vode
DMC	sadržaj suve materije
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
<i>E. coli</i>	<i>Escheichia Coli</i>
HPLC	tečna hromatografija visokog pritiska
OD	osmotska dehidracija
R ₁	rastvor melasa šećerne repe
R ₂	vodeni rastvor NaCl i saharoze
RSM	Metoda odzivne površine
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. enteritidis</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
SG	priraštaj suve materije
SOP	Polinom drugog reda
WL	gubitak vode

Biografija kandidata

Kosana Šobot rođena je 1970. godine u Sanskom mostu. Diplomirala je 2009. godine, na Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu na temu "Opravdanost primene melase šećerne repe nakon osmotske dehidracije jabuke i mrkve sa tehnološkog i energetskog aspekta". Doktorske akademske studije upisala je na Poljoprivrednom fakultetu u Zemunu, studijski program prehrambena tehnologija. Autor i koautor je sledećih naučnih radova:

1. **Šobot, K.**, Laličić-Petronijević, J., Filipović, V., Nićetin, M., Filipović, J., Popović, Lj. (2019). Contribution of osmotically dehydrated wild garlic on biscuits' quality parameters, *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 63 (3), 499-507.
2. Kuljanin, T., Lončar, B., Nićetin, M., Grbić, J., Jevtić-Mučibabić, R., **Šobot, K.** (2015). Calcium sulphate as coagulant in phase of sugar beet juice clarification - Method of measurement residual solution turbidity and zeta potential. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 10, 49-53.
3. Nićetin M., **Šobot K.**, Kojić J., Lončar B., Filipović V., Knežević V. (2022): Fortification of betaine content in spelt biscuits enriched with wild garlic osmodehydrated in sugar beet molasses, *Book of Abstracts, International Conference on Advanced Production and Processing ICAPP 2022, Faculty of Technology Novi Sad 20th-22th October, Serbia*, 65.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Косана Шобот

Број индекса ТН 13/60

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Оптимизација процеса осмотске дехидрације листова сремуша (*Allium ursinum* L.) у меласи шећерне репе и њихов утицај на својства квалитета кекса

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Косана Шобот

Број индекса ТН 13/60

Студијски програм прехранбена технологија

Наслов рада Оптимизација процеса осмотске дехидрације листова сремуша
(*Allium ursinum* L.) у меласи шећерне репе и њихов утицај
на својства квалитета кекса

Ментор проф. др Јованка Лаличић-Петронијевић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањења у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Оптимизација процеса осмотске дехидрације листова сремуша (*Allium ursinum* L.) у меласи шећерне репе и њихов утицај на својства квалитета кекса

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство - некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство - некомерцијално - без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство - без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство - делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, _____

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство - некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.