

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Josipa Krezić

**Adsorpcija fenolnih i hlapljivih komponenata sokova
višnje i maline na celulozu te stabilnost formuliranih
kompleksa**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, mjesec, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DOKTORSKA DISERTACIJA

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

Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za tehnologiju voća i povrća
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska
UDK: 547.56 : 544.723.2 (043.3)
663.813 : 621.796 (043.3)

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

Adsorpcija fenolnih i hlapljivih komponenata sokova višnje i maline na celulozu te stabilnost formuliranih kompleksa
Josipa Krezić, 0113141057

Sažetak: Liofilizirani kompleksi celuloza/malina i celuloza/višnja pripremljeni su kompleksiranjem (15 ili 60 minuta) celuloze i soka maline odnosno soka višnje. Udio celuloze je varirao (2,5%, 5%, 7,5% i 10%) dok je količina sokova maline odnosno višnje bila konstantna. Pripremljenim kompleksima određen je udio adsorbiranih fenola, antocijana, proantocijanidina i hlapljivih komponenata, te antioksidacijska aktivnost, parametri boje i strukturne promjene na celulozi nakon adsorpcije komponenata sokova. Ispitana je i stabilnost kompleksa nakon 12 mjeseci skladištenja pri sobnoj temperaturi. Rezultatima je utvrđeno da je najveći udio ukupnih fenola, antocijana i proantocijanidina adsorbiran na kompleksima s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %) i s kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta) bez obzira na vrstu soka. Ujedno su i navedeni kompleksi imali i najveći antioksidacijski potencijal. S povećanjem količine celuloze utvrđeno je smanjenje adsorpcije fenola. Hlapljivi spojevi karakteristični za aromu maline i aromu višnje zadržani su u formuliranim kompleksima ali su se kompleksi razlikovali po aromatskom profilu od sokova. Adsorpcija komponenata sokova na celulozu potvrđena je i snimanjem IR spektra. Tijekom skladištenja došlo je do promjene definiranih parametara, te je utvrđeno da su kompleksi celuloza/malina bili stabilniji u pogledu fenolnih komponenti. Rezultati ovog istraživanja potvrđuju mogućnost primjene celuloze kao nositelja fenolnih i hlapljivih komponenti maline odnosno višnje, posebice kada se za formuliranje kompleksa celuloza koristi u manjim količinama.

Ključne riječi: celuloza, sok maline, sok višnje kompleksi, fenoli, antioksidacijska aktivnost, hlapljive komponente, stabilnost

Rad sadrži: 121 stranica
33 slike
33 tablice
0 priloga
255 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

- | | | |
|----|---|---------------|
| 1. | dr. sc. <i>Ime i prezime</i> , red. prof. / izv. prof. / doc. | predsjednik |
| 2. | dr. sc. <i>Ime i prezime</i> , red. prof. / izv. prof. / doc. | član |
| 3. | dr. sc. <i>Ime i prezime</i> , red. prof. / izv. prof. / doc. | član |
| 4. | dr. sc. <i>Ime i prezime</i> , red. prof. / izv. prof. / doc. | zamjena člana |

Datum obrane: dan, mjesec, godina (npr. 20. veljače 2024.)

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

DO NOT COPY

BASIC DOCUMENTATION CARD

DOCTORAL THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Doctoral Study Food Technology and Nutrition

Department of Food Technologies
Subdepartment of fruit and vegetables Technology

Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

UDC: 547.56 : 544.723.2 (043.3)

663.813 : 621.796 (043.3)

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

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

Mentor: *Mirela Kopjar*, PhD, full prof.

Adsorption of phenolic and volatiles of cherry and raspberry juices on cellulose and stability of formulated complexes

Josipa Krezić, 0113141057

Summary: Freeze-dried cellulose/raspberry and cellulose/tart cherry complexes were prepared by complexing (15 or 60 minutes) cellulose and raspberry or tart cherry juice. The proportion of cellulose varied (2.5%, 5%, 7.5% and 10%), while the amount of raspberry and cherry juice was constant. The amount of adsorbed phenols, anthocyanins, proanthocyanidins and volatile components, as well as antioxidant activity, color parameters and structural changes on the cellulose after adsorption of juice components were determined on the prepared complexes. The stability of the complex after 12 months of storage at room temperature was also tested. The results showed that the highest amount of total phenols, anthocyanins and proanthocyanidins was adsorbed on the complexes with the lowest cellulose content (2.5%) and with a shorter complexation time (15 minutes), regardless of the type of juice. At the same time, the mentioned complexes also had the highest antioxidant potential. As the amount of cellulose increased, the adsorption of phenol decreased. Volatile compounds characteristic for raspberry and tart cherry flavour were retained in the formulated complexes, but the complexes differed in their flavour profile from the juices. The adsorption of juice components on cellulose was also confirmed by recording the IR spectrum. During storage, there was a change in defined parameters, and it was determined that cellulose/raspberry complexes were more stable in terms of phenolic components. The results of this research confirmed the possibility of using cellulose as a carrier of phenolic and volatile components of raspberry or tart cherry, especially when cellulose is used in lower quantities for formulation of complexes.

Key words: cellulose, raspberry juice, cherry juice, phenols, antioxidant activity, volatile components, stability

Thesis contains: 121 pages
33 figures
33 tables
0 supplements
255 references

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: month, day, year (e.g. February 20, 2024.)

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

DO NOT COPY

Zahvaljujem...

DO NOT COPY

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	4
2.1. POLIFENOLI	5
2.3. POLIFENOLI MALINE	8
2.4. POLIFENOLI VIŠNJE	10
2.5. UTJECAJ POLIFENOLA VIŠNJE I MALINE NA ZDRAVLJE	12
2.6. AROMA	16
2.6.1. Aroma maline	17
2.6.2. Aroma višnje	17
2.6.3. Stabilnost i zadržavanje tvari arome	18
2.7. BOJA	20
2.8. PREHRAMBENA VLAKNA	21
2.8.1. Celuloza	21
2.8.2. Uloga prehrambenih vlakana u prevenciji i liječenju bolesti	26
2.8.3. Interakcija vlakana s fenolima	28
3. EKSPERIMENTALNI DIO	34
3.1. ZADATAK	35
3.2. MATERIJALI I METODE	37
3.2.1. Materijali	37
3.2.2. Priprema bioaktivnih dodataka hrani	38
3.2.3. Metode	39
4. REZULTATI	46
4.1. BIOAKTIVNI DODATCI HRANI NA BAZI CELULOZE I SOKA MALINE	47
4.1.1. Udio fenola i antocijana u kompleksima celuloza/malina	47
4.1.2. Udio pojedinačnih fenola u kompleksima celuloza/malina (HPLC)	49
4.1.4. Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/malina	50
4.1.5. Boja kompleksa celuloza/malina	51
4.1.6. Hlapljive komponente kompleksa celuloza/malina	53
4.1.7. FTIR-ATR kompleksa celuloza/malina	59
4.2. BIOAKTIVNI DODATCI HRANI NA BAZI CELULOZE I SOKA VIŠNJE	60
4.2.1. Udio fenola, antocijana i proantocijanidina u kompleksima celuloza/višnja	60
4.2.3. Udio pojedinačnih fenola u kompleksima celuloza/višnje (HPLC)	63
4.2.4. Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/višnja	64
4.2.5. Boja kompleksa celuloza/višnja	66
4.2.6. Hlapljive komponente kompleksa celuloza/višnja	67
4.2.7. FTIR-ATR analiza kompleksa celuloza/višnja	72
5. RASRAVA	73

5.1. UDIO FENOLA, ANTOCIJANA, PROANTOCIJANIDINA I POJEDINAČNIH FENOLA U KOMPLEKSIMA CELULOZA/MALINA I CELULOZA/VIŠNJA	74
5.2. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST KOMPLEKSA CELULOZA/MALINA I CELULOZA/VIŠNJA	81
5.3. BOJA KOMPLEKSA CELULOZA/MALINA I CELULOZA/VIŠNJA	84
5.5. UDIO HLAPLJIVIH KOMPONENATA U KOMPLEKSIMA	85
5.4. FTIR-ATR ANALIZA	93
6. ZAKLJUČAK.....	95
7. LITERATURA	102

DO NOT COPY

Popis oznaka, kratica i simbola

AACC (eng. American Association of Cereal Chemists)

ANOVA analiza varijanci (eng. Analysis of variance)

HPLC Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. High-Performance Liquid Chromatography)

GC-MS Plinska kromatografija sa spektrometrijom masa (engl. Gas chromatography–mass spectrometry)

FTIR Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (engl. Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

DPPH 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

ABTS 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)

FRAP (eng. *Ferric Reducing Antioxidant Power*)

CUPRAC (eng. *CUPric Reducing Antioxidant Capacity*)

GAE Ekvivalent galne kiseline (eng. *galic Acid Equivalent*)

LDL Lipoprotein niske gustoće (eng. *low density lipoprotein*)

TPTZ 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine

IR Infracrveno (eng. *infrared*)

SPME mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (eng. *solid-phase microextraction*)

DO NOT COPY

1.UVOD

Posljednjih godina sve su veći zahtjevi potrošača za funkcionalnim prehrambenim proizvodima koji u svom sastavu, osim značajnih nutritivnih komponenti sadrže i bioaktivne tvari koje imaju pozitivan utjecaj na zdravlje i prevenciju različitih bolesti. Međutim, pored nutritivne vrijednosti, senzorske karakteristike (posebice boja i aroma) prehrambenih proizvoda imaju vrlo važan utjecaj na percepciju kvalitete proizvoda od strane potrošača. Stoga je neophodno očuvati prirodno prisutne bioaktivne komponente, tvari boje i arome proizvoda. Voće sadrži bioaktivne komponente, ali problem je što vrlo često one nisu u značajnim koncentracijama koje se vežu s pozitivnim utjecajem na zdravlje ili nisu u kemijskom obliku koji je biodostupan. Iz tog razloga sve veća pažnja se posvećuje razvoju novih bioaktivnih dodataka hrani koji će imati pozitivan utjecaj na zdravlje, ali su potrebna dodatna istraživanja usmjerena na njihovo formuliranje kao i na kvalitetu proizvoda u koji se dodaju. Formuliranje kompleksa koji spajaju vlakna i fenole je vrlo važna tema i brojna istraživanja su posvećena istraživanju navedenih kompleksa, njihovoj stabilnosti i mogućem utjecaju na zdravlje, kao i na kvalitetu proizvoda (Bordenave i sur., 2014). Fenolni spojevi i vlakna su funkcionalni spojevi u hrani biljnog porijekla koji su odgovorni za prevenciju mnogih bolesti i poboljšanje zdravstvenog stanja ljudskog organizma (Liu i sur., 2017). Prehrambena vlakna se definiraju kao neprobavljivi ostaci jestivih dijelova biljaka ili analozi ugljikohidrata koji se ne adsorbiraju u tankom crijevu, ali mogu potpuno ili djelomično fermentirati u debelom crijevu (AACC, 2001). Glavna prehrambena vlakna su polisaharidi koji se ne ubrajaju u škrob, a mogu se dijeliti na topljiva i netopljiva vlakna. Netopljiva vlakna su celuloza, hemiceluloza i hitin (i njegovi derivati), a topljiva vlakna su pektini, β -glukan, gume, oligosaharidi i inulin (Burton-Freeman, 2000). Prehrambena vlakna su istaknuta kao spojevi čijim se unosom u organizam smanjuje rizik od razvoja srčanih bolesti, hipertenzije, šećerne bolesti, pretilosti i nekih gastrointestinalnih poremećaja (Anderson i sur., 2009). S druge strane, polifenoli su posljednjih godina predmet brojnih istraživanja te su okarakterizirani kao komponente s antioksidacijskim, protuupalnim, antimikrobnim i antiproliferacijskim djelovanjem (Velderrain-Rodriguez i sur., 2014). U biljnim stanicama, polifenoli su prvenstveno smješteni u vakuolama, te tijekom branja, procesiranja i konzumacije dolaze u interakciju s komponentama staničnih stjenki koje se prvenstveno sastoje od celuloze, hemiceluloze i pektina (Phan i sur., 2015). Tijekom procesiranja namirnica biljnog porijekla, posebno voća i povrća, osjetljive komponente poput polifenola i tvari arome mogu se potpuno izgubiti. Jedan od načina kako postići stabilnost fenola i tvari arome je formuliranje kompleksa s prehrambenim vlaknima, odnosno s prirodnim komponentama za kreiranje funkcionalnih dodataka. Dobiveni funkcionalni dodatci mogu se dodavati u prehrambene proizvode poput pekarskih, mliječnih proizvoda te proizvoda na bazi voća. Za pripremu novih bioaktivnih dodataka odabrana je celuloza kao predstavnik prehrambenih vlakana te sokove od maline i višnje kao izvor fenolnih i hlapljivih komponenti. Celuloza je složeni ugljikohidrat sastavljena od linearno povezanih jedinica glukoze. Najrasprostranjeniji i najzastupljeniji je ugljikov spoj u

prirodi (Klemm i sur., 2005). Fizikalna i kemijska svojstva celuloze i njezinih derivata omogućavaju njihovu široku primjenu u prehrambenoj industriji. Koristi se u proizvodnji biorazgradive ambalaže za prehrambene proizvode, kao niskokalorična zamjena za ugljikohidrate, kao hidrokoloide i stabilizatori suspenzija. Celuloza je pokazala dobro svojstvo „nosača“ drugih komponenti te se stoga može koristiti za zaštitu nutritivnih i bioaktivnih komponenti u prehrambenim proizvodima (Mu i sur., 2019). Višnja i malina su plodovi biljaka iz porodice ruža (lat. *Rosaceae*) koji sadrže značajnu količinu bioaktivnih komponenti od kojih su polifenoli najzastupljeniji. Plod maline sadrži niz fenolnih spojeva, među kojima prevladavaju antocijani i elagitanini, praćeni znatno nižim koncentracijama flavonoida, fenolnih kiselina i flavan-3-ola. Elagitanini su skupina hidrolizirajućih tanina karakterističnih za porodicu *Rosaceae* (Rao i sur., 2010). Višnje su bogate flavonolima, antocijanima i klorogenskom kiselinom (Mayta-Apaza, 2018). Maline i višnje sadrže veliku količinu hlapljivih komponenti zaslužnih za njihov specifičan okus i miris. Najčešće su to terpeni, aldehidi, ketoni i esteri. Benzaldehid je spoj koji je karakterističan za aromu višnje, dok su β -jonon i α -jonon najvažnije komponente arome maline (Zlatic i sur., 2017; Jaeger i sur., 2013; Fehr i sur., 1992).

Većina dosadašnji istraživanja uglavnom je bila usmjerena ka ispitivanju biodostupnosti i bioraspoloživosti fenola (antocijana i fenolnih kiselina) vezanih na složene komponente staničnih stjenki biljaka u gastrointestinalnom traktu pri različitim uvjetima, te pregledu utjecaja vrste molekularnih veza na njihovu međusobnu interakciju (Padayachee i sur., 2012a,b). Novija istraživanja usmjerena ka proučavanju polimer/fenol kompleksa usmjerena su na adsorpciju fenola iz različitih biljnih izvora na polimere i njihovu primjenu za obogaćivanje prehrambenih proizvoda (Quiros-Sauceda i sur., 2014), dok je aroma istih uglavnom zanemarena. Tijekom godina utvrđena je mogućnost primjene nekih vrsta ugljikohidrata poput dekstrina, škroba, λ -karagenana, β -ciklodekstrina, ksantana, guar gume i pektina u svrhu postizanja stabilnosti i zadržavanje hlapljivih spojeva (Boland i sur., 2006; Hansson i sur., 2001; Goubet i sur., 1998; Godshall i sur., 1997).

Obzirom da su sokovi višnje i maline kompleksni sustavi koji sadrže značajne količine fenolnih i hlapljivih spojeva, cilj ovog istraživanja je ispitati mogućnost primjene celuloze kao nosača i fenolnih i hlapljivih komponenti. Ujedno će se odrediti i antioksidacijska aktivnost i boja formuliranim kompleksa, te njihova stabilnost tijekom skladištenja.

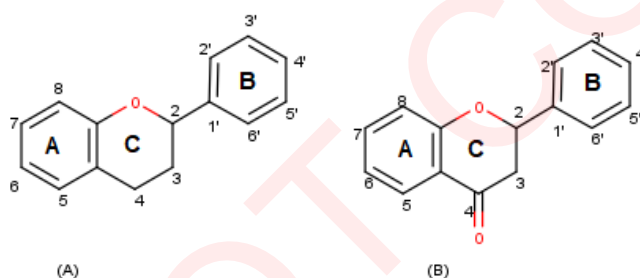
DO NOT COPY

2. TEORIJSKI DIO

2.1. POLIFENOLI

Polifenoli su široko rasprostranjena skupina spojeva koji se nalaze u stanicama biljnog porijekla. Osnovu njihove kemijske strukture čine jedna ili više –OH skupina vezanih na benzenski prsten (Martens i Mithofer, 2005). Polifenoli su produkti sekundarnog metabolizma biljaka koje dijelimo na jednostavne polifenolne molekule poput flavonoida, fenolnih kiselina (hidoksicimetne, hidroksibenzojeve), stilbena, benzokinona, kumarina, kromona, naftokinona, ksantona, i složenih polifenolnih molekula poput tanina ili lignina (Robards i Antolovich, 1997; Robards i sur., 1999).

Flavonoidi su najveća i najvažnija skupina polifenola (Robards i Antolovich, 1997). Strukturu flavonoida čini flavonoidna jezgra koja se sastoji od tri fenolna prstena: A, B i C. Dijele se na derivate benzo- γ -pirona (**Slika 1B**) i benzo- γ -pirana (**Slika 1A**), ovisno o stupnju oksidacije na C prstenu.



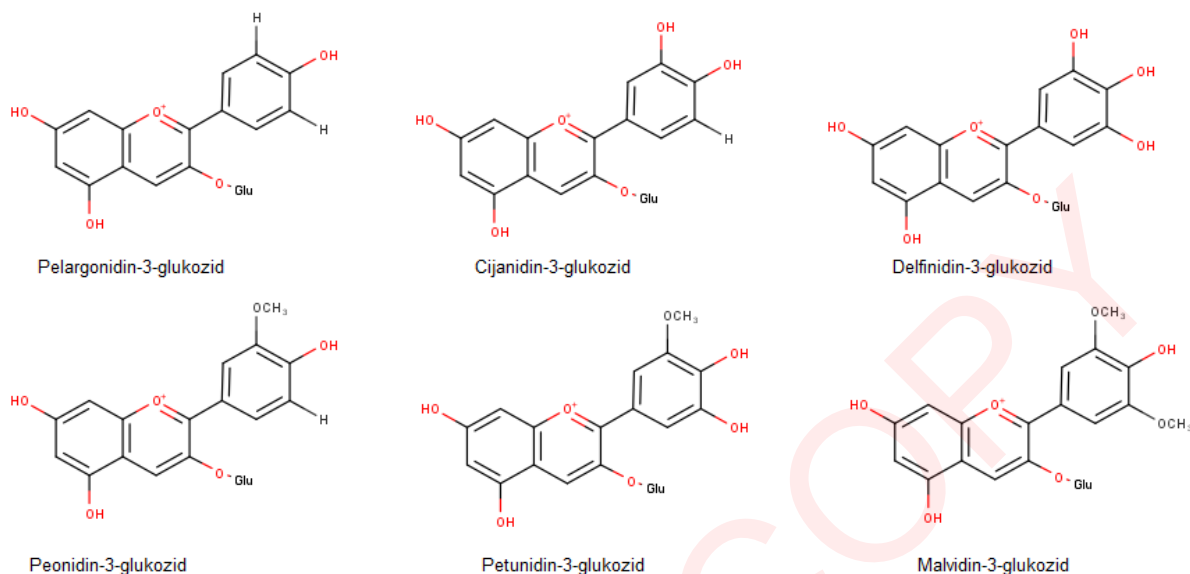
Slika 1 Struktura flavonoida: benzo- γ -piran (flavan) (A) i benzo- γ -piron (flavon)

(B) (Aherne i O'Brien, 2002)

U prirodi se najčešće nalaze u obliku glikozida, tj. povezani su s molekulama šećera što pridonosi velikoj raznolikosti i velikom broju flavonoida u prirodi. Šećer koji je najčešće vezan na molekulu flavonoida je glukoza, no vezati se mogu i arabinoza, galaktoza, ramnoza, ksiloza, glukoramnoza. Na molekulu flavonoida od disaharida najčešće se vežu rutinoza i neohesperidoza. U skupinu flavonoida ubrajaju se antocijani, flavonoli i flavan-3-oli (flavanoli ili katehini) (Azofeifa, 2014).

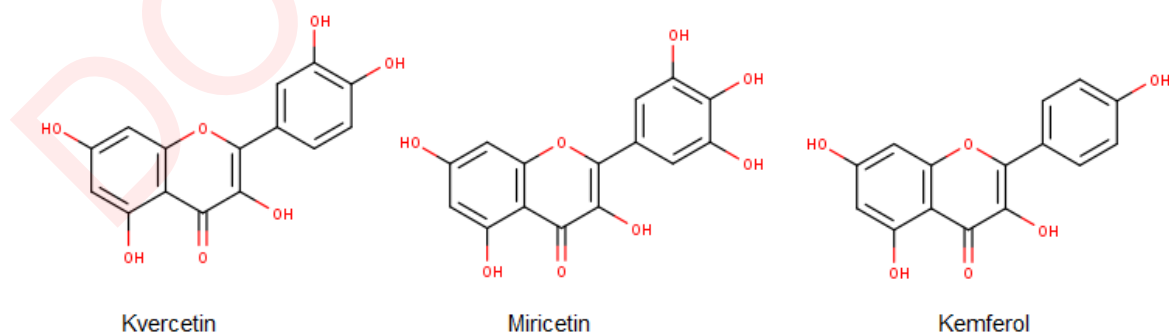
Antocijani su biljni pigmenti topivi u vodi koji voću, povrću i cvijeću daju purpurnu, plavu i crvenu boju. Po svojoj kemijskoj strukturi su polimetoksi i/ili polihidroksi flavilium soli (Brouillard, 1982). Osnovni dio antocijana je aglikon - flavilium kation. Aglikoni se nazivaju antocijanidini i obično su penta ili heksa supstituirani. Razlikujemo šest osnovnih antocijanidina, a to su: cijanidin, delphinidin, pelargonidin, peonidin, petunidin i malvidin. Vezanjem antocijanidina i šećera nastaju molekule antocijana (Francis, 1989). Antocijanidini se rijetko nalaze u prirodi u slobodnom obliku, te se češće nalaze u obliku glikozida odnosno

antocijana jer su zbog glikozilacije stabilniji i topljiviji u vodi (Rein, 2005). Na **Slici 2** prikazani su najčešći glukozidi antocijana.



Slika 2 Kemijska struktura osnovnih glukozida antocijana (Clifford, 2000)

Flavonole karakterizira osnovna $C_6-C_3-C_6$ struktura. Slabo su topivi u vodi i žute su boje (Robards i sur., 1999; Häkkinen, 2000). U stanicama se nalaze isključivo kao glikozidi u kojima je na C3 atom vezana jedna šećerna jedinica, dok je manje uobičajeno da je vezanje na C7 poziciji. Najčešći šećer koji se veže na molekulu aglikona je glukoza, međutim mogu se vezati i galaktoza, arabinoza, ksiloza i ramnoza. Do sada je identificirano oko 200 aglikona flavonola, a za voće su najuobičajeniji kvercetin, miricetin i kempferol (**Slika 3**) (Robards i sur., 1999; Häkkinen, 2000).

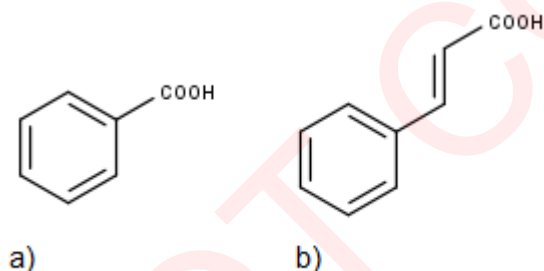


Slika 3 Kemijska struktura osnovnih flavonola

Flavanole također karakterizira osnovna $C_6-C_3-C_6$ struktura flavonoidna struktura. Često se nazivaju flavan-3-oli, gdje se hidroksilna skupina veže na C3 atom. Flavanoli se također

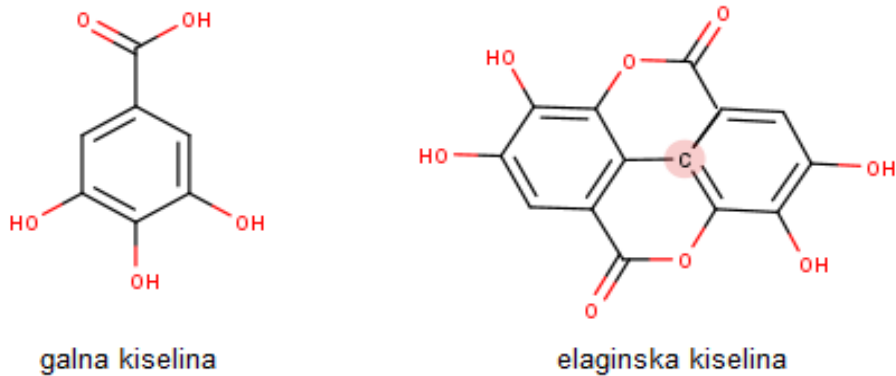
nazivaju i katehini te nemaju svojstva ketona kao što imaju flavononoli. Najdominantniji flavanoli su (+)-katehin, (-)-epikatehin, (+)-galokatehin i (-)-epigalokatehin te esteri galne kiseline: (-)-epikatehin galat i (-)-epigalokatehin galat. Flavanoli su jedini flavonoidi koji se ne nalaze u glikozidnom obliku. Imaju sposobnost polimerizacije koja se obično događa kao rezultat autooksidacije, ali češće kao rezultat djelovanja enzima (polifenoloksidaza) koji se nalazi u biljnom tkivu (Hollman i Arts, 2000). Polimerni oblici odgovaraju procijanidinima, te se još nazivaju i proantocijanidini ili kondenzirani tanini (Tsao i McCallum, 2010). U voću se flavanoli najčešće nalaze u obliku proantocijanidini ili tanina, no moguće je pronaći i slobodne monomerne flavanole kao što su (+)-katehin, (-)-epikatehin, (+)-galokatehin, (-)-epigalokatehin (Mattila i sur., 2006).

Fenolne kiseline su također važna skupina polifenola. One mogu biti derivati cimetine ili benzojeve kiseline (**Slika 4**). Rijetko se nalaze u slobodnom obliku, a najčešće su esterificirane s vinskom ili kina kiselinom.



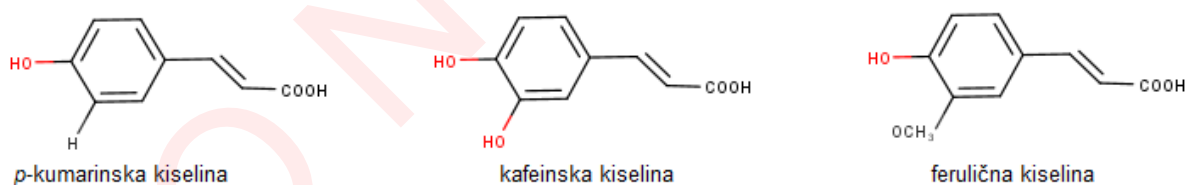
Slika 4 Kemijska struktura fenolnih kiselina a) hidroksibenzojeva, b) hidroksicimetna

Hidroksibenzojeve kiseline imaju općenitu C₆-C₁ strukturu koja potječe od benzojeve kiseline. Zbog hidroksilacije ili metilacije na aromatskom prstenu molekule, hidroksibenzojeve kiseline javljaju se u različitim strukturama. U pojedinim vrstama voća nalaze se u slobodnom obliku, ali se uglavnom nalaze u konjugiranom obliku i oslobađaju se tijekom procesiranja voća i povrća. Mogu biti konjugirane sa šećerima ili organskim kiselinama i kao takve se vezati na dijelove stanične strukture. Najčešće hidroksibenzojeve kiseline su *p*-hidroksibenzojeva, vanilinska, siriginska i protokatehinska kiselina. Osim spomenutih, i galna i elaginska kiselina (**Slika 5**) također pripadaju skupini hidroksibenzojevih kiselina (Tomás-Barberán i Clifford, 2000.; Häkkinen, 2000).



Slika 5 Kemijska struktura hidroksibenzojevih kiselina

Hidroksicimetne kiseline češće se pronalaze u prirodi u odnosu na hidroksibenzojeve kiseline. Glavni su sastavni dijelovi staničnih stijenki biljnih stanica. Nalaze se u svim dijelovima voća, no najveće koncentracije su u vanjskim dijelovima. Koncentracija im se smanjuje dozrijevanjem plodova, a ukupna količina se povećava zbog povećanja veličine ploda. Rijetko se mogu naći u slobodnom obliku jer su uglavnom esterificirane te se nalaze u obliku amida ili su vezane sa šećerima u obliku glikozida (Kroon i Williamson, 1999.; Häkkinen, 2000). Najpoznatije i najučestalije hidroksicimete kiseline su kafeinska, *p*-kumarinska, ferulična i sinapična kiselina (**Slika 6**). Kafeinska ili kava kiselina u svom slobodnom ili esterificiranom obliku, najrasprostranjenija je fenolna kiselina i predstavlja 75 - 100% ukupnog sadržaja hidorksicimetnih kiselina u voću (Manach i sur., 2004).



Slika 6 Kemijska struktura tri najčešće hidroksicimetne kiseline (Häkkinen, 2000)

2.3. POLIFENOLI MALINE

Malina (*Rubus idaeus* L.) je biljna vrsta koja pripada porodici *Rosaceae*, rodu *Rubus* (Bačić i Sabo, 2006). Plodovi maline sadrže brojne organske i anorganske molekule koje imaju visoku nutritivnu vrijednost. Sadržaj nutritivnih tvari u plodovima maline ovisi o karakteristikama sorte, stupnju zrelosti, ekološkim uvjetima područja uzgoja, uvjetima nakon berbe te načinu skladištenja (Bravo, 2009). U 100 g svježih plodova maline najviše je vode (oko 85,75 g) nakon koje slijede ugljikohidrati (11,49 g) od čega na šećere otpada oko 4,42 g. Od minerala najviše je kalija (151 mg), u manjim količinama ima fosfora, kalcija i magnezija, dok su od vitamina u

najvećoj mjeri zastupljeni vitamin C (26,2 mg), vitamin A (33 IU) i lutein + zeaksantin (136 µg) (USDA, 2019) (**Tablica 1**).

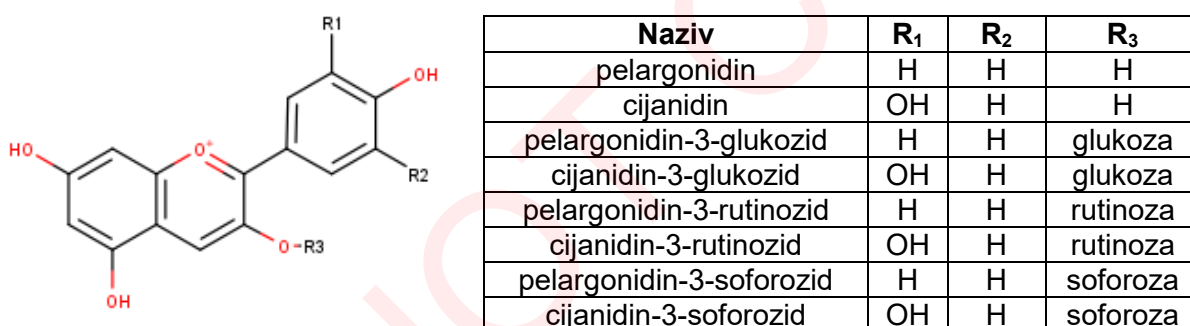
Tablica 1 Prosječan kemijski sastav maline na 100 g ploda prema američkoj bazi nutrijenata (Burton-Freeman i sur., 2016)

Parametar	Mjerna jedinica	Vrijednost
Energetska vrijednost	kcal	52
Voda	g	85,75
Proteini	g	1,20
Ukupni lipidi	g	0,65
Pepeo	g	0,46
Ugljikohidrati	g	11,94
Ukupna vlakna	g	6,5
Ukupni šećeri	g	4,42
Kalcij	mg	25
Željezo	mg	0,69
Magnezij	mg	22
Fosfor	mg	29
Kalij	mg	151
Natrij	mg	1
Cink	mg	0,42
Bakar	mg	0,090
Mangan	mg	0,670
Selenij	mg	0,2
Vitamin C	mg	26,2
Vitamin B ₁	mg	0,032
Vitamin B ₂	mg	0,038
Vitamin B ₃	mg	0,598
Pantotenska kiselina	mg	0,329
Vitamin B ₆	mg	0,055
Ukupni folati	µg	21
Vitamin A	IU	33
β-karoten	µg	12
α-karoten	µg	16
Lutein + zeaksantin	µg	136
Vitamin E (α-tokoferol)	mg	0,87
Vitamin K	µg	7,8

Pored makronutrijenata, vitamina i minerala, istraživanjima je utvrđeno da su maline dobar izvor polifenola. Najzastupljeniji polifenoli u malinama su antocijani i elagitanini. Antocijani su odgovorni za intenzivnu crvenu boju malina. Ukupni sadržaj antocijana određivan HPLC-om u različitim istraživanjima varira, zbog razlike u sorti malina, godišnjem dobu, stupnju zrelosti i varijacijama metoda koje se koriste za kvantifikaciju spojeva (Beekwilder i sur., 2005, Wu i sur., 2006; Koponen i sur., 2007; Mazur i sur., 2014). Cijanidin-3-soforozid, cijanidin-3,5-diglukozid, cijanidin-3-(2G-glukozilrutinozid), cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-rutinozid, pelargonidin-3-soforozid, pelargonidin-3-(2G-glukorutinozid), pelargonidin-3-glukozid i

pelargonidin-3-rutinozid najzastupljeniji su antocijani u malinama (Kassim i sur., 2009; Maatta-Riihinen i sur., 2009; Mullen i sur., 2002). Iako svo bobičasto voće sadrži antocijane na bazi cijanidina, nemaju svi iste glikozidne jedinice. Soforozidna jedinica je jedinstveni cijanidin glikozid u malinama (da Silva i sur., 2007; Dossett i sur., 2011). Maline sadrže približno $92,1 \pm 19,7$ mg antocijana/100 g svježeg voća u omjeru cijanidina i pelargonidina 3:1 (Wu i sur., 2006). Antocijani u malinama doprinose približno 25% njezinoj antioksidativnoj aktivnosti (Beekwilder i sur., 2005).

Od flavanola najviše su zastupljeni epikatehin i katehin, a od flavonola najzastupljeniji su kvercetin 3-O-glukozid, kvercetin 3-O-rutinozid i kempferol 3-O-glukozid. Antioksidativna svojstva antocijana stoga doprinose zdravstvenim dobrobitima crvenih malina. Maline sadrže fenolne kiseline od koji su najzastupljenije hidroksicimetne kiseline (kafainska, *p*-kumarinska kiselina i ferulinska kiselina) i hidroksibenzojeve kiseline (elaginska kiselina i *p*-hidroksibenzojeva kiselina) te složene polifenole (kondenzirani tanini) (Jakobek i sur., 2007; Bravo, 1998; Waterman i sur., 1994).



Slika 7 Struktura glavnih antocijanidina i antocijana u malinama (Burton-Freeman i sur., 2016)

Elagitanini su druga najveća skupina polifenola u malinama. Karakterizirani su kao tanini koji se mogu hidrolizirati, a esteri su heksahidroksidifenolne skupine koja se sastoji od glukoze ili kininske kiseline. Elagitanini daju molekulu dihidroksidifenolne molekule koja se kiselinom hidrolizom preuređuje do elagične kiseline, a pronađena je samo u nekoliko sirovina, uključujući jagode, kupine, borovnice, maline, šipak i neki orašaste plodove (Lipinska i sur., 2014). Sanguin H-10 i lambertianin glavni su elagitanini prisutni u malinama (Dincheva i sur., 2013).

2.4. POLIFENOLI VIŠNJE

Višnja (lat. *Prunus cerasus* L.) je koštunjicavo voće koje pripada porodici ruža (*Rosaceae*), rodu *Prunus*, podrodu *Cerasus*. Na kemijski sastav višnje utječu brojni parametri poput sorte, stupnja zrelosti, agrotehničkih mjera i okolišnih uvjeta prilikom uzgoja voća. Općenito, udio topljivih tvari povećava se s povećanjem zrelosti ploda. Voda i ugljikohidrati su glavne

komponente ploda višnje. Glukoza je najzastupljeniji šećer bez prisutnog škroba, a jabučna kiselina u rasponu od 600 do 900 mg/100 g svježeg voća je najdominantnija organska kiselina (Serradilla i sur., 2016). Višnja je dobar izvor kalija, dok su drugi minerali prisutni u nižim koncentracijama. Od vitamina najzastupljeniji je vitamin A. Sastav makro- i mikro-nutrijenata te fitokemikalija u višnjama prikazan je u **Tablici 2**.

Tablica 2 Prosječan kemijski sastav višnje na 100 g ploda prema američkoj bazi nutrijenata (Sabou i sur., 2021)

Parametar	Mjerna jedinica	Vrijednost
Energetska vrijednost	kcal	50
Voda	g	86
Proteini	g	1,00
Lipidi	g	0,30
Ugljikohidrati	g	12,2
Vlakna	g	1,60
Šećeri	g	8,49
Magnezij	mg	9,0
Fosfor	mg	15,0
Natrij	g	3,0
Kalij	mg	173
vitamin C	mg	10
Vitamin B ₁	mg	0,03
Vitamin B ₂	mg	0,04
Vitamin B ₃	mg	0,40
Pantotenska kiselina	mg	0,24
Vitamin B ₆	mg	0,04
Ukupni folati	mg	8,0
Vitamin A	IU	1283
β-karoten	μg	770
Lutein + zeaksantin	μg	85
Vitamin E (α-tokoferol)	mg	0,07
Vitamin K	μg	2,1

Višnja je bogata fenolnim komponentama (**Tablica 3**). Najmanje 24 antocijana, 12 fenolnih kiselina, 17 flavanola i 18 flavona identificirano je u višnjama (Poonam i sur., 2011). Antocijani se sintetiziraju sazrijevanjem višnje uz vidljivu promjenu boje od zelene do tamno crvene (Karaaslan i sur. 2016). Višnje imaju veliku koncentraciju antocijana i fenolnih kiselina koji imaju inverzan odnos: u ranoj fazi sazrijevanja plod je bogatiji fenolnim kiselinama dok se sinteza antocijana povećava završetkom sazrijevanja (Karaaslan u sur., 2016), rezultirajući pojavom tamnocrvene boje zrelog ploda višnje. Najzastupljeniji antocijani u višnjama su cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-glukozil-rutinozid, cijanidin-3-ramnoglukozid, cijanidin-3-soforozid, peonidin-3-glukozid i peonidin-3-rutinozid (Poonam i sur., 2011). Cijanidin-3-glukozil-rutinozida ima najviše u svježem plodu višnje (17,3 - 71,9 mg/100 g) kao i u svježem soku (140,3 - 320,9 mg/L) (Damar i Eksi, 2012). Iako najzastupljeniji fenolni spojevi u višnjama, antocijani su nestabilne komponente te očuvanje njihove stabilnosti predstavlja veliki izazov

za prehrambenu industriju (Zorić i sur., 2016). Flavonoli su podgrupa flavonoida koji značajno doprinose antioksidativnoj aktivnosti proizvoda (Kirakosyan i sur., 2009). Sadržaj flavonola u proizvodima od višanja značajno varira, te ovisi o vrsti proizvoda, uvjetima tijekom procesa proizvodnje te okolišnim i poljoprivrednim uvjetima u kojima se voće uzgaja (Toydemir i sur., 2013). U istraživanjima interakcije izoliranih polifenola iz višnje, otkriveno je da su kempferol i kvercetin bili primarni nositelji antioksidativnih svojstava (Kyrakosyan i sur., 2009). U soku višnje identificirani su kempferol-3-rutinozid, kvercetin-3-glukozid, kvercetin-3-rutinozid, kvercetin-3-(2-glukozil-rutinozid) i izorhamnetin rutinozid. Utvrđeno je da su stabilni u soku višnje skladištenom šest mjeseci na temperaturi zamrzavanja (-25 °C) (Bonerz i sur. 2007a; Li i sur., 2008). Od flavan-3-ola (flavanola), istraživanjima je utvrđeno da najviše ima procijanidina B1, procijanidin dimera, procijanidin trimera i procijanidin tetramera. Pored procijanidina pronađeni su također i monomeri (+)-katehina, (-)-epikatehina i (+)-galokatehina (Levaj i sur., 2010; Woydylo i sur., 2014 a,b). Woydylo i sur. (2014b) utvrdili su da je u 33 proučavane sorte višanja neoklorogenska kiselina bila najzastupljeniji derivat hidroksicimetne kiseline (47%), zatim klorogenska kiselina (30%) i *p*-kumaroilkininska kiselina (19%). Levaj i sur. (2010) u sortama *Maraska* i *Oblačinska* od fenolnih kiselina zabilježili su derivate kafeinske kiseline, *p*-kumarinske i klorogenske kiseline.

Tablica 3 Pregled najzastupljenijih antocijana, flavonola i fenolnih kiselina u višnjama i proizvodima od višnje (Mayta-Apaza i sur., 2018)

Antocijani	Flavonoli	Flavna-3-oli	Fenolne kisline
cijanidin-3-glukozid	izorhamnetin rutinozid	procijanidin B1	neoklorogenska kiselina
cijanidin-3-glukozil-rutinozid	kempferol	procijanidin B2	klorogenska kiselina
cijanidin-3-ramnoglukozid	kvercetin	procijanidin trimer	kafeinska kiselina
cijanidin-3-soforozid	kvercetin-3-(2-glukozil-rutinozid)	procijanidin tetramer	
	kvercetin-3-rutinozid	(-)-epikatehin	
	kvercetin-3-glukozid	(+)-katehin	
	kempferol-3-rutinozid	(+)-galokatehin	

2.5. UTJECAJ POLIFENOLA VIŠNJE I MALINE NA ZDRAVLJE

Epidemiološka ispitivanja pokazala su pozitivnu povezanost između konzumiranja voća i povrća i smanjenja stupnja obolijevanja od bolesti krvožilnog sustava, tumorskih i drugih degenerativnih bolesti kao i usporavanja starenja. Višnje i maline sadrže fitokemikalije koje imaju protuupalno i antioksidativno djelovanje. Postoji nekoliko istraživanja koja sugeriraju da bi dobrobiti za promicanje zdravlja mogle biti povezane s konzumacijom višanja uključujući učinke na kronične bolesti poput tumora, dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti (Bajerska i sur.,

2016; Czompa i sur., 2014; Bobe i sur, 2006; Martin i Wooden, 2012; Saleh i sur. 2017). Antioksidansi višnje ubrzavaju oporavak mišića te smanjuju upalni proces, oksidativni stres i bol prouzrokovanu dugotrajnim vježbanjem (Bell i sur., 2014). Nadalje, konzumacijom soka višnje sprječava se i smanjuje upala respiratornog sustava kod atletičara te dovodi do njihovog bržeg oporavka (Dimitriou i sur., 2015). Fenolne komponente imaju pozitivan utjecaj na sprječavanje razvoja i napredovanje dijabetesa (Lachin, 2014). Za hidrolizu ugljikohidrata zaslužna su dva enzima: crijevna α -glukozidaza i α -amilaza gušterače. Jedan od načina kontrole dijabetesa tip 2 i hiperglikemije je inhibicija rada ova dva enzima. Nowicka i sur. (2016) utvrdili su *in vitro* testovima da se konzumacijom smoothi-a od višanja i drugog voća bogatog fitokemikalijama može smanjiti aktivnost ova dva enzima. Drugo *in vitro* istraživanje je dodatno pokazalo da antocijani višanja imaju inhibitorni utjecaj na enzim α -amilazu (Homoki i sur., 2016). Još jedan zdravstveni problem povezan s dijabetesom je pretilost i štetan utjecaj masti na metabolizam. U istraživanjima provedenim na miševima konzumacijom ekstrakta višnje došlo je smanjenja koncentracije glukoze u krvi te smanjenja lipida u adipoznom tkivu i tkivu jetre (Snyder i sur., 2016). Casedas i sur. (2016) utvrdili su da sok višnje može imati zaštitni utjecaj od pojave neuroloških bolesti, s antidepresivnim i anksiolitičkim svojstvima, vjerojatno zbog sposobnosti inhibicije monoaminooksidaze A i tirozinaze. Višnje također smanjuju rizik od pojave gihta, specifičnog stanja upalnog artritisa (Zhang i sur., 2012).

Istraživanja *in vitro* i *in vivo* otkrila su razne mehanizme putem kojih antocijani i elagitanini (preko elaginske kiseline ili njihovih metabolita urolitina) i ekstrakti maline (ili cjelovitog voća) mogu smanjiti rizik ili promijeniti smjer metaboličkih procesa koje dovode do patofiziološkog stanja organizma. Komponente maline su pokazale pozitivni utjecaj na smanjenje oksidativnog stresa i upalnih procesa u *in vivo* istraživanjima na životinjskim modelima. Na malom broju istraživanja na ljudima nije se dokazao veliki utjecaj ekstrakta bobičastog voća koji je sadržavao maline, na smanjenje oksidativnog stresa i upalnih procesa (Burton-Freeman i sur., 2016). Komponente malina mogu utjecati na smanjenje rizika od pojave kardiovaskularnih bolesti. Većina istraživanja provedena je na životinjama i *in vitro*, te su pokazala da komponente malina utječu na tradicionalne čimbenike rizika od pojave kardiovaskularnih bolesti (odabrane lipide i lipoproteine te krvni tlak). Elaginska kiselina, primarni produkt razgradnje elagitanina, pridonosi ovim učincima (Burton-Freeman i sur., 2016). Maline i njezine polifenolne komponente (antocijani i elagitanini) čine je dobrim izborom za redovito uključivanje u prehranu s ciljem smanjenja rizika od pojave šećerne bolesti. Navodni mehanizam za smanjenje postprandijalne glukoze je ograničavanje apsorpcije glukoze inhibicijom enzima α -amilaze i aktivnosti α -glukozidaze. Ekstrakt maline u usporedbi s ostalim ekstraktima bobičastog voća, pokazao se najučinkovitijim u sprječavanju aktivnosti α -amilaze (McDougall i sur., 2005; Grussu i sur., 2011), dok je inhibicija α -glukozidaze bila djelomična.

Grusso i sur. (2011) pretpostavili su da su proantocijanidini važni inhibitori aktivnosti α -amilaze. Utvrđeno je da cijanidin-3 glukozid i elagitanini inhibiraju enzime, crijevnu α -glukozidazu i pankreasnu α -amilazu. Osim dijabetesa, pojedinim istraživanjima na životinjama utvrđeno je da fitokemikalije smanjuju nakupljanje lipida u tkivu jetre, što se smatra da je povezano s fenolnim kiselinama poput klorogenske kiseline i njezinih metabolita kojih u velikoj koncentraciji ima u višnjama. Autori su utvrdili da ketoni maline sprječavaju pretilost i masnu jetru mijenjanjem metabolizma lipida, posebno povećanjem noradrenalina koji nastaje uslijed povećane lipolize masnih stanica. Istraživanja na adipocitima (masnim stanicama) potvrdila su tezu da ketoni maline imaju pozitivan utjecaj na metabolizam lipidnih stanica (povećanu lipolizu te oksidaciju masnih kiselina i sprječavanje nakupljanja lipida) (Park, 2010; Park, 2015). Elaginska kiselina koja je dominantna u malinama inhibira razvoj amiloid- β -protein oligomera čijim se nakupljanjem na moždanim stanicama povećava rizik od nastanka Alzheimerove bolesti (Fortalezas i sur., 2010).

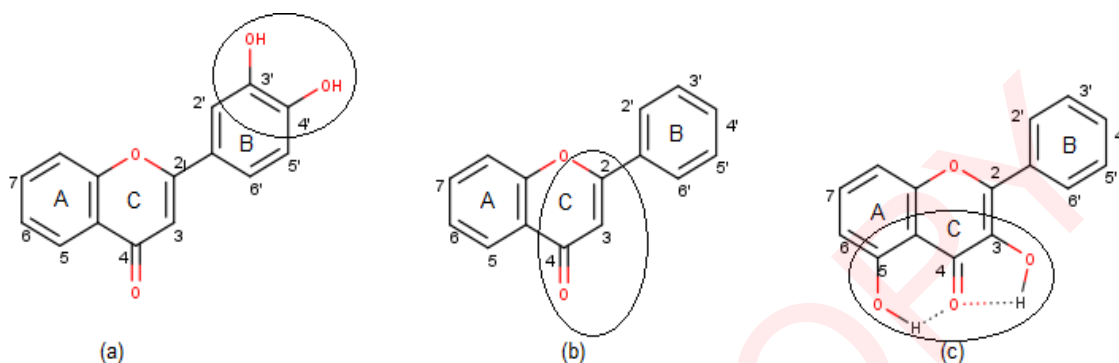
2.2. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST

Antioksidans je svaka tvar koja odgađa, sprječava ili potpuno uklanja oksidativno oštećenje ciljane molekule (Halliwell i sur., 2007). Antioksidansi su fitokemikalije, vitamini i hranjive tvari koje štite stanice od oštećenja uzrokovanih slobodnim radikalima. Slobodni radikali su nestabilne i vrlo reaktivne molekule koji u svojoj vanjskoj elektronskoj ljusci imaju nesparen elektron te tako mogu donirati elektron ili ga uzeti drugoj molekuli kako bi postigli stabilnost, stoga se mogu ponašati kao oksidansi ili reducensi. Slobodni radikali proizašli iz kisika su superoksidni anion (O_2^-), hidroksilni radikal (HO^\cdot), peroksilni radikal (ROO^\cdot) i aloksilni radikal (RO^\cdot) (Jakobek, 2007). Proces autooksidacije i razvoja užeglosti hrane uključuje lančani mehanizam slobodnih radikala koji se sastoji od tri koraka: inicijacije, propagacije i terminacije. U koraku „inicijacije“ nastaju slobodni radikali koji reagiraju sa nezasićenim masnim kiselinama oduzimanjem vodikovog atoma s mjesta najniže energije. Drugi korak je propagacija ili lančana reakcija u kojoj reakcijom slobodnih radikala i nezasićenih masnih kiselina nastaju novi slobodni radikali. Lančana reakcija se prekida kada antioksidans donira svoj elektron slobodnom radikal, čime završava faza propagacije (Kaur i Kapoor, 2001).

Antioksidansi u hrani definiraju se kao sastojak koji može odgoditi ili zaustaviti proces oksidacije odnosno kvarenja, pojave nepoželjne boje i arome. Voće i povrće bogati su izvori antioksidansa. Polifenoli, posebno flavonoidi su tipični antioksidansi (Shi i sur., 2001). U antioksidanse ubrajamo također i vitamine (vitamin A, vitamin C, tokoferoli), minerale (kalicij, selen) kao i prehrambena vlakna (Kaur i Kapoor, 2001, Young i Woodside, 2001). Antioksidacijska aktivnost flavonoida značajno ovisi o kemijskoj strukturi molekule i orijentaciji

kemijskih grupa (**Slika 8**). Tri su osnovne strukture flavonoida koje imaju sposobnost reagiranja i uklanjanja slobodnih radikala (Shi i sur., 2001):

- (a) orto 3,4-dihidroksi struktura na B prstenu;
- (b) 2,3,-dvostruka veza povezana s 4-keto grupom na C prstenu;
- (c) Prisustvo OH grupa na 3 i 5 poziciji.



Slika 8 Veza između strukture flavonoida i antioksidativne aktivnosti (Shi i sur., 2001)

Povećan broj hidroksilnih skupina važan je čimbenik antioksidacijske aktivnosti polifenola. Posebno su važne -OH skupine na B prstenu flavonoida jer B prsten donira vodik i elektron hidroksilnim peroksidnim radikalima stvarajući tako stabilne flavonoidne radikale (Shi i sur., 2001; Rice-Evans i sur., 1997, Cao i sur., 1997). Orto 3,4-dihidroksi struktura B prstena pojačava inhibiciju lipidne oksidacije i takva struktura flavonoida potencijalni je hvatač peroksil, superoksida i peroksinitril radikala (Haenen i sur., 1997). Metilirani oblici flavonoida imaju manju antioksidacijsku aktivnost od hidroksiliranih oblika zbog razlike u hidrofobnosti i molekularne planarnosti (Dugas i sur., 2000). Razlika u antioksidativnoj aktivnosti između polihidroksiliranih i polimetoksiliranih flavonoida je vjerojatno posljedica hidrofobnosti i molekulske strukture. Metilacija može utjecati na sferičke efekte te na taj način smanjiti antioksidativnu aktivnost. Aglikoni su jači antioksidansi od njihovih glikozida. Osim broja, mjesto vezanja i struktura šećera imaju važnu ulogu u jačini antioksidacijske aktivnosti. Šećer zauzima slobodnu hidroksilnu grupu važnu za hvatanje radikala te tako smanjuje hidrofilitnost molekule i dostupnost za lipidne radikale. U ljudskom organizmu, šećer se odvaja od flavonoidne strukture, tako da je utjecaj šećera na antioksidativnu aktivnost u ljudskom organizmu upitna (Heim i sur., 2002). Polimerni oblici flavonoida uglavnom imaju veću antioksidacijsku aktivnost od monomera, tako se procesom polimerizacije može povećati i antioksidativnu aktivnost polifenola (Vennat i sur., 1994).

Tijekom procesiranja hrane (pasterizacije, sterilizacije, dehidratacije) kao i tijekom skladištenja te rukovanja hranom i kuhanjem, brojni antioksidansi iz hrane se gube. Tako termičkom obradom, osim što može doći do gubitka nutritivne vrijednosti hrane, dolazi i do kemijskih

reakcija između sastojaka hrane koje mogu izazvati gubitak prirodnih antioksidansa. Iako se prirodni antioksidansi gube tijekom zagrijavanja, sveukupna antioksidativna aktivnost nekog proizvoda se može zadržati ili čak i povećati stvaranjem novih antioksidanasa kao što su npr. produkti Maillard-ovih reakcija (Nicoli i sur., 1997). U novije vrijeme razvija se interes za upotrebom prirodnih antioksidansa kako bi se izbjegla upotreba umjetnih. Nepoželjno svojstvo prirodnih antioksidanasa je povećana osjetljivost na kisik, svjetlo i visoku temperaturu. Promjene se također javljaju i tijekom skladištenja prehrambenih proizvoda. Usprkos velikoj važnosti antioksidanasa, ne postoji puno podataka o njihovim promjenama, interakcijama s drugim sastojcima hrane i utjecaju tih promjena na otpornost hrane na oksidaciju. Možemo reći da aktivnost prirodnih antioksidansa uvelike ovisi o kompleksnosti hrane (Pichler, 2011).

2.6. AROMA

Tvari arome su važan sastojak biljaka i prehrambenih proizvoda koje utječu na njihov miris i okus. Prema kemijskom sastavu hlapljivi spojevi arome su organske molekule s primjetnim tlakom para pri sobnoj temperaturi. To su obično male molekule s molekularnom masom nižom od 300 Daltona (Dunkel i sur., 2009). Hlapljive komponente u biljkama imaju različite ekološke i produktivne funkcije. Služe za privlačenje kukaca za oprašivanje, ukazuju na zrelost ploda te stvaraju otpornost biljke prema raznim vrstama štetočina i bolestima, te ublažavaju abiotski stres (Rowan, 2011). Aroma voća specifična je i jedinstvena za svaku vrstu voća i određena je kombinacijom različitih vrsta spojeva poput aldehida, ketona, alkohola, estera koji su u voću sadržani u različitim koncentracijama. Hlapljivi spojevi u voću odgovorni su za osjet mirisa, dok nehlapljivi spojevi utječu na osjet okusa voća, stoga pod pojmom arome podrazumijeva se objedinjeni doživljaj i okusnih i mirisnih sastojaka voća (Pozderović, 1984; Pichler, 2011). Tvorbina arome je dinamičan proces koji započinje s fazom dozrijevanja i završava razvojem karakteristične arome pri završetku zrenja. Spojevi arome nastaju iz različitih molekula i prekursora preko različitih biokemijskih puteva uz djelovanje jednog ili skupine enzima (Pichler, 2011). Masne kiseline glavni su prekursori hlapljivih komponenti voća iz kojih mogu nastati ravnolančani alkoholi, organske kiseline, esteri, laktoni i ketoni (El Hadi i sur., 2013). β -oksidacijom masnih kiselina nastaju alkohol i acil-koenzim A koji su potrebni za formiranje estera pomoću enzima alkohol acil transferaze (Du, 2009). Aminokiseline alanin, valin, leucin, izoleucin, fenilalanin i asparaginska kiselina glavni su prekursori u biosintezi arome u kojoj nastaju različiti spojevi arome (alkoholi, kiseline, esteri, karbonilni spojevi). S acetil-CoA započinje biosinteza terpena. Mevlonska kiselina smatra se prekursorom terpena. Karotenoidne hlapljive komponente arome se sintetiziraju u posljednjoj fazi sazrijevanja. Iako ih je u prirodi mnogo, samo se njih desetak smatra važnim za aromu različitog voća i povrća.

2.6.1. Aroma maline

Hlapljivi spojevi arome koje oslobađa malina su slobodni oblici različitih metabolita. Većina njih dolazi u obliku glikozida vezanih na šećere. Glikozidno vezane hlapljive komponente mogu biti oslobođene enzimskim ili kemijskim putem tijekom sazrijevanja biljaka, industrijskom obradom i mogu se smatrati potencijalnim prekursorima arome. Većina hlapljivih spojeva bobičastog voće može se klacificirati u karbonilne spojeve, estere, terpenoide, alkohole, laktone, furanone i sumporne spojeve. Do danas je u malinama otkriveno oko 300 hlapljivih komponenti i niti jedna od njih se ne smatra specifičnom samo za maline (Aprea i sur., 2015). Od ukupnog broja hlapljivih komponenti koje su u malinama pronađene, oko 20% njih su terpeni. Najučestaliji monoterpeni su terpinen-4-ol, geraniol, linalol, limonen, nerol, *p*-cymen, terpinolen, α - i β -phelliren, γ -terpinen i α - i β - pinen. 18% od ukupnih hlapljivih spojeva su kiseline. Octena, heksanska i oktanska kiselina određene su u najvećim koncentracijama. Samo tri od ukupno 11 seskviterpena određeno je u malinama do sada: (*E*)- β -kariofilen, α -elemen i kariofilen oksid. Deset C13-norisoprenoida pronađeno je u malinama. Ovi spojevi slični su terpenima i nastaju oksidativnim cijepanjem karotenoida i vrlo važni su nositelji specifične malina-arome (Hampel i sur., 2007).

Jedan od prvih spojeva za kojeg je utvrđeno da ima utjecaj na aroma karakter maline je 4-(4-hidroksifenil)butan-2-on (Winter, 1961), koji je zbog toga i nazvan keton maline. Ovaj spoj se sintetizira u malini *Rubus idaeus* kondenzacijom *p*-kumaril-CoA s maloil-CoA i uzastopnom enzimskom redukcijom (Borejsza-Wysocki i Hrazdina, 1994). Borejsza-Wysocki i sur. (1992) identificirali su sadržaj ketona maline u šest kultivara maline. U svom istraživanju Larsen i sur. (1991) identificirali su keton maline te α -jonon i β -jonon kao najvažnije komponente arome u 10 različitih sorti malina. Potvrdili su da je aroma maline jako ovisila o ketonu maline, dok su α -jonon i β -jonon bili važni za cjelokupnu aromu. Poznato je da je α -jonon u malini prisutan u obliku (*R*)-enantiomera (Kilic, 2005; Ikan, 1999), za koje se navodi da osigurava cvjetni miris poput ljubičice, voćnog tipa maline (Fehr i Guntern, 1992) dok se β -jonon opisuje kao „mirisni“ i „cvjetni“ (Jaeger i sur., 2013). Geraniol je zaslužan za dominantni miris ruže u malini, koji zajedno sa β -jononom doseže svoj maksimum tijekom faze branja malina. Postoji razlika i u aromatskom profilu divlje maline u odnosu na kultiviranu. Aromatski profil divlje maline određen je visokim udjelom 3-metil-3-butanske kiseline dok u kultiviranoj malini nije identificirana. Također, aroma divlje maline ima tri puta više ketona nego kultivirana malina, dok je obrnut slučaj kod sadržaja α -jonona i β -jonona (Honkanen i sur., 1980). U aromatskom profilu kultiviranih malina veći je udio alkohola (Ravai, 1996).

2.6.2. Aroma višnje

Aroma višnje sastoji se od velikog broja organskih komponenti, uključujući karbonile, alkohole, estere, kiseline i terpene. Spojevi odgovorni za aromu višnje su aldehidi: heksanal,

benzaldehyd i trans-2-heksenal. Heksanal i trans-2-heksenal karakterizira zelena nota i predstavljaju više od 30% ukupnih aromatičnih sastojaka, dok benzaldehid čini oko 15% (Simmonds i Preedy, 2015). Benzaldehid, jedan od najkarakterističnijih hlapljivih spojeva višnje, ima jaku, oštru, slatku, gorku notu te okus badema i višnje. U soku višnje utvrđeno je da benzaldehida ima 85,901 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ (Zlatić i sur., 2017). Pored benzaldehida druga najveća skupina spojeva su alkoholi. Pored benzil alkohola i 1-heksanola, zastupljeni su i 1-butanol i 2-feniletanol (Levaj i sur., 2010). Važni spojevi arome višnje su benzil alkohol, eugenol, vanilin, 2-heksanal, α -jonon i β -jonon (Schmid i sur., 1986; Poll i sur., 2003).

U skupinu ketona koji se nalaze u višnji ubrajaju se: 2-butanon, 6-metil-5-hepten-2-on, te 2-propanon. Na koncentraciju ovih spojeva utječu uvjeti rasta i skladištenja višnje i njezinih proizvoda. Ukoliko prevladava hladno i kišovito vrijeme neće doći do intenzivnog razvoja specifične arome višnje. Tijekom prerade višnje u poluproizvode kao što su primjerice sokovi ili džemovi, utvrđen je gubitak svih specifičnih tvari arome uslijed oksidacije ili drugih nepoželjnih reakcija, osim benzaldehida i linalola čija se koncentracija povećava zbog termičke obrade (Berger-Günter, 2007).

2.6.3. Stabilnost i zadržavanje tvari arome

Aroma utječe na kvalitetu i prihvatljivost proizvoda te je od velikog značenja održati njezinu stabilnost. Na kvalitetu arome i njezinu stabilnost u hrani utječu brojni čimbenici kao što su npr. fizikalno-kemijska svojstva, koncentracija i interakcije hlapljivih spojeva arome s drugim sastojcima hrane. U cilju smanjenja gubitka tvari arome tijekom procesiranja i skladištenja hrane, od velikog značenja je inkapsulirati aromatske sastojke (Madene i sur., 2006).

Inkapsulacija je tehnika kojom se jedan materijal ili smjesa materijala oblaže ili "zarobljava" unutar drugog materijala. Proces inkapsulacije vrlo dobro je razvijen i uvelike se koristi u farmaceutskoj, kemijskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji. Složeni matriks hrane može vezati, „zarobiti“ ili inkapsulirati tvari arome ukoliko ima slobodnog mjesta na molekulama za vezivanje. Kao rezultat toga, interakcijom se smanjuje stupanj oslobađanja hlapljivih komponenti i utječe na povećanje intenziteta arome i kvalitete proizvoda (Madene i sur., 2006). Inkapsulacija je komercijalizirana pomoću različitih metoda kao što su sušenje raspršivanjem, hlađenje raspršivanjem, ekstruzija, sušenje zamrzavanjem i molekularna inkluzija (Madene i sur., 2006). Sušenje smrzanjem, također poznato kao liofilizacija, je tehnika sušenja koja se temelji na fenomenu sublimacije. Ova tehnika omogućuje dugoročno očuvanje spojeva osjetljivih na toplinu i sklonih oksidaciji, kao i hrane i drugih bioloških materijala, budući da se provodi na niskim temperaturama i pod vakuumom (Bhatta i sur., 2020). Ova metoda ima nedostatke kao što su veliki utrošak energije i vrijeme obrade (Papoutsis i sur., 2018). Unatoč

tim problemima, sušenje smrzanjem naširoko se koristi za dobivanje prehrambenih proizvoda visoke vrijednosti i smatra se standardnom metodom za kapsuliranje u većini istraživanja (Bhatta i sur., 2020).

Proces sušenja smrzanjem uključuje potpuno smrzanje uzoraka, sublimaciju leda (primarno sušenje) i desorpciju preostale vezane vode (sekundarno sušenje). U prvom koraku, brzina smrzanja određuje formiranje i veličinu kristala leda. Veliki kristali leda nastali sporim smrzanjem mogu lako sublimirati i povećati primarnu brzinu sušenja. U primarnom sušenju, temperatura police će se povećati korištenjem vakuuma za početak sublimacije. Potrebno je da je temperatura proizvoda 2 - 3 °C ispod temperature pri kojoj proizvod može izgubiti svoju makroskopsku strukturu. Krajnja točka primarne faze sušenja ključni je parametar za određivanje jer bi povišena temperatura (u sekundarnom sušenju) prije sublimacije cjelokupnog leda mogla urušiti kvalitetu konačnog proizvoda (Bhatta i sur., 2020).

Najčešći materijali koji se koriste za inkapsulaciju su ugljikohidrati (npr. maltodekstrini, modificirani škrobovi, guma akacija i sl.), proteini (npr. želatina ili proteini sirutke) ili kombinacija ovih materijala (Madene i sur., 2006). Stabilnost i otpuštanje hlapljivih spojeva vezanih na ugljikohidrate ovise o fizikalno-kemijskim parametrima tvari arome (molekularna masa, duljina lanca molekule, hidrofobnost, kemijska grupa) kao i o vrsti ugljikohidrata, njihovoj koncentraciji, stereokemiji i drugim karakteristikama koje su povezane s različitim difuzijom i sorpcijom unutar mikrostrukture materijala za kapsuliranje (Secouard i sur., 2003; Boland i sur., 2004; Arvisenet i sur., 2002a; Arvisenet i sur., 2002b, Komes i sur., 2003). Zadržavanje nekih hlapljivih spojeva nakon sušenja može biti zbog njihovog niskog stupnja hlapljivosti. Također, budući da su molekule hlapljivih spojeva općenito veće od molekula vode one ne mogu lako difundirati ili mogu biti zarobljene unutar molekule ugljikohidrata tijekom sušenja (Komes i sur., 2003). Postoji nekoliko znanstvenih radova u kojima se istraživao utjecaj nekih vrsta ugljikohidrata poput dekstrina, škroba, λ -karagenana, β -ciklodekstrina, ksantana, guar gume i pektina na stabilnost i zadržavanje hlapljivih spojeva (Godshall, 1997; Goubet i sur., 1998; Taylor i Linfort, 2010; Boland i sur., 2006; Hansson i sur., 2001). Celuloza je polisaharid sastavljen od molekula glukoze, netopljiva je u vodi i uobičajenim organskim otapalima. Glavna je komponenta staničnih stjenki biljaka, i široko rasprostranjen polisaharid u prirodi. Struktura i svojstva celuloze čine ju prikladnim materijalom za kapsuliranje različitih aktivnih sastojaka kako bi se formulirao stabilan i učinkovit sustav (Bharimalla i sur., 2015; Serpa i sur., 2016; Rezaei i sur., 2019; Jiménez Saelices i sur., 2018; Heyang i sur., 2009; Ferrer i sur., 2017; Fathi i sur., 2017).

2.7. BOJA

Pod pojmom boja podrazumijevamo ljudsku percepciju obojenog materijala. Svaka tvar, bila prirodnog ili sintetskog porijekla, koja emitira boju naziva se bojilo. Hrana je obojena jer posjeduje sposobnost emitiranja ili reflektiranja različite količine energije pri valnim duljinama koje stimuliraju retinu oka. Elektromagnetni valovi na koje je osjetljivo ljudsko oko naziva se vidljivi dio spektra i obuhvaća valove valnih duljina od 380 nm do 770 nm. Kvaliteta i intenzitet zračenja u tom dijelu spektra su odgovorni za našu percepciju boja (Von Elbe i Schwartz, 1996).

Obojenje hrane rezultat je prisustva organskih pigmenata u tkivima ili optičkih efekata zraka svjetlosti (Potter, 1986). Pigmente prema porijeklu dijelimo na pigmente biljnog i životinjskog porijekla. Biljne pigmente prema topljivosti dijelimo na topljive u vodi (betalaini i antocijani) i topljive u mastima i uljima (klorofil i karotenoidi). Tijekom prerade hrane cilj je očuvati prirodnu boju namirnica i svesti upotrebu umjetnih bojila na minimum. Prirodni pigmenti su vrlo podložni kemijskim promjenama, kao npr. pri zrenju voća i povrća, te pri starenju mesa, tijekom procesiranja hrane i sl. Biljni i životinjski pigmenti su organizirani u tkivnim stanicama i organelama (npr. kloroplasti koji sadrže klorofil). Kada se te stanice razore, pigmenti izlaze van te pod djelovanjem zraka i vanjskih utjecaja dolazi do njihove degradacije (Potter, 1986). Najčešće boje voća i povrća su: zelena, crvena, žuta narančasta, plava, purpurna i bijela. Žute i narančaste boje najčešće potječu od karotenoida. Crvene, plave i ljubičaste boje potječu od flavonoidnih spojeva, posebice antocijana, koji su dobri antioksidansi. Zelena boja potječe uglavnom od klorofila, ali može potjecati i od drugih pigmenata iz grupe flavonoida (Von Elbe i Schwartz, 1996). Ne potječe sva boja hrane od prirodnih biljnih pigmenata, pa tako tijekom procesiranja hrane, djelovanjem topline na šećere, može doći do reakcija karamelizacije kojom boja hrane poprima smeđu boju. Također, tamna boja hrane nastaje i kemijskim interakcijama između šećera i proteina koje nazivamo Maillard-ovim reakcijama. Do kompleksnih promjena boje dolazi i kada organske komponente hrane dolaze u kontakt s zrakom. U hrani, te prilikom termičke obrade krajnja boja je posljedica kombinacije navedenih načina promjene boje (Potter, 1978). Pigmenti u sirovinama imaju uz osiguravanje boje i dodatnu funkciju. Npr. klorofil pod djelovanjem svjetla sudjeluje u fotosintezi, drugi su pigmenti nositelji kisika (mioglobin) ili elektrona (antocijani) te na taj način utječu na oksido-redukcijske reakcije u stanicama (Peterson i Johnson, 1978). Mnogi su pigmenti nestabilni tijekom procesiranja i skladištenja. Stabilnost pigmenata ovisi o brojnim čimbenicima: svjetlosti, kisiku, teškim metalima, oksidansima, reducensima, temperaturi, aktivitetu vode, pH vrijednosti.

2.8. PREHRAMBENA VLAKNA

Prehrambena vlakna definiraju se kao jestivi dijelovi biljaka ili analogni ugljikohidrati koji su rezistentni na probavu i apsorpciju u tankom crijevu, s potpunom ili djelomičnom fermentacijom u debelom crijevu (engl. *American Association of Cereal Chemists*, AACC). Prehrambena vlakna se, prema topljivosti, mogu podijeliti na topljiva i netopljiva.

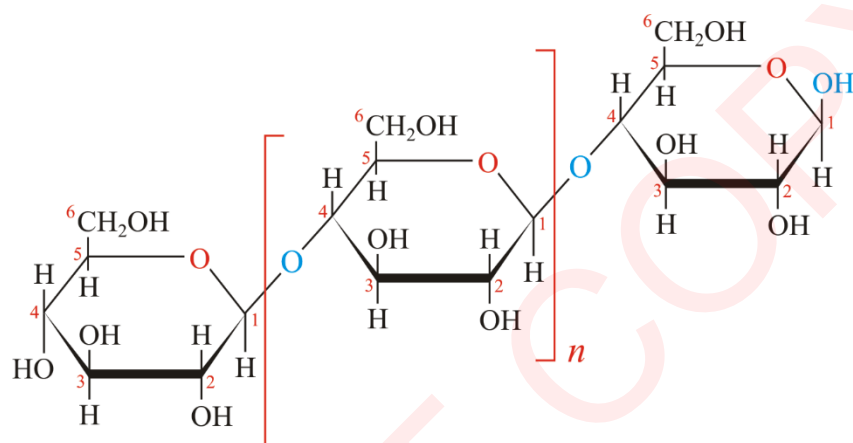
U topljiva vlakna ubrajaju se neškrobni polimeri: pektini, β -glukani, gume i sluzi. Sam naziv upućuje na to da se topljiva vlakna tijekom probave „otapaju“ u probavnom sustavu stvarajući pri tome viskoznu, gel masu koja dalje fermentira u debelom crijevu. Fermentacijom nastaju kratkolančane masne kiseline koje organizmu prvobitno služe kao izvor energije (Barasi, 2003; Myrie i Jones, 2011). Topljiva vlakna zbog visokog kapaciteta vezanja vode i stvaranja viskozne strukture, smanjuju apsorpciju glukoze i masti iz tankog crijeva. Time se smanjuje postprijalna glikemija i povećano lučenje inzulina, smanjuje se razina triglicerida te ukupnog i LDL kolesterola u krvi. Izvori topljivih prehrambenih vlakana su voće, povrće, zob i zrno riže (Krešić, 2012).

Celuloza, hemiceluloza i lignin spadaju u netopljiva vlakna i ona se ne razgrađuju u probavnom sustavu izuzev jednog malog dijela kojeg fermentacijom razgrađuju bakterije u debelom crijevu. Netopljiva vlakna mogu na sebe vezati veliku količinu vode čime se povećava voluminoznost stolice, potiče rad crijeva i sprječava opstipacija (Barasi, 2003; Ivanova i sur., 2013). Najveći izvor netopljivih vlakana su cjelovite žitarice i kora voća.

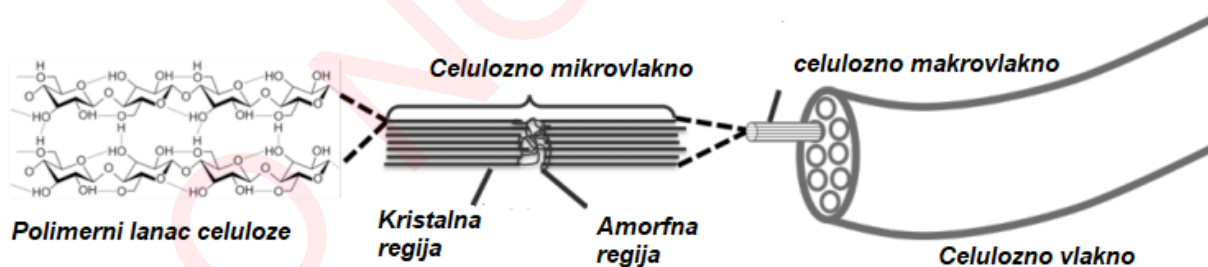
2.8.1. Celuloza

Celuloza (lat. *celula* - stanica) je najrasprostranjeniji polimer u prirodi. Najvažniji resursi za dobivanje celuloze su drvo, pamuk, lan, konoplja i juta. Celuloza se može dobiti i *in vitro* enzimskim putem tj. kemijskom sintezom iz derivata glukoze, te biosintezom pomoću različitih mikroorganizama kao što su alge i gljive te brojnih nepatogenih bakterija iz rodova *Agrobacterium*, *Sarcina*, *Rhizobium* i *Acetobacter* (Ullah i sur., 2016). Također, celuloza se može modificirati pomoću kemijskih reakcija kako bi se proizveli neki njezini spojevi s posebnim karakteristikama. Po kemijskom sastavu molekula celuloze je složeni polisaharid koji se sastoji od nekoliko tisuća glukoznih jedinica povezanih β -1,4-glikozidnom vezom (**Slika 9**). Dvije anhidro-glukozne jedinice kovalentno se vežu preko C1 kisika jednog prstena i C4 kisika susjednog prstena. Anhidro-glukozni prstenovi zbog prisustva tri –OH skupine mogu se međusobno vezati vodikovim vezama i tako tvoriti kristalne strukture koje utječu na fizikalna svojstva celuloze (Moon i sur., 2011). Inter- i intra-molekularnim vodikovim vezama dalje se mogu formirati osnovne fibrile (fina, tanka vlakna) koja se kasnije agregiraju i tvore mikrofibrile. Mikrofibrilna celuloza posjeduje regije koje su visokokristalične i amorfne (Khalil i sur., 2014;

Ciolacu i sur., 2016) (**Slika 10**). Zbog svoje strukture i velikog broja vodikovih veza celuloza nije topljiva u vodi, a ni u brojnim organskim otapalima (Razali i sur., 2022). Kako bi se promijenila takva svojstva, celuloza se modificira na dva načina: esterifikacijom ili eterifikacijom hidroksilnih skupina. Na taj način dobivaju se derivati celuloze kao što su: metil celuloza, etil celuloza, hidroksimetil celuloza i karboksimetil celuloza, hidroksipropilmetil celuloza ftalat, celuloza acetat i celuloza nitrat. Svi navedeni derivati celuloze našli su široku primjenu u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji zbog netoksičnosti i niske cijene (Alvarez-Lorenzo i sur., 2013).



Slika 9 Linearna molekula polimera celuloze s jedinicama D-glukoze (n -stupanj polimerizacije) (Generalić, 2018)

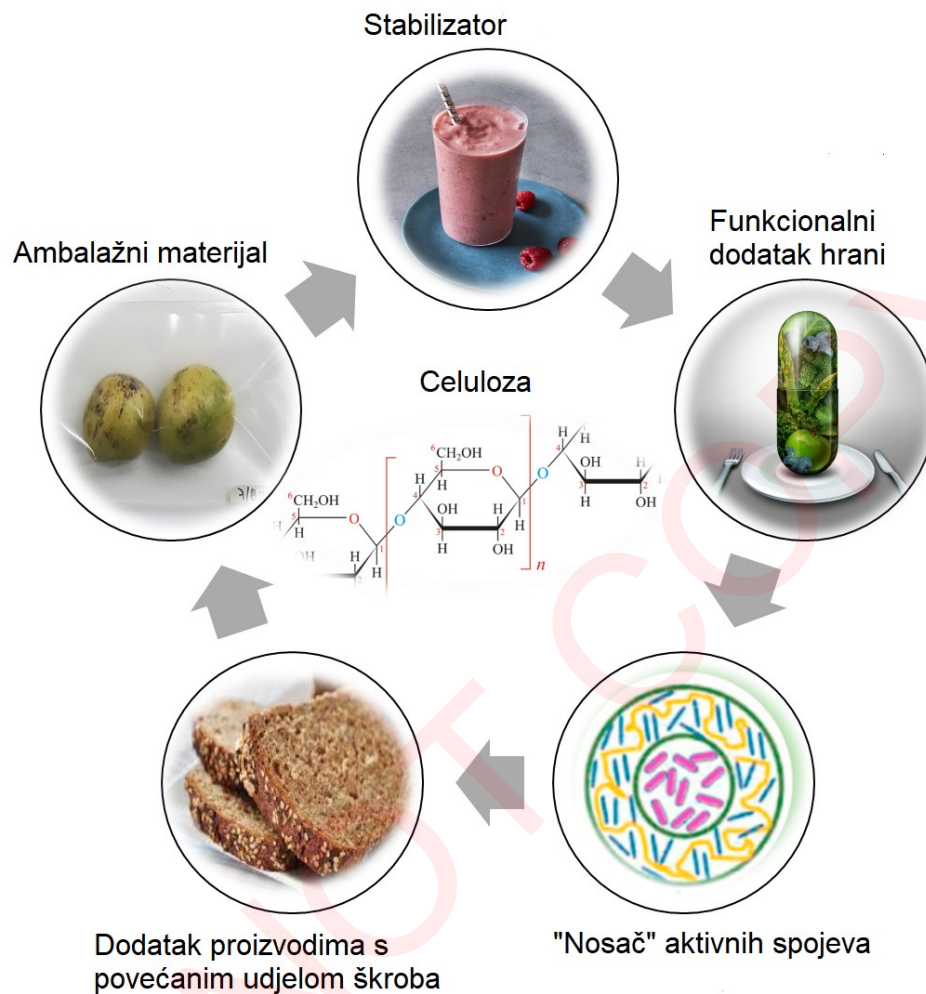


Slika 10 Hijerarhijska struktura celuloznog vlakna (Gumrah Dumanli, 2016)

2.8.1.1. Primjena celuloze u prehrambenoj industriji

Celuloza se u prehrambenoj industriji može koristiti kao biorazgradivi premaz i film za pakiranje hrane (Yu i sur., 2014). Celuloza kao prehrambeno vlakno našla je široku primjenu u funkcionalnim prehrambenim proizvodima kao funkcionalni aditiv (Hemmati i sur., 2018). Također se može koristiti kao niskokalorična zamjena za ugljikohidratne aditive, kao

zgušnjivač, nosač arome i stabilizator suspenzija u različitim prehrambenim proizvodima (Dhar i sur., 2014) (Slika 11).



Slika 11 Primjena celuloze u prehrambenoj industriji

Biorazgradivi ambalažni materijal

U prehrambenoj industriji pod pojmom ambalaža ne misli se samo na zaštitu i praktičnost pri rukovanju s proizvodom, već i na produljenje roka trajanja i nutritivne vrijednosti proizvoda te na komunikaciju s kupcima (Geueke i sur., 2018). Celuloza je idealan materijal za proizvodnju ambalažnog materijala zbog njezine visoke čvrstoće i mogućnosti dobivanja iz prirodnih izvora. Izvrsna je barijera za kisik zbog kombinacije visoke kristaličnosti, mrežne strukture koja je kompaktna zahvaljujući jakim međumolekularnim i intramolekularnim vodikovim vezama (Normand i sur., 2014). Propusnost kisika kroz celuloza-nanokristalni film je $17 \text{ mlm}^{-2}/\text{d}$ debljine celuloze 21 mm (Nair i sur., 2014). Smanjena propusnost kisika, poboljšana mehanička svojstva te biorazgradivost postižu se i kombinacijom celuloze s tradicionalnim

polimernim ambalažnim materijalima kao što su poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat) (Yu i sur., 2012), polivinil alkohol (George i sur., 2010), polilaktidna kiselina (Fortunati i sur., 2012).

“Noslač” aktivnih spojeva

Gubitak hranjivih tvari i aktivnih komponenti veliki su izazov za prehrambenu industriju (Alexander i sur., 2017). Nutrijenti i aktivni spojevi lako se degradiraju pri povišenoj temperaturi, ovisno o pH vrijednosti i mehaničkim silama prilikom obrade hrane. Štoviše, ovi sastojci se gube i u nepovoljnim i nestabilnim uvjetima transporta i skladištenja (Mu i sur., 2018). Dodatno, vitamini topljivi u vodi kao i probiotici mogu biti “uništeni” želučanim i žučnim sokovima u probavnom sustavu što dovodi do drastičnog smanjenja hranjivih sastojaka hrane kada ona dođe do crijeva i kada se treba adsorbirati u krvotok (Da i sur., 2018). Mikrokapsule su prijenosni sustavi sastavljeni od mikročestica prirodnih ili sintetskih polimera. Dokazano je da poboljšavaju bioraspoloživost i biološku aktivnost tvari i smanjuju nuspojave funkcionalne hrane (Shutava i Lvov, 2012). Brojne biomolekule primjenjuju se u mikrokapsulaciji nutrijenata i aktivnih komponentata kao što su natrijev alginat, hitozan, glukomanan, proteini soje. Celuloza je polisaharidni prehrambeni gradivni materijal s visokom biokompatibilnošću te se zbog toga može koristiti kao “noslač” nutritivnih i bioaktivnih spojeva (Vashist i sur., 2018). Hidrogelovi pojačani celulozom pokazali su visoku mehaničku čvrstoću i produljeno vrijeme oslobađanja i razgradnje aktivnih komponentata (Yang i sur., 2013). Huq i sur. (2017) istraživali su utjecaj celuloze na nanokompozit na bazi alginata za mikrokapsulaciju probiotika. Celuloza je poboljšala tlačnu čvrstoću alginatnog hidrogela preko 30% i smanjila poroznost matriksa alginata tijekom sušenja smrzavanjem. Nadalje, bubrenje mikrokapsule alginata na pH 1,5 smanjeno je sa 377% na 200% nakon dodatka celuloze što je predstavljalo manje uništavanje bakterijske stanice. Što je najvažnije, otkriveno je da celuloza može poboljšati održivost probiotika tijekom skladištenja i gastrointestinalnih simulacija probave. S dodanih 13% nanokristala celuloze, održivost *L. rhamnosus* u alginatnim mikrokrmcima poboljšana je za 45% (25 °C) i 35% (4 °C) nakon skladištenja od 42 dana.

Stabilizator prehrambenih proizvoda

Stabilnost prerađene hrane oduvijek je predstavljala problem u prehrambenoj industriji. U mnogim tekućim i svježim pripremljenim napitcima s vremenom dođe do razdvajanja faza (Mutilag i Pereyra, 2008). Nakon dugog skladištenja, proizvodi se počinju razrjeđivati i/ili stvarati tanki sloj vode na vrhu ili dnu, iako su i dalje sigurni za konzumaciju. Zbog toga je poželjno imati proizvod koji je stabilan na policama trgovina i koji nema ovaj nedostatak (Vaast i sur., 2006). Postoje brojne vrste stabilizatora koji poboljšavaju kvalitetu prehrambenih proizvoda. Razne vrste guma kao što su ksantan guma (Kumar i sur., 2018), karagenan

(Bahramparvar i sur. 2013), gelan guma (Cropotova, i sur., 2013) i guma rogačeve mahune (Murray i Phisarnchananan, 2016.) primjenjuju se kao stabilizatori na temelju dobrih svojstava emulgiranja i stabiliziranja. Međutim, ove gume imaju i nedostatke, kao npr. visoka cijena (Paximada, i sur., 2016), sofisticiran postupak ekstrakcije (Pai i sur., 2002) i pitanja probavljivosti i sigurnosti (Sharma i sur., 2018). Nanokristali celuloze kao prirodni emulgator i stabilizirajući sastojak je donar izbor za prehrambene proizvode (Zanchetta i sur., 2017). Turbak i sur. (1980) prvi su pretpostavili da se nanoceluloza može koristiti za stabiliziranje emulzije voda/ulje. Od tada, nanoceluloza se koristi kao prirodni emulgator i stabilizator. U istraživanjima celuloza se uspoređuje s proizvodima koje zamjenjuje npr. s masnom bazom krem nadjeva, pri čemu celuloza donosi slična organoleptička svojstva – konzistenciju i masnoću (Shapira-Zaltsberg i sur., 2018). Celuloza također zamjenjuje stabilizatore i emulgatore kao što su hidrofilni polisaharidi ekstrahirani iz morskih algi, sjemenki povrća, mikroorganizama ili slično (Schacht i sur., 2002.). Ove čestice biološki utemeljene iz obnovljivih izvora prikladna su opcije za razvoj emulzija stabiliziranih čvrstim česticama (eng. Pickering emulsion).

Funkcionalni dodatak hrani

Funkcionalna hrana jedno je od brzo rastućih područja prehrambene industrije posljednjih godina (Helkar i Sahoo, 2016). Funkcionalna hrana je hrana kojoj se dodaju novi sastojci ili se povećava koncentracija već postojećih sastojaka s ciljem većeg pozitivnog utjecaja na zdravlje potrošača ili prevencije razvoja određenih bolesti (Childs, 2016). Brojni prehrambeni proizvodi obogaćeni vlaknima lansirani su na tržište kako bi ponudili nešto novo potrošačima (López-Marcos i sur., 2015). Međutim, dodana prehrambena vlakna mogu negativno utjecati na boju, teksturu, okus i miris prehrambenih proizvoda (Robin i sur., 2012).

Da bi se što bolje primijenila kao funkcionalni sastojak hrane, nanoceluloza se ekstrahira iz prirodnih izvora kako bi imala ključnu ulogu kao aditiv u hrani (Gómez i sur., 2016). Najčešće korištena celuloza kao funkcionalni sastojak hrane je njezino prirodno svojstvo prehrambenog vlakna. Prednosti celuloze su te da ona ne samo da može povećati sadržaj prehrambenih vlakana, nego i prevladati negativne učinke tradicionalnih prehrambenih vlakana. Pretilost je zadnjih godina postala jako ozbiljno zdravstveno pitanje koje izaziva zabrinutost među populacijom te se jako puno pažnje posvećuje razvoju niskokalorične/niskoenergetske hrane (Siep i sur., 2009). Razni sastojci poput šećernih alkohola (Allan i sur, 2018.), oligosaharida (Unno i sur., 2008), produkti bakterijske fermentacije (Patra i sur., 2009.) primjenjuju se u proizvodnji funkcionalne hrane za kontrolu tjelesne mase. Potencijal nanoceluloze za pripremu formulacije sa smanjenim udjelom masti utvrdili su Turbak i suradnici. Njihov patent (US 4378381) pokazao je da nanoceluloza može zamijeniti ulje kako bi se napravio niskokalorični

preljev za salatu. Robson (2011) je predložio da se nanoceluloza može koristiti za smanjenje energetske gustoće mnogih prerađenih namirnica na <1,6 kcal/g.

Primjena u proizvodima na bazi škroba

U prehrambenoj industriji škrob se koristi kao sredstvo za ugušćivanje, povećanje volumena ili stabilizator. Međutim, sofisticirana prerada hrane uvijek utječe na stabilnost sastojaka hrane (Lu i sur., 2012). Transformacije koji nastaju pri hlađenju i skladištenju želatiniziranog škroba naziva se retrogradacija, koja obično pogoršava kvalitetu proizvoda s visokim udjelom škroba (Chen i sur., 2015.). U istraživanju, Cui i sur. (2017) proučavali su utjecaj nanokristalne celuloze na želatinizaciju, te na kratkotrajnu i dugotrajnu retrogradaciju kukuruznog škroba, voštanog kukuruznog škroba i škroba slatkog krumpira. Dokazano je da celuloza može inhibirati retrogradaciju škroba, a utjecaj inhibiranja ovisi o količini korištene celuloze. Nanokristalna celuloza ima veliku specifičnu površinu i mnogo hidroksilnih skupina preko kojih se može vezati s vodikovim vezama amiloze, te tako inhibirati kratkotrajnu retrogradaciju. S druge strane, inhibicija dugotrajne retrogradacije može se pripisati međusobnoj interakciji između celuloze i amilopektina (Cui i sur., 2017). Ji i sur. (2018) istraživali su interakciju celuloze i amilaze koja je utjecala na aktivnost enzima i sadržaj rezistentnog škroba. Rezultat je pokazao da dodatak celuloze želatiniziranom škrobu utječe na smanjenje brzo probavljivog škroba i sadržaja sporo probavljivog škroba, ali i na povećanje rezistentnog škroba. Utvrđeno povećanje rezistentnog škroba kukuruza, graška i krumpira od 30,41%, 23,13% odnosno 20,30%. Rezistentni škrob, također poznat kao škrob otporan na enzime i teško probavljivi škrob, koji se ne može enzimski hidrolizirati u tankom crijevu. Stoga dolazimo do zaključka da celuloza nije samo prehrambeno vlakno koje se može primijenjivati u proizvodnji niskokalorične hrane, već se može koristiti i u proizvodnji hrane bogate škrobom s funkcijom reguliranja tjelesne mase.

2.8.2. Uloga prehrambenih vlakana u prevenciji i liječenju bolesti

Prehrambena vlakna imaju fiziološku funkciju u organizmu koja se očituje u njihovoj sposobnosti da na sebe vežu organske tvari, ali i različite lijekove. Njihova viskoznost i osjetljivost na fermentaciju, sposobnost vezivanja vode, žučnih soli i izmjene iona još su neke od ključnih uloga. Prehrambena vlakna imaju pozitivan utjecaj na prevenciju pojavnosti raznih vrsta oboljenja, posebice kardiovaskularnih bolesti (hipertenzija, hiperlipidemija, dijabetes tipa 2, pretilost), gastrointestinalnih bolesti (konstipacija, tumora jednjaka, tumora želuca, divertikuloza, kolorektalni adenom, kolorektalni tumor) te raznih neoplastičnih bolesti (karcinom dojki, endometrija) (Stephen i sur., 2017). Kardiovaskularne bolesti trenutno su glavni uzrok smrtnosti u cijelom svijetu. Istraživanja su pokazala da postoji veza između unosa

prehrambenih vlakana i bolesti srca te drugih kardiovaskularnih bolesti. Topljiva vlakna su odgovorna za snižavanje kolesterola tako što moduliraju mehanizam kolesterola i lipoproteina. Tri osnovna mehanizma kojima vlakna smanjuju razinu ukupnog i LDL kolesterola su sprječavanje reasorpcije žučnih soli iz tankog crijeva, smanjenje glikemijskog odgovora i stvaranje kratkolančanih masnih kiselina. Topljiva vlakna sprječavaju resorpciju žučnih soli što rezultira izlučivanjem viška putem fecesa. Dok se u jetri troše zalihe želučanih kiselina, u hepatocitima se odvija katabolizam kolesterola u svrhu nadoknade žučnih kiselina. Nadalje, dolazi do proizvodnje LDL-C receptora što povećava unos LDL-kolesterola iz krvotoka odnosno snižavanje njegove koncentracije u krvi. Drugi mehanizam djeluje na način da vlakna usporavaju probavu i miješanje hranjivih tvari s probavnim enzimima u želucu. Rezultat toga je smanjenje apsorpcije glukoze čime se smanjuje posprandijalna glukoza u krvi i razina inzulina. Inzulin je odgovoran za aktiviranje enzima 3-metil-glutaril koenzim A reduktaze (HMG-CoA reduktaze) koji je jedan od ključnih enzima za metabolički proces sinteze kolesterola. Smanjena aktivnost enzima posljedično dovodi do smanjenja sinteze kolesterola. I treći mehanizam djelovanja prehrambenih vlakana na smanjenja kolesterola je proizvodnja kratkolančanih masnih kiselina koje u debelom crijevu fermentiraju i pri tom stvaraju acetat, propionat i butirat. Kolonociti koriste butirat kao glavni izvor energije, dok propionat inhibira metabolizam jetrenog kolesterola i na taj način iscrpljuje kolesterol (Gunnness i Gidley, 2010). Osim topljivih vlakana, i netopljiva vlakna imaju pozitivan utjecaj na sprječavanje kardiovaskularnih bolesti. Epidemiološkim istraživanjima koja su obuhvaćala 158 000 ispitanika utvrđeno je da se kod osoba koje su imale visok dnevni unos vlakana (29%) smanjio rizik obolijevanja od kardiovaskularnih bolesti (Anderson i sur., 2009). Povećanje unosa ukupnih prehrambenih vlakana u svakodnevnu prehranu za samo 10 g smanjuje ukupni rizik od infarkta miokarda (Mirmiran i sur., 2016).

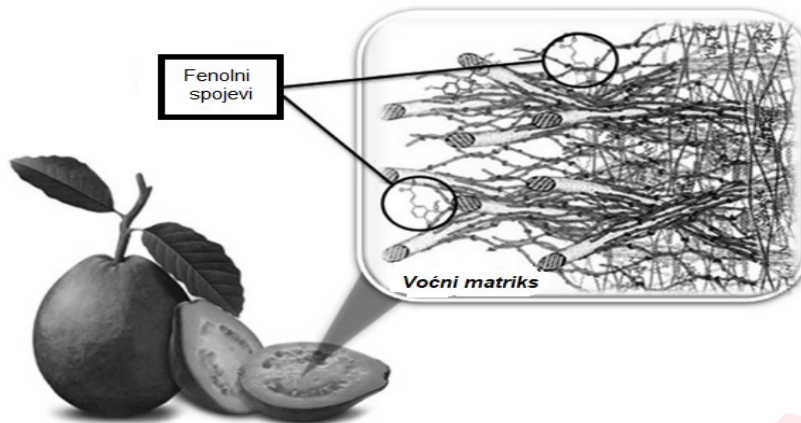
Uloga prehrambenih vlakana u zdravlju probavnog sustava od veliko je značenja. Prehrambena vlakna imaju prebiotički utjecaj tj. potiču bolju kolonizaciju bifido bakterija koje nadmoćno djeluju u odnosu na enteropatogene bakterije koje se nalaze u crijevima. Porastom bifido bakterija, smanjuje se pH u crijevima što je rezultat stvaranja kratkolančanih masnih kiselina: propionske (mliječne), etanske (octena) i butanske (maslačne) kiseline. Takvo baktericidno okruženje u crijevima djeluje na enteropatogene bakterije i potiče njihovo izlučivanje stolicom bez štetnog utjecaja na zdravlje (Slavin, 2013).

Epidemiološka ispitivanja pokazuju da prehrambena vlakna igraju važnu ulogu u prevenciji i smanjenju rizika od karcinoma debelog crijeva. Već je spomenuto da stvaranje mliječne kiseline i drugih kiselina doprinosi razvoju baktericidnog okoliša koji stimulira rad enzima koji su odgovorni za eliminaciju prokancerogenih tvari. Istraživanja potvrđuju da antikancerogeno, antiapoptotično i antioksidativno djelovanje prehrambenih vlakana može pomoći u prevenciji

tumora dojke (McRae, 2018). Netopljiva prehrambena vlakna mijenjaju funkciju debelog crijeva, jer povećavaju fekalnu masu pa djeluju laksativno. Pokazuju pozitivan utjecaj u regulaciji šećerne bolesti tipa 2. Topljiva vlakna tvore viskoznu masu u tankom crijevu, što smanjuje kontakt i miješanje makronutrijenata s probavnim enzimima. Rezultat toga je odgoda apsorpcije glukoze što smanjuje postprandijalnu razinu glukoze i inzulina u plazmi. Značajnim se smatra utjecaj prehrambenih vlakana na glikozilirani hemoglobin (HbA1c). Razlog tomu nalazi se i u glikemijskom indeksu (GI) namirnica koje sadrže prehrambena vlakna. GI hrane je mjera za brzinu kojom se razina glukoze u serumu povisi nakon konzumiranja određene vrste namirnice. Namirnice koje imaju niži GI dovesti će do niže razine glukoze u krvi postprandijalno kao i niže razine HbA1c. To može pomoći u prevenciji i liječenju pretilosti i drugih uzročno - posljedično povezanih procesa kao što su otpornost na inzulin i masna jetra. Konzumiranjem namirnica sa nižim GI postiže se niža razina šećera u krvi te posljedično poboljšava kontrola simptoma u pacijenata s dijabetesom tipa 2, ali i drugih oblika dijabetes (Post i sur., 2012). Vlakna utječu na regulaciju tjelesne težine djelujući sinergistički na osjećaj punoće i sitosti te na povećanu oksidaciju masti i smanjeno skladištenje masti (Grooper i Smith, 2013).

2.8.3. Interakcija vlakana s fenolima

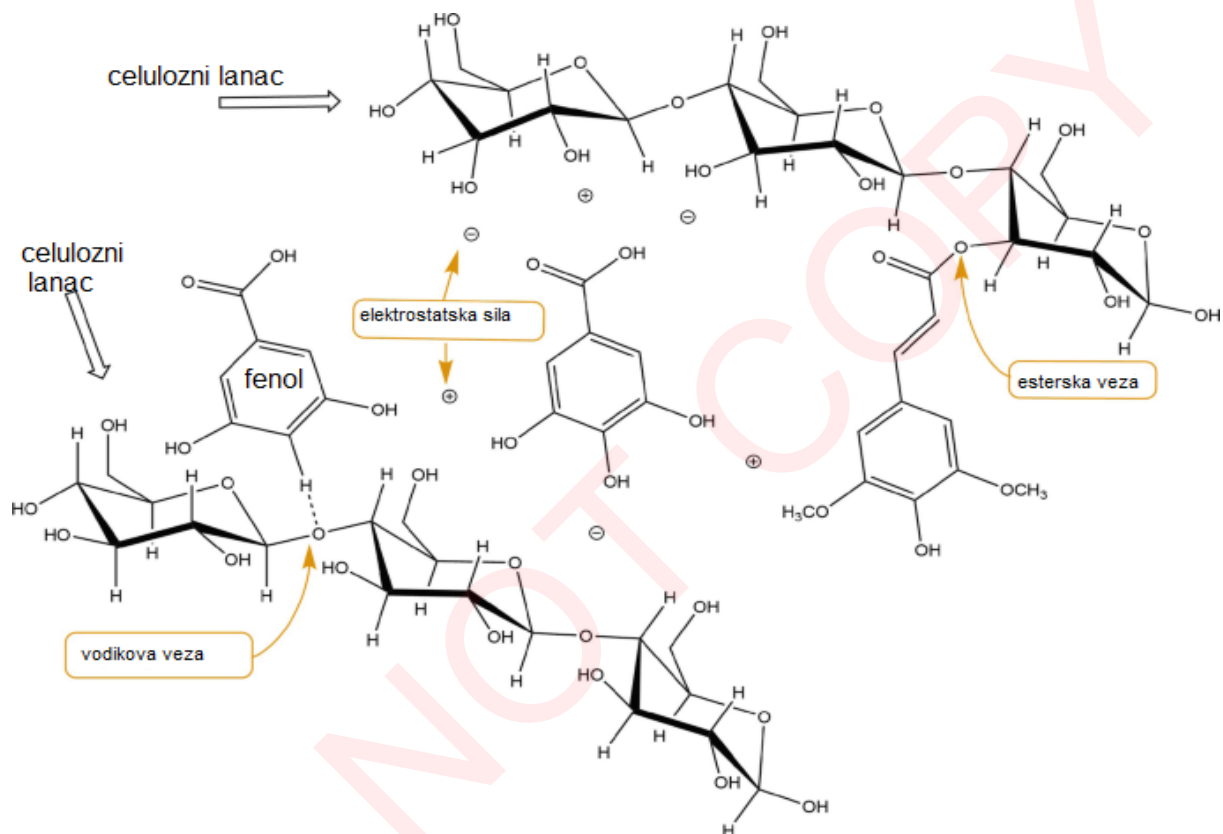
Prehrambena vlakna i fenolne komponente zbog različitosti u kemijskoj strukturi, fizikalno-kemijskim i biološkim karakteristikama te metaboličkom putu najčešće su se proučavali odvojeno (Saura-Calixto, 2011). Međutim, postoje znanstveni dokazi koji pokazuju da neprobavljive komponente polisaharida tj. prehrambenih vlakana mogu biti povezana s drugim komponentama hrane, poput polifenola (Saura-Calixto, 2011, Sáyago-Ayerdi i sur., 2007). Ove interakcije mogu se dogoditi tijekom sazrijevanja voća, procesiranja hrane ili tijekom gastrointestinalnih (probavnih) procesa. To svojstvo vezivanja pripisuje se sposobnostima polisaharida da vežu fenolne komponente na nekoliko vanjskih mjesta svoje složene kemijske strukture te time postižu visoki antioksidacijski kapacitet (Saura-Calixto, 2011). U voću je oko 2,5% prehrambenih vlakana vezano na fenolne komponente (**Slika 12**) (Saura-Calixto, 2011). Oko 95% fenolnih spojeva u žitaricama povezano je s polisaharidima prehrambenih vlakana, i to uglavnom s α -arabinoksilanima, kao diferulati kovalentno vezani preko esterskih veza (Vitaglione i sur., 2008). Najzastupljeniji fenolni spojevi povezani s prehrambenim vlaknima su iz skupine hidroksicimetnih kiselina. U voću se uglavnom vežu polimerni tanini, a nakon hidrolize najučestaliji fenolni spojevi su galna i elaginska kiselina (Arranz i sur., 2009). U žitaricama glavni spoj vezan za vlakna je ferulična kiselina, nakon koje slijedi diferulična kiselina zatim sinapinska kiselina, *p*-kumarinska i kafeinska kiselina (Vitaglione i sur., 2008).



Slika 12 Fenolni spojevi povezani s prehrambenih vlaknima u voćnom matriksu (Quiros-Sauceda i sur., 2014)

Posljednjih godina raste zanimanje za hranu sa dodanom vrijednosti ili tzv. funkcionalnom hranom. Prehrambena vlakna i fenoli imaju sve karakteristike potrebne da bi se smatrali važnim funkcionalnim sastojkom. Doprinosu povećanju nutritivne vrijednosti hrane, a ujedno i omogućavaju unaprjeđenje tehnoloških svojstava hrane. Uveden je koncept "antioksidacijska prehrambena vlakana" i definiran je kao dijetalni koncentrat vlakana koji sadrži prirodne antioksidanse (uglavnom fenolne spojeve) povezane s neprobavljivim spojevima (Saura-Calixto, 1998). Kombinacija prehrambenih vlakana povezanih s fenolima predstavlja novi obećavajući funkcionalni dodatak za prehrambenu industriju jer kombinira pozitivna bioaktivna i tehnološka svojstva obiju komponenti. Posljednjih godina, potraga za novim izvorima dijetalnih vlakana s antioksidativnim svojstvima uvelike usmjerena na biljne nusproizvode hrane, poput pulpe i kore guave, manga, kore mrkve, ananasa, kakaovca, grožđa, kupusa i njihovog iskorištavanja za dobivanje koncentrata koji će sadržati visoku koncentraciju povezanih fenola koji imaju antioksidativno djelovanje (Jimenez-Escrig i sur., 2001; Chantaro i sur., 2008; Vergara-Valencia i sur., 2007; Lecumberri i sur., 2007, Llobera i Canellas, 2008; Nilnakara i sur., 2009). Neke vrste hrane biljnog porijekla su bogat izvor prehrambenih vlakana koja sadrže specifične bioaktivne komponente, posebno fenolne spojeve, koje mogu dati nova svojstva tradicionalnim, komercijaliziranim prehrambenim proizvodima. Vežanje prehrambenih vlakana i fenolnih spojeva odvija se preko stvaranja vodikovih veza između hidroksilnih skupina fenolnih spojeva i kisikovih atoma polisaharida. Također, dolazi do hidrofobnih interakcija i kovalentnog vezanja (esterskih veza) između fenolnih kiselina i polisaharida (**slika 13**). Fenolni spojevi zbog hidrofobnih aromatskih prstenova i hidrofilnih hidroksilnih skupina imaju sposobnost vezanja s polisaharidima (prehrambenim vlaknima) i proteinima na nekoliko mjesta na površini stanične stjenke (Saura-Calixto, 2011). Interakcije ovise o veličini čestica, specifičnoj poroznosti i površinskim svojstvima molekula koja mogu ograničiti veličinu molekula

koje prodiru unutar materijala. Veličina pora vlakana može biti u rasponu od 4 do 10 nm u promjeru, što može ograničiti prodiranje fenolnih spojeva s molekularnom masom većom od 10 kDa (ekvivalent 34 jedinice katehina) (Metzler i Mosenthin, 2008). Prehrambena vlakna se mogu vezati s antioksidansima prisutnima u matriksu hrane i tijekom probave. Ove interakcije mogu također biti rezultat stvaranja vodikovih veza, jakih kovalentnih interakcija ili fizikalno-kemijskog zarobljavanja u složenu strukturu prehrambenih vlakana (Palafox-Carlos i sur., 2011).



Slika 13 Vrste interakcija između prehrambenih vlakana i fenolnih spojeva (Liu i sur., 2019)

Struktura, koncentracija i sastav vlakana i polifenola kritični su parametri koje treba uzeti u obzir prilikom maksimiziranja i optimiziranja ovih interakcija (Jakobek i Matić, 2019). U različitim istraživanjima ispitivan je utjecaj pH, temperature i ionske jakosti na stupanj interakcije vlakna-fenoli (Koh i sur., 2020; Liu i sur., 2019). Koliko će polifenola i prehrambenih vlakana biti povezano, ovisi i o ionskoj jakosti. Povećanjem ionske jakosti povećava se stupanj adsorpcije fenola na vlakna ukazujući na povećanje hidrofobnih veza (Le Bourvellec i sur., 2004; Wu i sur., 2011; Zhang i sur., 2017). Temperatura je također važan parametar koji utječe na stvaranje veza (Le Bourvellec i sur., 2004). Povišena temperatura povećava topljivost polifenola u vodi i povećava mobilnost molekula polifenola, tako da oba čimbenika mogu utjecati na vezanje polifenola na celulozu. U prethodnim istraživanjima ispitivao se je utjecaj temperature na adsorpciju polifenola na polisaharide (Le Bourvellec i sur., 2004; Gao i sur.,

2012). Povećanjem temperature sustava došlo je do povećanja stvaranja vodikovih veza (Le Bourvellec i sur., 2004). Također je utvrđeno da povećanjem temperature dolazi do smanjenja kapaciteta vezanja polifenola, izuzev (\pm)-katehina na čiju adsorpciju temperatura nema velikog utjecaja (Phan i sur., 2016). pH vrijednost sustava također utječe na stabilnost i afinitet adsorbiranja polifenola (Phan i sur., 2016). Adsorpcija cijanidin-3-glukozida raste s porastom pH od 3 do 5, a zatim naglo opada povećanjem pH na 7. Adsorpcija ferulične kiseline raste s porastom pH vrijednosti. Katehin se pokazao manje osjetljiv na pH, jer promjenom pH vrijednosti nije došlo do promjene u adsorpciji (\pm)-katehina (Phan i sur., 2015). Veliki utjecaj pH na vezivanje cijanidin-3-glukozida vjerojatno je posljedica strukturnih transformacija molekule u različitim pH okruženjima, od kationskog flavilium oblika ($\text{pH} \leq 3$) do oblika pseudobaze ($\text{pH} 5$) i konačno do formiranja kinoidalne baze pri $\text{pH} 7$ (McGhie i Walton, 2007.; Castaneda-Ovando i sur., 2009). Za hidrofobno vezanje važni su aromatski prstenovi fenolnih spojeva. Cijanidin-3-glukozid (tri aromatska prstena) ima veću tendenciju vezivanja od katehina (dva aromatska prstena) i ferulične kiseline (jedna aromatski prsten). Utjecaj pH u skladu je s gore navedenim. Pri $\text{pH} 3$, flavilium kation oblik ima pozitivan naboj aromatskog prstena za koji se pretpostavlja da destabilizira hidrofobne interakcije s celulozom. Pri $\text{pH} 7$ nastaje kinoidalna baza koja također smanjuje mogućnost hidrofobnog vezanja na celulozu. Istraživanje Le Bourvellec i sur. (2004) također je potvrdilo da na formuliranje složenog kompleksa između nenabijenih procijanidina i sastojaka stanične stjenke jabuke, pH vrijednost od 2,2 do 7 nema veliki utjecaj. Na osnovu ovih istraživanja može se predvidjeti i da će niži pH u želucu neznatno smanjiti količinu cijanidina vezanog za celulozu, ali na feruličnu kiselinu ili katehin neće imati značajnog utjecaja. Također, neutralno ili blago alkalno stanje u tankom crijevu može dovesti do smanjenog vezanja cijanidina (Phan i sur., 2015). Kafeinska, galna i klorogenska kiselina stabilnije su pri nižim vrijednostima pH, a promjene koje nastaju pri višim pH vrijednostima su ireverzibilne (Friedman i Jurgens, 2000).

Koncentracija fenola također je važan čimbenik. Guo i sur. (2018) utvrdili su da porastom koncentracije luteolina u otopini od 0,2 do 1 mg/mL značajno raste i stupanj vezanja tog spoja na polisaharide kukuruzne svile. Pretpostavlja se da se adsorpcija polifenola povećava s povećanjem njihove koncentracije, ali do određene granice koja predstavlja ravnotežnu krivulju. Količina vezivanja polifenola povećava se pri nižim koncentracijama, dok se pri višim koncentracijama adsorpcija smanjuje (Phan i sur., 2017). Na jačinu interakcije između fenola i polisaharida utječu veličina molekula i njihova konformacijska fleksibilnost. Tako se veće molekule bolje adsorbiraju na prehrambena vlakna. Ferulična kiselina i galna kiselina bolje se vežu na celulozna vlakna od klorogenske kiseline (Phan i sur., 2016); procijanidin B2 bolje se veže na celulozu u odnosu na epikatehin (Liu i sur., 2017). Polifenoli se razlikuju po stupnju hidroksilacije, metilacije, metoksilacije, esterifikacije, glikozilacije, hidrogenacije i molekularne

mase, te zbog toga postoje značajne razlike u formiranju kompleksa fenoli-vlakna (Jakobek i Matić, 2019). Prostorna konfiguracija molekule utječe na vezanje pa je utvrđeno da u interakciji između tanina i pektina, proantocijanidin A-tipa se bolje vezao na pektin zbog svoje „izdužene“ molekularne strukture i većeg broja dodirnih mjesta s molekulom pektina. Afinitet prema metiliranim pektinima povećava se s povećanjem galata u proantocijanidinima. Zbog toga je u svrhu uspješnijeg vezanja potrebno uvoditi više galatnih jedinica kako bi se osiguralo više OH skupina koje pospješuju vezivanje (Mamet i sur., 2018). Hidrofilni fenolni spojevi vežu se na hidrofilna prehrambena vlakna, dok se hidrofobni fenoli vežu na hidrofobna vlakna (Liu i sur., 2013). Prehrambena vlakna u svojoj strukturi imaju molekule šećere koje osiguravaju veliki broj OH skupina koje utječu na stvaranje vodikovih veza sa drugim molekulama. Također utječu i na nastanak Van der Waalsovih sila stoga je zaključeno da broj OH skupina značajno utječe na interakciju fenoli-celuloza (Liu i sur., 2017). Ukoliko prvo dolazi do stvaranja vodikovih veza, udaljenost između molekula polifenola i vlakana postaje manja i omogućava se stvaranje Van der Waalsovih veza (Wu i sur., 2011). Dodatno, molekule prehrambenih vlakana mogu biti ravne (linearne) ili razgranate, imati šupljine i različite veličine pora. Manji polifenolni spojevi mogu prodrijeti unutar tih pora, što se i događa u interakciji procijanidina i pektina te polifenola i β -glukana (Le Bourvellec i Renard, 2005). Wang i sur. (2013) istraživali su utjecaj kemijske strukture fenola na njihove interakcije s β -glukanima zobi. Flavonoidi s četiri ili više hidroksilnih skupina imali su manju interakciju s β -glukanom u odnosu na one s tri ili manje hidroksilnih skupina. Također su utvrdili da je adsorpcijski kapacitet flavonoida padao redom: flavonol > flavon > flavanon > izoflavon. Jakobek i sur. (2020) proučavali su interakcije između β -glukana i tri derivata kvercetina. Otkrili su da je adsorpcija veća za kvercetin-3-ramnozid i kvercetin-3-glukozid, u usporedbi s kvercetin-3-galaktozidom. Ovo istraživanje također je pokazalo da prostorni rasporedi OH skupina na molekulama derivata kvercetina utječu na adsorpciju. Zhu i sur. (2018) također su istraživali utjecaj hidroksilacije, esterifikacije, metilacije i metoksilacije fenolnih kiselina na njihovu adsorpcijsku sposobnost na pektinske polisaharide bogate arabinanom iz uljane repice. Utvrdili su da hidroksilne skupine na fenolnim kiselinama povećavaju njihovu adsorpciju na polisaharide uljane repice, dok metilne skupine na fenolnim kiselinama smanjuju njihovu adsorpciju. U drugom istraživanju, Wang i sur. (2013) pokazali su da se *o*-kumarinska kiselina više vezala na β -glukane zobi nego *p*- i *m*-kumarinska kiselina. Liu i sur. (2019) istraživali su i uspoređivali adsorpcijsko vezanje katehina na celulozu i pektin. Pektin je imao veći kapacitet vezivanja katehina (20,71 mg/g) u usporedbi s celulozom (2,41 mg/g). Ovo bi se moglo objasniti time što je pektin topljivo vlakno, te ima strukturu dugog molekularnog lanca, dok je celuloza, netopljivo vlakno i kristalne je strukture zbog brojnih vodikovih veza kojima se vežu glukozne molekule. Stoga je pektin imao više slobodnih mjesta za vezanje katehina u usporedbi s celulozom. Za adsorpciju katehina na celulozu bilo je potrebno 6 h kako bi se postiglo zasićenje, što je bilo oko 2,5 sata duže od vremena adsorpcije

katehina na pektin. Polifenolni spojevi u netopljivom obliku kovalentnim vezama su vezani za strukture stanične stijenke kao što su celuloza, hemiceluloza, lignin, pektin i šrapićasti oblici proteina (Wong, 2006). Fenolne kiseline, poput hidroksicimene i hidroksibenzojeve kiseline stvaraju eterske veze s ligninom preko svojih hidroksilnih skupina u aromatskom prstenu i esterske veze sa strukturiranim ugljikohidratima i proteinima preko svoje karboksilne skupine (Bhanja i sur., 2009; Liu, 2007; Liyana-Pathirana i Shahidi, 2006). Hidrofobne interakcije su interakcije između vode i u vodi netopljivih ili slabo topljivih molekula kao što su nepolarne molekule. One mogu formirati nakupine kako bi što manje bile u dodiru s vodom. Neka prehrambena vlakna i polifenoli nisu topljivi u vodi što im daje mogućnost stvaranja hidrofobnih nakupina. Također, polifenoli imaju hidrofobne aromatične prstenove koji pospješuju hidrofobne interakcije (Saura-Calixto, 2011).

Istraživanja koja su proučavala odnos između polifenola i celuloze pokazala su da maksimalni kapacitet vezivanja polifenola na celulozu ovisi o njihovoj molekularnoj strukturi i kreće se u rasponu od 0,4 do 1,4 g na 1 g celuloze (Phan i sur., 2015). Interakcija između fenola (katehin, ferulična kiselina, klorogenska kiselina, galna kiselina i cjanidin-3-glukozid) i celuloze događa se spontano, unutar 1 minute, zatim se ubrzano povećava unutra 30 minuta. Dva sata se odvija intenzivnije vezanje dok nakon toga dolazi do usporavanja vezanja fenola na celulozu. Istraženo je da se vezivanja antocijana i fenolnih kiselina iz soka ljubičaste mrkve na polisaharide stanične stijenke događa unutar 30 sekundi do 10 minuta, dok se nakon toga vezanje odvija usporeno (Padayachee i sur., 2012a; 2012b). Phan i sur. (2015) su naveli da su ovi rezultati korisni za pretpostavljanje ponašanja fenola tijekom konzumacije hrane jer je vjerojatno da će se fenoli vezivati na vlakna tijekom žvakanja u ustima ili kasnije u želucu i tankom crijevu. Liu i sur. (2017) pretpostavili su da je početno vezivanje posljedica adsorpcije polifenola na vezna mjesta na površini celuloze. Naknadno, fenolne molekule mogu difundirati unutar celuloze i vezati se na dostupna mjesta celuloznih mikrovlakana. Vezanje je prvenstveno vodikovim vezama i hidrofobno vezivanje zbog prisutnih hidroksilnih skupina. Osim toga i konformacijska fleksibilnost fenolnih prstenova važan je faktor za nekovalentnu interakciju celuloza-fenol. Vezivanje se povećava s povećanjem broja i konformacijske nefleksibilnosti fenolnih prstenova. Različiti polifenoli imaju različite afiniteta vezanja, što ukazuje na to da celuloza u određenoj mjeri ima sposobnost selektivne adsorpcije polifenola (Liu i sur., 2017; Cartalade i Vernhet, 2006).

DO NOT COPY

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Glavni cilj ovo rada bio je razvoj bioaktivnih dodataka hrani na bazi celuloze kao nositelja fenolnih spojeva i hlapljivih komponenti soka maline odnosno soka višnje.

Hipoteze istraživanja koje su postavljene:

- Adsorpcija fenola na celulozu ovisi o količini celuloze;
- Adsorpcija fenola na celulozu ovisi o vrsti i svojstvima fenola;
- Adsorpcija hlapljivih komponenti na celulozu ovisi o količini celuloze te fizikalno-kemijskim karakteristikama hlapljivih komponenti;
- Adsorpcija fenola i hlapljivih komponenti na celulozu ovisi o vremenu kompleksiranja celuloze i sokova maline/višnje;
- Vrsta fenolnih i hlapljivih komponentata utječe na stabilnost kompleksa tijekom skladištenja.

Kako bi se testirale postavljene hipoteze, pojedinačni zadaci istraživanja bili su:

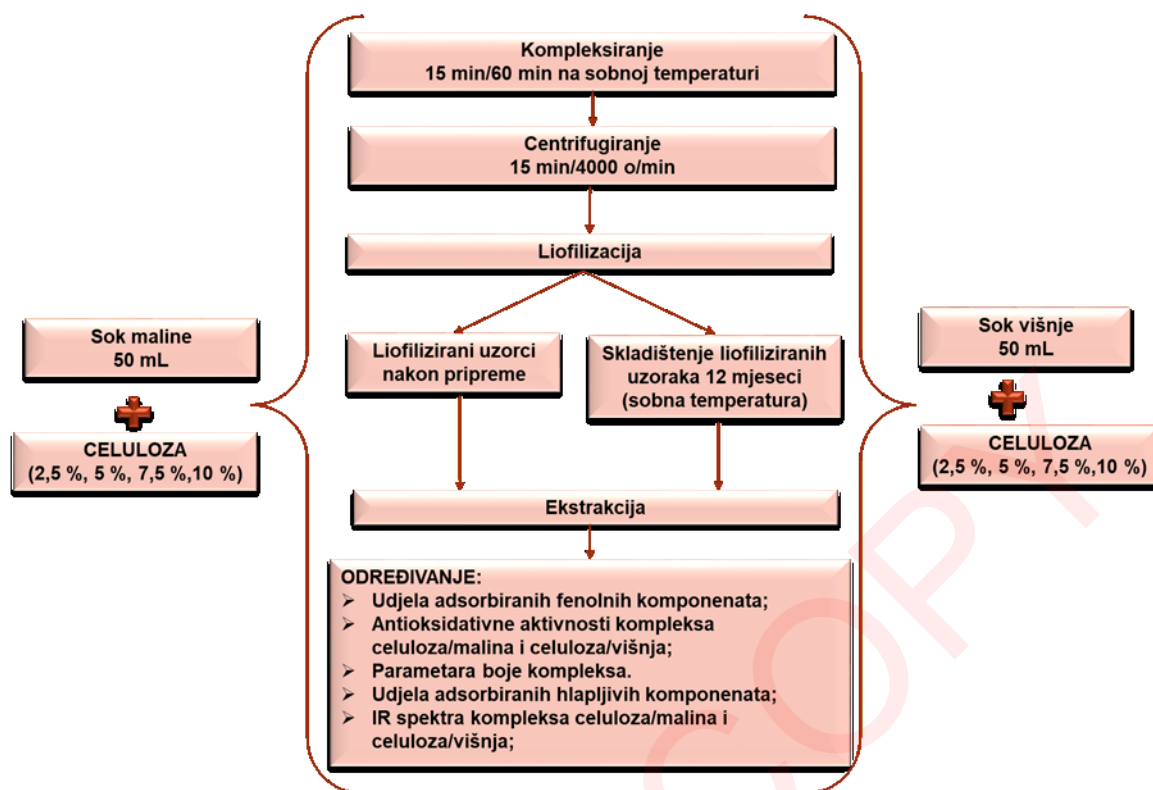
- Ispitati mogućnost primjene celuloze kao nositelja fenolnih spojeva i hlapljivih komponenti soka maline odnosno soka višnje:
 - ✓ Priprema kompleksa na bazi celuloze i soka maline odnosno celuloze i soka višnje;
 - ✓ Liofilizacija kompleksa.
- Ispitati utjecaj količine celuloze i vremena kompleksiranja na adsorpciju fenolnih komponenti soka maline odnosno soka višnje:
 - ✓ Količina celuloze za pripremu kompleksa je varirala (2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 %) dok je količina soka (maline ili višnje) bila konstantna;
 - ✓ Vrijeme kompleksiranja 15 minuta i 60 minuta;
 - ✓ Određivanje adsorbiranih ukupnih fenola, antocijana, proantocijandina na celulozu;
 - ✓ Određivanje pojedinačnih fenola;
 - ✓ Određivanje antioksidacijske aktivnosti kompleksa celuloza/malina i celuloza/višnja (DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metode);
 - ✓ Određivanje parametara boje kompleksa celuloza/malina i celuloza/višnja (L^* , a^* , b^* , $^{\circ}h$, C^* , ΔE);
 - ✓ Određivanje strukturnih promjena kompleksa celuloza/malina i celuloza/višnja u odnosu na čistu celulozu.
- Ispitati utjecaj količine celuloze i vremena kompleksiranja na adsorpciju hlapljivih spojeva soka maline odnosno soka višnje:

- ✓ Određivanje aromatskih komponenti pomoću plinske kromatografije s masenim detektorom (GC-MS);
- Ispitati stabilnost fenolnih spojeva i hlapljivih komponenti u liofiliziranim kompleksima skladištenim 12 mjeseci na sobnoj temperaturi:
 - ✓ Određivanje svih prethodno definiranih parametara te usporedba rezultata nakon skladištenja s početnim uzorcima.

Pripremljeni kompleksi mogu se koristiti za obogaćivanje pekarskih proizvoda, mliječnih proizvoda, proizvoda na bazi voća te drugih prehrambenih proizvoda polifenolima, antioksidansima i vlaknima s ciljem dobivanja tzv. funkcionalnih proizvoda. Osim poboljšanja nutritivnih svojstva hrane, novi bioaktivni dodatci mogu poboljšati i senzorska svojstva (aromu i boju) te povećati stabilnost proizvoda u koji se dodaju (**Slika 14**).



Slika 14 Dodavanje prehrambenih vlakana (celuloze) sa antioksidativnim djelovanjem u hranu radi poboljšanja svojstava prehrambenih proizvoda



Slika 15 Shematski prikaz rada

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

Maline (*Rubus idaeus*) su ubrane na lokaciji 46°10'53.4"N 16°19'31.8"E, a višnje (*Prunus cerasus*) na lokaciji 46°18'11.0"N 16°33'14.3"E u okolici Varaždina. Celuloza (mikrokristalična) nabavljena je od proizvođača Kemika (Zagreb, Hrvatska). Kalij klorid, natrij acetat, etanol, amonij acetat nabavljeni su od Gram-mol d.d. (Zagreb, Hrvatska). Kalij natrij tartarat tetrahidrat, natrij karbonat, natrij hidroksid, octena kiselina kupljeni su u T.T.T. (Sveta Nedjelja, Hrvatska). Trolox, 4-(dimetilamino)-cinamaldehyd, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS), željezo(III)klorid i galna kiselina bili su iz Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, SAD). Eugenol i mirtenol su nabavljeni od proizvođača Sigma (Darmstadt, Njemačka). Folin-Ciocalteuov reagens kupljen je od proizvođača Carlo Erba Reagents (Sabadell, Španjolska), dok je klorovodična kiselina kupljena od proizvođača Panreac (Barcelona, Španjolska). Standardi: elaginska kiselina, rutin, kvercetin, kaempferol, cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-soforozid, cijanidin-3-rutinozid, neoklorogenska kiselina, cijanidin-3-O-glukozid klorid, kao i procijanidin B2 nabavljeni su od Extrasynthese (Genay, Francuska). Klorogenska kiselina, bakar (II) klorid, neokuproin hemihidrat, 2,4,6-tripiridil-s-tirazin (TPTZ) kupljeni su od Acros Organics (Geel, Belgija). Orto-fosforna kiselina kupljena je od Fisher Scientific (Loughborough, UK) i metanol u firmi J.T. Baker (Deventer, Nizozemska).

3.2.2. Priprema bioaktivnih dodataka hrani

Bioaktivni dodaci hrani pripremljeni su kompleksiranjem celuloze i soka maline odnosno soka višnje. Sokovi od maline i višnje pripremljeni su prešanjem zrelih plodova te zbog uklanjanja krutih dijelova filtrirani su kroz gazu. Tako pripremljeni sokovi termički su obrađeni na 90 °C 3 minute radi inaktivacije enzima. Za pripremu kompleksa celuloza/malina i celuloza/višnja, celuloza i sok maline odnosno višnje miješani su 15 minuta odnosno 60 minuta na magnetskoj miješalici na sobnoj temperaturi u odgovarajućim omjerima (**Tablica 4** i **Tablica 5**).

Tablica 4 Omjer sastojaka za pripremu kompleksa celuloza/malina

Oznaka uzorka	Udio celuloze (g)	Sok maline (mL)
2,5 %_CM	1,25	50
5 %_CM	2,5	50
7,5 %_CM	3,75	50
10 %_CM	5	50

(CM – kompleks celuloza malina; 2,5 %, 5 %, 7,5 %, 10 % - udio celuloze prilikom pripreme kompleksa)

Tablica 5 Omjer sastojaka za pripremu kompleksa celuloza/višnja

Oznaka uzorka	Udio celuloze (g)	Sok višnje (mL)
2,5 %_CV	1,25	50
5 %_CV	2,5	50
7,5 %_CV	3,75	50
10 %_CV	5	50

(CV - kompleks celuloza višnja; 2,5 %, 5 %, 7,5 %, 10 % - udio celuloze prilikom pripreme kompleksa)

Nakon toga, dobivena smjesa je centrifugirana 15 minuta pri 4000 rpm. Centrifugiranjem se je odvojio kruti od tekućeg dijela te je mokri kruti dio odvojen kako bi se upotrijebio za pripremu suhog praha odnosno suhog kompleksa celuloza/malina i celuloza/višnja. Suhi kompleksi celuloza/malina i celuloza/višnja su dobiveni liofilizacijom. Prije postupka liofilizacije, mokri kruti dio dobiven centrifugiranjem je zamrznut na -18 °C 24 sata, a liofilizacija je provedena u liofilizatoru (Christ Freeze Dryer, Alpha 1-4, Germany) (**Slika 16**). Uvjeti liofilizacije podešeni su tako da je temperatura zamrzavanja bila -55 °C, temperatura sublimacije od -35 °C do 0 °C pod vakuumom od 0,220 mbar te u završnoj fazi temperatura izotermne desorpcije od 0 °C do 22 °C pod vakuumom od 0,060 mbar. Dobiveni liofilizirani uzorci odmah su se koristili za određivanje definiranih parametara.

Za određivanje stabilnosti, kompleksi su pakirani u plastičnu foliju i čuvani su na sobnoj temperaturi 12 mjeseci.



Slika 16 Liofilizator (Christ Freeze Dryer, Alpha 1-4)

3.2.3. Metode

Ekstrakcija uzoraka

Za pripremu ekstrakta odvagano je 0,8 g suhog uzorka kompleksa celuloza/malina odnosno celuloza/višnja, te je dodano 5 mL metanola zakiseljenog s klorovodičnom kiselinom (HCl : metanol = 1:99). Provedena je ekstrakcija u ultrazvučnoj kupelji u vremenu od 15 minuta, nakon koje je ostavljena smjesa dodatnih 15 minuta na mirovanje kako bi se izdvojile kruta i tekuća faza. Tekući ekstrakt je dekantiran te stavljen na centrifugiranje 10 minuta na 10 000 o/s. Dobiveni tekući ekstrakt odvajan je u plastičnu epruvetu, a ekstrakcija s novom količinom otapala (5 mL) i odijeljivanje slojeva ponovljena je još dva puta, na prethodno opisan način. Četvrti put je na zaostali talog dodano novih 5 mL zakiseljenog metanola te ekstrahirano 15 minuta. Cijela smjesa centrifugirana je 15 minuta na 4000 o/s.

Dobiveni ekstrakt je korišten za određivanje ukupnih fenola, antocijana i antioksidacijske aktivnosti.

Određivanje ukupnih fenola

Udio ukupnih fenola određen je Folin-Ciocalteu metodom (Singleton i Rossi, 1965). Kalibracijska krivulja galne kiseline korištena je za izražavanje ukupnih fenola, a rezultati su izraženi u gramima galne kiseline po kilogramu uzorka (g GAE/kg).

Postupak: u epruvetu se otpipetira 0,2 mL uzorka, 1,8 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu (1:10) reagensa i 8 mL otopine natrijevog karbonata (7,5 %), promućka se i ostavi stajati 2 sata na tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi. Slijepa proba se pripravi sa

destiliranom vodom (2 mL). Apsoorbancija otopine se određuje na spektrofotometru pri 765 nm. Mjerenja su provedena u tri paralele.

Određivanje sadržaja monomernih antocijana

Za određivanje antocijana primijenjena je pH-diferencijalna metoda. pH-diferencijalna metoda se zasniva na strukturnoj transformaciji kromofora antocijana u ovisnosti o promjeni pH.

Antocijani podliježu reverzibilnoj strukturnoj transformaciji s promjenom pH koja se manifestira promjenom spektra apsoorbancije. pH-diferencijalna metoda za određivanje antocijana omogućava brzo i točno mjerenje ukupnih antocijana, bez obzira na prisutnost polimeriziranih, degradiranih pigmenata i drugih tvari koje bi mogle smetati. Antocijani su određivani metodom prema Giusti i Wrolstadu (2001.).

Postupak: Otpipetira se 0,2 mL ekstrakta uzorka u dvije kivete, u jednu se doda 2,8 mL 0,025 M KCl (pH 1), a u drugu 2,8 mL 0,4 M natrijevog acetata (pH 4,5). Nakon stajanja od 15 minuta uzorcima se pomoću spektrofotometra mjeri apsoorbancija na dvije valne duljine ($A_{\lambda_{vis}} = 515 \text{ nm}$ i 700 nm). Slijepa proba pripremljena je s destiliranom vodom. Sadržaj antocijana je izračunat prema slijedećoj formuli:

$$C_{(\text{antocijana})} (\text{mg/kg}) = (A \times M \times \text{FR} \times 1000) / \epsilon \times l$$

gdje je:

A - apsoorbancija uzorka, a izračunava se prema izrazu:

$$A = (A_{\lambda_{vis}} - A_{700})_{\text{pH } 1} - (A_{\lambda_{vis}} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

M – molekularna masa cijanidin-3-glukozida - 449,2; FR - faktor razrjeđenja (mg cijanidin-3-glukozida/kg); ϵ - molarna apsoorbancija; 26 900; l - duljina kivete (1 cm). (M i ϵ su uzeti za cijanidin-3-glukozid).

Određivanje fenola primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti

Sadržaj fenola određen je koristeći HPLC sustav 1260 Infinity II (Agilent technology, Santa Clara, CA, USA) (**Slika 17**). Navedeni sustav se sastoji od sljedećih dijelova: kvaterna pumpa, detektor s diodnim nizom i kolona Poroshell 120 EC-C 18 (4,6 x 100 mm, 2,7 μm). Korištena metoda je opisana u radu Lončarić i sur. (2016) te prethodno validirana. Kao mobilne faze korišteni su 0,1 %-tna H_3PO_4 (A) i 100%-tni metanol (B). Količina injektiranog uzorka iznosila je 20 μL , a protok je bio postavljen na 1 mL/minuti. Prije injektiranja u sustav svi uzorci su filtrirani koristeći PTFE filter sa porama veličine 0,45 μm . Za eluiranje komponenti korišteni su sljedeći uvjeti: 0-38 minuta od 3 % do 65 % B i 38-45 minuta 65 % B. Za pripremu kalibracijskih krivulja, korištene su koncentrirane otopine standarda pripremljene u zakiseljenom metanolu (1:99 HCl:metanol) za antocijane ili u 100 %-tnom metanolu za ostale fenole. Kalibracijski

pravci izrađeni su za sljedeće komponente: klorogenska kiselina (1 – 150 mg/L; $r^2 = 0,9993$), neoklorogenska kiselina (1 – 150 mg/L; $r^2 = 0,9999$), elaginska kiselina (5 – 300 mg/L; $r^2 = 0,9998$), rutin (1-150 mg/L; $r^2 = 0,999$), kvercetin (1 – 150 mg/L; $r^2 = 0,9999$), kaempferol (0,5 - 150 mg/L; $r^2 = 0,9997$), cijanidin-3-glukozid (10 - 150 mg/L; $r^2 = 0,9993$), cijanidin-3-soforozid (1 – 500 mg/L; $r^2 = 0,9997$), cijanidin-3-rutinozid (1 – 150 mg/L; $r^2 = 0,9997$). Cijanidin-3-glukozil-rutinozid je određen uvjetno preko literature usporedbom vremena zadržavanja na koloni (Lončarič i sur., 2016; Jakobek i sur., 2007) te je izračunat preko cijanidin-3-rutinozida. Derivati elaginske kiseline odnosno kvercetina su također određeni uvjetno uspoređujući UV/Vis spektar te izračunati preko formula za elaginsku kiselinu odnosno kvercetin. UV/Vis spektar je sniman u području od 190 do 600 nm. Antocijani su identificirani na 520 nm, hidroksicimetne kiseline na 320 nm, a flavonoli i elaginska kiselina na 360 nm. Uzorci su analizirani u paralelama.



Slika 17 HPLC uređaj 1260 Infinity II (Agilent technology, Santa Clara, CA, USA)

Određivanje proantocijanidina

Postupak: otpipetira se 0,1 mL uzorka te se doda 1 mL otopine 4-dimetil-aminocinamaldehida. Reakcijska smjesa se ostavi stajati 30 minuta te se mjeri apsorbancija na 640 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za procijanidin B2. Mjerenja su provedena u tri paralele.

Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Za određivanje antioksidacijske aktivnosti korištene su četiri metode: DPPH, ABTS, CUPRAC i FRAP. Za svaki uzorak provedena su tri mjerenja.

DPPH metoda

Postupak: otpipetira se 0,2 mL uzorka, 3 mL otopine DPPH, dobro promiješa i reakcijska smjesa se ostavi stajati 15 minuta. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri 517 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za trolox. Mjerenja su provedena u tri paralele.

ABTS metoda

Postupak: otpipetira se 0,2 mL uzorka te se doda 3,2 mL otopine ABTS, dobro promiješa i smjesa se ostavi reagirati 1h i 35 minuta u mraku. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri 734 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za trolox. Mjerenja su provedena u tri paralele.

CUPRAC metoda

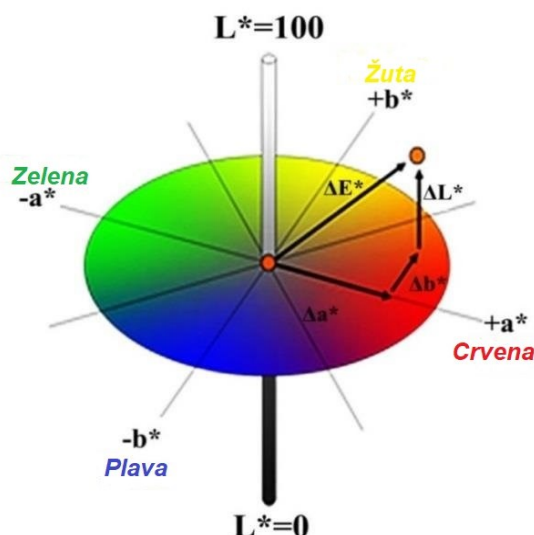
Postupak: otpipetira se 1 mL otopine bakar klorida, 1 mL otopine neokuproina, 1 mL amonij acetata, 0,2 mL uzorka te 0,9 mL vode. Smjesa se homogenizira te ostavi stajati 30 minuta. Nakon inkubacije mjeri se absorbanca na 450 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za trolox. Mjerenja su provedena u tri paralele.

FRAP metoda

Postupak: otpipetira se 0,2 mL uzorka, 3 mL FRAP otopine, dobro promiješa i reakcijska smjesa se ostavi stajati 30 minuta. Nakon toga se mjeri apsorbancija pri 593 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za trolox. Mjerenja su provedena u tri paralele.

Određivanje parametara boje

Mjerenje boje kao i promjena boje praćeni su kromametrom (Minolta CR-400). Ovaj tip kromametra mjeri reflektiranu svjetlost s površine predmeta. Svjetlost se reflektira, te takvu svjetlost mjeri šest jako osjetljivih silikonskih fotoćelija. Podatke zapisuje računalo i izražava ih u pet različitih sustava (X, Y, Z; Yxy; LCH; Lab; Hunter Lab). U radu je korišten Lab sustav koji daje približne vrijednosti kao i ljudsko oko (**Slika 18**). Pomoću L^* vrijednosti određuje se je li neki predmet taman ili svijetao. Ako je $L^* = 0$ tada je predmet taman, a ako je $L^* = 100$ predmet je svijetao. a^* vrijednost određuje je li neki predmet crvene ili zelene boje. Ako je a^* pozitivan predmet je crvene boje, a ako je a^* negativan predmet je zelen. b^* vrijednost određuje je li neki predmet žute ili plave boje. Ako je b^* pozitivan predmet je žute boje, a ako je b^* negativan predmet je plav. Osim L^* , a^* i b^* vrijednosti na kromometru su određeni i zasićenje (C^*) i ton boje ($^{\circ}h$). Ton boje ($^{\circ}h$) definira vizualni doživljaj na temelju kojeg točno definiramo pojedinu boju npr. crvenu, plavu, zelenu itd. ovisno o dominantnoj valnoj duljini. Zasićenje (C^*) definira udio čiste boje u ukupnom vizualnom doživljaju boje tj. udio pojedinih valnih duljina u ukupnom tonu boje.



Slika 18 Trodimenzionalni CIE L*a*b* sustav boja (Nguyen i sur., 2018)

Svjetlina (L^*) opisuje sličnost boje s nizom akromatskih boja od crne preko sive do bijele odnosno udio crne u nekom tonu boje. Udaljenost između dvije točke u koordinatnom sustavu boje se izražava kao promjena boje odnosno ΔE . Promjena boje izračunava se na temelju L^* , a^* i b^* vrijednosti prema slijedećoj formuli:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5}$$

$$\Delta L^* = L^*_k - L^*_u$$

$$\Delta a^* = a^*_k - a^*_u$$

$$\Delta b^* = b^*_k - b^*_u$$

(k – kontrolni uzorak; u – uspoređivani uzorak)

Određivanje hlapljivih komponenata

Za određivanje hlapljivih komponenata korišten je plinski kromatograf s masenim detektorom (GC-MS). Za ekstrakciju hlapljivih tvari korišteno je SPME vlakno presvučeno sorbentom divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan(DVB/CAR/PDMS) (50/30 μm , StableFlex™, Supelco, Bellefonte, PA, SAD). Za tu svrhu, u bočicu od 10 mL odvagano je 0,3 g uzorka, nakon čega je dodano 4,7 g vode i 1 g NaCl-a. U bočicu se stavi magnet te se hermetički zatvori teflonskim čepom. Bočica se postavi u modulu za grijanje, uz stalno miješanje uzorka magnetskom miješalicom, te se hlapljivi sastojci adsorbiraju na polimernu stacionarnu fazu. Kondicioniranje bočica s uzorcima provedeno je u modulu za grijanje s kontroliranom temperaturom od 45 °C tijekom 45 minuta i miješano na 350 o/minuti. Po završetku adsorpcije vlakno s adsorbiranim sastojcima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova desorpcija. Određivanje hlapljivih sastojaka uzoraka provedeno je primjenom

instrumentalne plinske kromatografije. U radu je korišten plinski kromatograf Agilent 7890B s masenim spektrometrom Agilent 5977A (Agilent Technologies, CA, USA) (**Slika 19**).



Slika 19 Plinski kromatograf Agilent 7890B (Agilent Technologies, CA, USA)

Hlapljivi spojevi su desorbirani u otvor GC injektora na 250 °C 7 minuta; način rada bez dijeljenja. Plinski kromatograf je bio opremljen HP5 kapilarnom kolonom (60 m × 0,25 mm × 0,25 μm). Kao plin nositelj korišten je helij pri protoku od 1 mL/minuti pri 40 °C. Temperatura pećnice programirana je na sljedeći način: početna temperatura od 40 °C održavana je 2 minute, zatim 6 °C/minuti do 230 °C.

Hlapljivi spojevi identificirani su pomoću masenog selektivnog detektora. Detektor je radio u m/z rasponu između 45 i 450, temperatura ionskog izvora i kvadropola održavani su na 230 °C odnosno 150 °C. Spojevi su potvrđeni uspoređivanjem njihovih masenih spektara prema nacionalnoj bazi podataka masenih spektara Instituta za standarde i tehnologiju (NIST, East Amwell Township, NJ, SAD) te kroz vrijeme zadržavanja i indeks zadržavanja. Provedena su dva ponavljanja za svaki uzorak. Za uzorke s malinom, kvantifikacija je provedena s eugenolom kao internim standardom, a za uzorke s višnjom s mirtenolom kao internim standardom, a rezultati su prikazani kao mikrogrami hlapljive komponente po kilogramu uzorka (μg/kg).

FTIR-ATR analiza

FTIR-ATR analizom utvrđene su strukturne promjene na celulozi nakon kompleksiranja s fenolima soka maline i soka višnje. Snimanje FTIR spektra provedeno je pomoću Cary 630 FTIR spektrometra (**Slika 20**) u rasponu od 4000 do 600 cm⁻¹.



Slika 20 FTIR-ATR uređaj

Statistička obrada podataka

Analiza varijance (ANOVA) i Fisherova najmanje značajna razlika (LSD) s značajnost definirana na $p < 0,05$ primijenjena je za statističku procjenu dobivenih rezultata pomoću softverskog programa STATISTICA 13.1 (StatSoft Inc, Tulsa, OK, SAD). Svi rezultati su predstavljeni kao srednje vrijednosti \pm standardna devijacija.

DO NOT COPY

4. REZULTATI

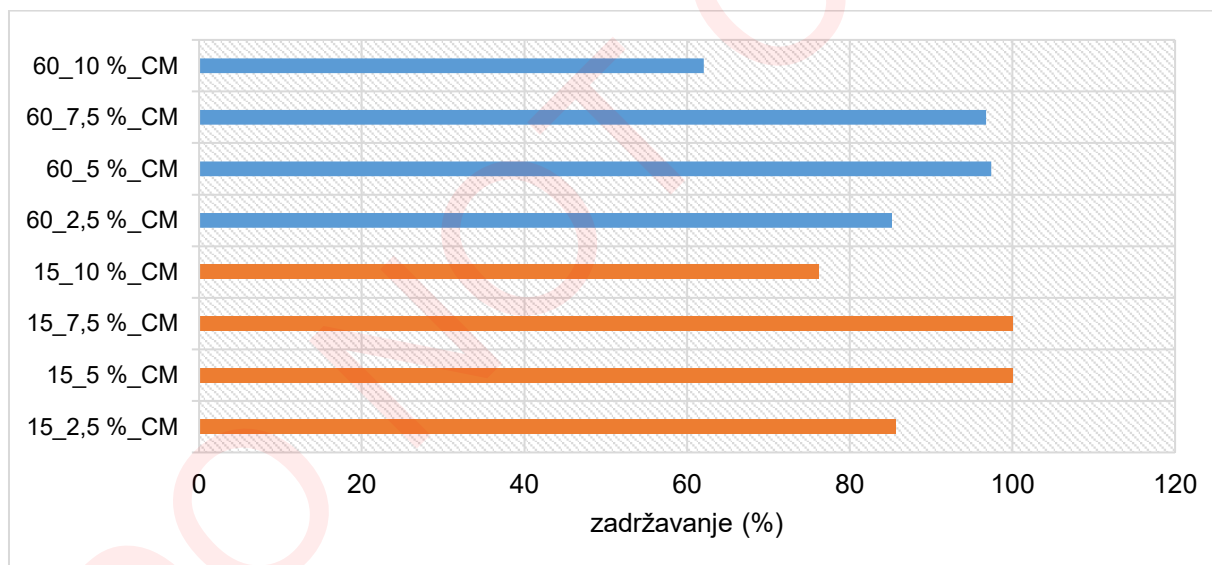
4.1. BIOAKTIVNI DODATCI HRANI NA BAZI CELULOZE I SOKA MALINE

4.1.1. Udio fenola i antocijana u kompleksima celuloza/malina

Tablica 6 Udio ukupnih fenola (g/kg) u kompleksima celuloza/malina (CM) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja

Uzorci	Vrijeme kompleksiranja (minuta)	
	15	60
Nakon pripreme		
2,5 %_CM	2,43±0,03 ^a	1,96±0,01 ^a
5 %_CM	1,70±0,25 ^c	1,54±0,03 ^b
7,5 %_CM	1,38±0,02 ^d	1,23±0,01 ^c
10 %_CM	1,26±0,27 ^e	1,16±0,04 ^c
Nakon 12 mjeseci skladištenja		
2,5 %_CM	2,08±0,11 ^b	1,67±0,15 ^b
5 %_CM	1,76±0,22 ^c	1,50±0,11 ^b
7,5 %_CM	1,47±0,14 ^d	1,19±0,29 ^c
10 %_CM	0,96±0,17 ^e	0,72±0,06 ^d

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CM kompleksa.

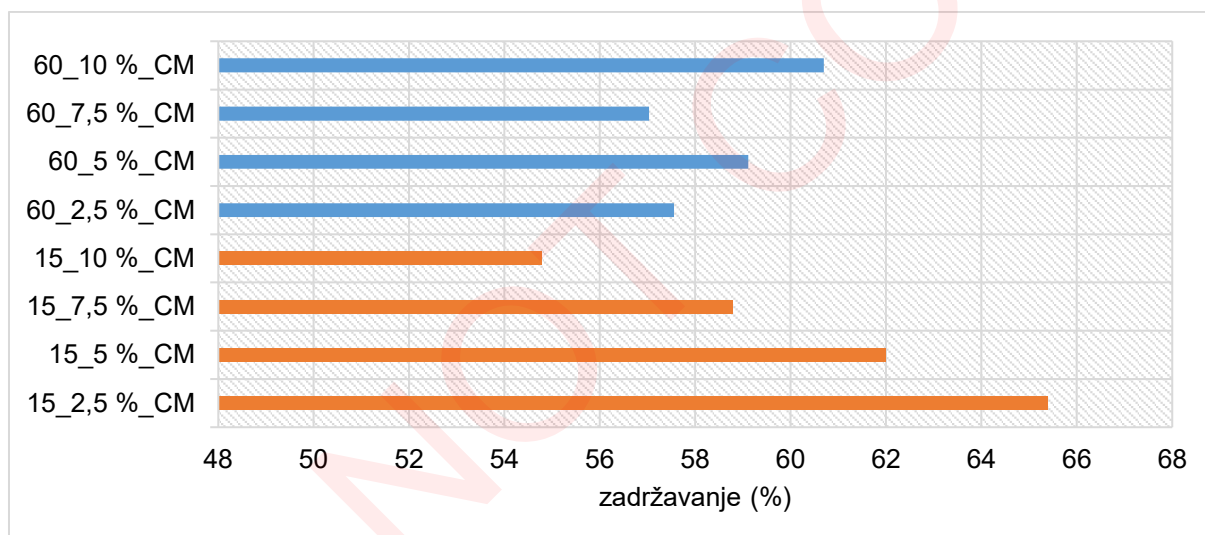


Slika 21 Postotak zadržavanja ukupnih fenola u kompleksima celuloza/malina (15 minuta i 60 minuta) nakon skladištenja (CM - celuloza/malina kompleks; 2,5 % - 10 % - udio celuloze)

Tablica 7 Udio antocijana (mg/kg) u kompleksima celuloza/malina (CM) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja

Uzorci	Vrijeme kompleksiranja (minuta)	
	15	60
Nakon pripreme		
2,5 %_CM	429,40±2,98 ^a	411,88±1,12 ^a
5 %_CM	392,04±5,84 ^b	374,02±2,37 ^b
7,5 %_CM	356,83±4,10 ^c	337,35±4,09 ^c
10 %_CM	320,19±2,50 ^d	274,10±0,00 ^d
Nakon 12 mjeseci skladištenja		
2,5 %_CM	280,75±5,58 ^e	237,06±5,64 ^e
5 %_CM	243,01±2,41 ^f	221,08±2,98 ^f
7,5 %_CM	209,79±4,85 ^g	192,40±0,00 ^g
10 %_CM	175,43±3,21 ^h	166,36±0,37 ^h

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f > g > h$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CM kompleksa.



Slika 22 Postotak zadržavanja ukupnih antocijana u kompleksima celuloza/malina (15 minuta i 60 minuta) nakon skladištenja (CM - celuloza/malina kompleks; 2,5 % - 10 % - udio celuloze)

4.1.2. Udio pojedinačnih fenola u kompleksima celuloza/malina (HPLC)

Tablica 8 Koncentracija polifenola ($\mu\text{g/g}$) u kompleksima celuloza/malina (CM) pripremljeni kompleksiranjem od 15 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja

Fenolni spojevi	2,5 %_CM	5 %_CM	7,5 %_CM	10 %_CM
	15 minuta			
	Nakon pripreme			
Cijanidin-3-soforozid	196,24 \pm 0,99 ^a	178,95 \pm 4,45 ^b	165,37 \pm 0,96 ^c	158,08 \pm 3,30 ^d
Cijanidin-3-glukozil-rutinozid*	28,82 \pm 0,50 ^a	28,01 \pm 0,68 ^a	26,96 \pm 0,40 ^b	26,92 \pm 0,16 ^b
Cijanidin-3-glukozid	58,39 \pm 0,29 ^a	52,29 \pm 0,53 ^b	46,20 \pm 0,52 ^c	41,00 \pm 1,47 ^d
Cijanidin-3-rutinozid	33,95 \pm 0,79 ^a	31,87 \pm 1,15 ^{a,b}	30,83 \pm 0,21 ^b	29,08 \pm 0,61 ^c
Elaginska kiselina	80,84 \pm 2,29 ^a	66,14 \pm 2,56 ^b	56,77 \pm 2,99 ^c	44,11 \pm 2,78 ^d
Elaginska kiselina derivat 1*	19,96 \pm 0,67 ^a	16,46 \pm 0,44 ^b	13,76 \pm 0,29 ^c	10,46 \pm 0,59 ^d
Elaginska kiselina derivat 2*	8,38 \pm 0,15 ^a	7,43 \pm 0,05 ^b	6,23 \pm 0,20 ^c	5,41 \pm 0,12 ^d
Elaginska kiselina derivat 3*	10,32 \pm 0,21 ^a	9,58 \pm 0,43 ^a	8,48 \pm 0,25 ^b	7,20 \pm 0,45 ^c
Kvercetin	25,67 \pm 0,10 ^a	24,54 \pm 0,29 ^b	23,31 \pm 0,16 ^c	21,73 \pm 0,62 ^d
Kvercetin derivat 1*	16,90 \pm 0,11 ^a	16,52 \pm 0,17 ^a	16,23 \pm 0,04 ^{a,b}	15,62 \pm 0,33 ^b
	Nakon skladištenja			
Cijanidin-3-soforozid	83,03 \pm 0,09 ^a	77,78 \pm 0,21 ^b	66,66 \pm 0,93 ^c	66,46 \pm 3,13 ^c
Cijanidin-3-glukozil-rutinozid*	21,37 \pm 0,07 ^a	20,78 \pm 0,08 ^b	20,20 \pm 0,06 ^b	20,82 \pm 0,37 ^b
Cijanidin-3-glukozid	45,64 \pm 0,11 ^a	40,67 \pm 0,49 ^b	34,28 \pm 0,16 ^c	30,25 \pm 1,06 ^d
Cijanidin-3-rutinozid	28,40 \pm 0,01 ^a	27,37 \pm 0,06 ^b	25,85 \pm 0,11 ^c	24,77 \pm 0,55 ^c
Elaginska kiselina	104,80 \pm 1,40 ^a	82,70 \pm 0,63 ^b	69,09 \pm 0,13 ^c	54,60 \pm 1,40 ^d
Elaginska kiselina derivat 1*	19,47 \pm 0,29 ^a	12,39 \pm 0,13 ^b	9,03 \pm 0,13 ^c	7,09 \pm 0,26 ^d
Elaginska kiselina derivat 2*	8,21 \pm 0,37 ^a	6,77 \pm 0,04 ^b	5,49 \pm 0,21 ^c	4,78 \pm 0,23 ^c
Elaginska kiselina derivat 3*	12,56 \pm 0,25 ^a	11,84 \pm 0,36 ^a	9,09 \pm 0,25 ^b	7,46 \pm 0,58 ^c
Kvercetin	27,09 \pm 0,14 ^a	25,55 \pm 0,03 ^b	23,41 \pm 0,03 ^c	21,22 \pm 0,57 ^d
Kvercetin derivat 1*	16,86 \pm 0,18 ^a	16,44 \pm 0,02 ^{a,b}	15,96 \pm 0,13 ^b	15,60 \pm 0,13 ^b

*kvantificirano pomoću kalibracijskih krivulja cijanidin 3-soforozida, elaginske kiseline i kvercetina; Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: a > b > c > d; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CM kompleksa.

Tablica 9 Koncentracija polifenola ($\mu\text{g/g}$) u kompleksima celuloza/malina (CM) pripremljeni kompleksiranjem od 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja

Fenolni spojevi	2,5 %_CM	5 %_CM	7,5 %_CM	10 %_CM
	60 minuta			
	Nakon pripreme			
Cijanidin-3-soforozid	188,96 \pm 2,95 ^a	175,56 \pm 0,18 ^b	156,08 \pm 1,12 ^c	134,95 \pm 0,46 ^d
Cijanidin-3-glukozil-rutinozid*	26,41 \pm 0,02 ^a	25,91 \pm 0,67 ^a	24,84 \pm 0,01 ^b	24,54 \pm 0,30 ^b
Cijanidin-3-glukozid	53,55 \pm 1,85 ^a	47,36 \pm 0,13 ^b	39,92 \pm 0,34 ^c	33,75 \pm 0,02 ^d
Cijanidin-3-rutinozid	32,20 \pm 0,03 ^a	30,61 \pm 0,03 ^b	28,85 \pm 0,07 ^c	27,17 \pm 0,09 ^d
Elaginska kiselina	89,09 \pm 0,87 ^a	89,05 \pm 0,70 ^a	67,92 \pm 0,06 ^b	85,98 \pm 0,00 ^c
Elaginska kiselina derivat 1*	12,82 \pm 0,14 ^a	10,05 \pm 0,12 ^b	7,79 \pm 0,12 ^c	6,12 \pm 0,06 ^d
Elaginska kiselina derivat 2*	7,12 \pm 0,17 ^a	6,12 \pm 0,19 ^b	5,07 \pm 0,04 ^c	4,33 \pm 0,04 ^d
Elaginska kiselina derivat 3*	13,22 \pm 0,53 ^a	11,90 \pm 0,29 ^b	9,90 \pm 0,20 ^c	8,03 \pm 0,41 ^d
Kvercetin	26,54 \pm 0,01 ^a	25,02 \pm 0,05 ^b	23,13 \pm 0,12 ^c	21,90 \pm 0,04 ^d
Kvercetin derivat 1*	16,62 \pm 0,09 ^a	16,32 \pm 0,05 ^a	15,95 \pm 0,02 ^b	15,59 \pm 0,00 ^b
	Nakon skladištenja			
Cijanidin-3-soforozid	73,96 \pm 0,02 ^a	63,42 \pm 1,77 ^b	60,52 \pm 2,41 ^c	60,52 \pm 2,40 ^c
Cijanidin-3-glukozil-rutinozid*	20,75 \pm 0,06 ^a	20,28 \pm 0,27 ^a	20,41 \pm 0,09 ^a	20,51 \pm 0,04 ^a
Cijanidin-3-glukozid	37,76 \pm 0,46 ^a	34,01 \pm 1,07 ^b	30,70 \pm 1,22 ^c	28,68 \pm 0,81 ^d
Cijanidin-3-rutinozid	26,42 \pm 0,10 ^a	25,13 \pm 0,45 ^b	24,70 \pm 0,53 ^b	24,36 \pm 0,39 ^b
Elaginska kiselina	93,31 \pm 2,04 ^a	104,53 \pm 0,95 ^b	80,74 \pm 3,64 ^c	65,32 \pm 4,14 ^d
Elaginska kiselina derivat 1*	9,94 \pm 0,00 ^a	8,68 \pm 0,25 ^b	6,77 \pm 0,20 ^c	5,95 \pm 0,16 ^d

Elaginska kiselina derivat 2*	6,14 ± 0,00 ^a	5,54 ± 0,26 ^b	4,62 ± 0,09 ^c	4,24 ± 0,09 ^c
Elaginska kiselina derivat 3*	14,22 ± 0,06 ^a	12,45 ± 0,94 ^b	10,25 ± 0,47 ^c	8,78 ± 0,78 ^d
Kvercetin	26,47 ± 0,19 ^a	25,39 ± 0,27 ^b	23,26 ± 0,18 ^c	22,38 ± 0,22 ^d
Kvercetin derivat 1*	16,25 ± 0,06 ^a	15,97 ± 0,05 ^{a,b}	15,74 ± 0,09 ^b	15,57 ± 0,08 ^b

*kvantificirano pomoću kalibracijskih krivulja cijanidin 3-soforozida, elaginske kiseline i kvercetina; Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: a > b > c > d; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CM kompleksa.

4.1.4. Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/malina

Tablica 10 Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/malina (CM) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja određena DPPH metodom

Uzorci	DPPH	
	15 minuta	60 minuta
	Nakon pripreme	
2,5 %_CM	23,51±0,56 ^b	22,86±0,15 ^b
5 %_CM	22,83±0,31 ^b	23,10±0,15 ^b
7,5 %_CM	22,24±0,19 ^c	22,79±0,02 ^b
10 %_CM	20,01±0,78 ^d	22,73±0,17 ^b
	Nakon skladištenja	
2,5 %_CM	25,68±0,27 ^a	25,89±0,36 ^a
5 %_CM	24,96±1,32 ^{a,b}	26,52±0,31 ^a
7,5 %_CM	26,54±0,64 ^a	25,15±0,59 ^a
10 %_CM	25,64±0,16 ^a	25,29±0,83 ^a

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: a > b > c > d; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CM kompleksa.

Tablica 11 Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/malina ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja određena FRAP metodom

Uzorci	FRAP	
	15 minuta	60 minuta
	Nakon pripreme	
2,5 %_CM	2,81±0,02 ^b	2,56±0,15 ^a
5 %_CM	2,40±0,05 ^d	2,50±0,14 ^a
7,5 %_CM	2,29±0,03 ^d	2,09±0,04 ^b
10 %_CM	2,02±0,02 ^e	1,79±0,06 ^c
	Nakon skladištenja	
2,5 %_CM	3,08±0,08 ^a	2,22±0,08 ^a
5 %_CM	2,36±0,05 ^d	2,46±0,03 ^a
7,5 %_CM	2,59±0,04 ^c	2,01±0,00 ^b
10 %_CM	1,76±0,00 ^f	1,72±0,02 ^c

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: a > b > c > d > e > f; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CM kompleksa.

Tablica 12 Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/malina (CM) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja određena CUPRAC metodom

Uzorci	CUPRAC	
	15 minuta	60 minuta
Nakon pripreme		
2,5 %_CM	103,20±0,17 ^b	82,94±5,14 ^b
5 %_CM	79,61±0,43 ^c	84,84±2,53 ^b
7,5 %_CM	69,19±1,60 ^e	70,19±0,04 ^c
10 %_CM	54,47±5,91 ^f	55,48±2,80 ^e
Nakon skladištenja		
2,5 %_CM	127,33±0,16 ^a	97,60±3,81 ^a
5 %_CM	100,71±3,31 ^b	97,88±2,53 ^a
7,5 %_CM	92,26±0,22 ^c	85,02±0,96 ^b
10 %_CM	81,54±1,51 ^c	66,65±3,22 ^d

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CM kompleksa.

4.1.5. Boja kompleksa celuloza/malina

Tablica 13 Parametri boje kompleksa celuloza/malina (CM) nakon pripreme

Udio celuloze	L*	a*	b*	°h	C*
100 %	93,40±0,00	0,42±0,02	6,65±0,01	86,34±0,11	6,66±0,01
15 minuta kompleksiranja					
2,5 %_CM	68,93±0,03 ^f	34,42±0,09 ^a	2,28±0,06 ^a	3,79±0,11 ^a	34,50±0,09 ^a
5 %_CM	70,71±0,02 ^d	32,88±0,06 ^b	1,52±0,04 ^{b,c}	2,64±0,07 ^c	32,92±0,05 ^b
7,5 %_CM	71,14±0,02 ^c	32,39±0,03 ^{b,c}	1,25±0,01 ^d	2,21±0,03 ^d	32,41±0,03 ^c
10 %_CM	73,57±0,01 ^b	30,38±0,03 ^e	1,46±0,02 ^c	2,75±0,04 ^c	30,42±0,03 ^e
60 minuta kompleksiranja					
2,5 %_CM	69,25±0,02 ^e	34,18±0,05 ^a	2,29±0,04 ^a	3,83±0,06 ^a	34,26±0,05 ^a
5 %_CM	71,58±0,02 ^c	32,14±0,06 ^c	1,44±0,04 ^c	2,57±0,07 ^c	32,17±0,06 ^c
7,5 %_CM	71,60±0,01 ^c	31,92±0,02 ^d	1,78±0,02 ^b	3,20±0,02 ^c	31,97±0,02 ^d
10 %_CM	74,09±0,02 ^a	29,94±0,04 ^f	1,11±0,04 ^d	2,13±0,07 ^d	29,96±0,04 ^f

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CM kompleksa.

Tablica 14 Parametri boje kompleksa celuloza/malina (CM) nakon skladištenja

Udio celuloze	L*	a*	b*	°h	C*
100 %	93,40±0,00	0,42±0,02	6,65±0,01	86,34±0,11	6,66±0,01
15 min kompleksiranja					
2,5 %_CM	73,37±0,05 ^e	27,23±0,01 ^a	2,47±0,04 ^a	5,18±0,08 ^b	27,34±0,01 ^a
5 %_CM	74,17±0,05 ^d	26,76±0,05 ^b	2,13±0,01 ^c	4,55±0,03 ^c	26,85±0,05 ^b
7,5 %_CM	76,30±0,02 ^b	24,42±0,02 ^c	1,89±0,01 ^d	4,43±0,02 ^c	24,49±0,02 ^c
10 %_CM	76,60±0,02 ^b	24,67±0,02 ^c	1,57±0,01 ^e	3,63±0,03 ^c	24,72±0,02 ^c
60 min kompleksiranja					
2,5 %_CM	73,62±0,02 ^b	27,41±0,03 ^a	2,03±0,03 ^c	4,24±0,07 ^c	27,48±0,03 ^a
5 %_CM	75,41±0,01 ^c	24,67±0,02 ^c	2,36±0,00 ^b	5,47±0,01 ^a	24,78±0,02 ^c
7,5 %_CM	76,39±0,02 ^b	24,17±0,02 ^d	2,07±0,01 ^c	4,89±0,03 ^b	24,26±0,02 ^c
10 %_CM	77,05±0,01 ^a	23,73±0,01 ^e	1,86±0,03 ^d	4,47±0,07 ^c	23,80±0,01 ^d

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CM kompleksa.

Tablica 15 Promjena boje kompleksa celuloza/malina u odnosu na čistu celulozu ΔE i promjena boje kompleksa celuloza/malina nakon skladištenja u odnosu na početne uzorke ΔE_1

Uzorci	ΔE	ΔE_1
15 minuta kompleksiranja		
2,5 % CM	42,11	8,45
5 % CM	39,93	7,06
7,5 % CM	39,32	9,52
10 % CM	36,30	6,47
60 minuta kompleksiranja		
2,5 % CM	41,74	8,07
5 % CM	38,85	8,44
7,5 % CM	38,61	9,12
10 % CM	35,70	6,92

CM – celuloza/malina; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CM kompleksa.

4.1.6. Hlapljive komponente kompleksa celuloza/malina

Tablica 16 Hlapljive komponente identificirane u soku malina i kompleksima celuloza/malina

Malina sok	Kompleks celuloza/malina	Vrijeme zadržavanja (minuta)	Indeks zadržavanja	Molekularna masa	Log P (o/w)	Tlak para (mm/Hg)	Opis arome
2-heksenal	+	7,4716	851	98,14	1,79	4,62	zelena
heksanol	-	8,5358	866	102,18	2,03	0,947	zelena
benzaldehyd	+	14,8880	955	106,124	1,480	1,27	voćna
β-mircen	-	17,1058	987	136,238	4,17	2,29	drvenasta
oktanal	+	18,0072	998	128,22	2,951	2,068	zelena
heksanska kiselina	-	18,7302	1009	116,16	1,920	0,158	voćna
limonen	+	19,3232	1018	136,238	4,57	0,198	citrus
2-etil heksanol	+	19,8268	1029	130,231	2,82	0,207	voćna
benzil alkohol	-	20,1599	1035	108,14	1,100	0,094	voćna
γ-terpinen	-	21,1997	1051	136,238	4,5	1,075	citrus
1-feniletanon	+	21,6789	1057	120,151	1,58	0,397	voćna
linalol oksid	+	22,0851	1065	170,252	1,375	0,002	cvjetna
oktanol	-	22,2638	1071	130,23	3,0	0,079	zelena
-	gvajakol	23,1329	1080	124,139	1,32	0,179	drvenasta
α-terpinolene	+	23,8974	1094	136,238	4,470	1,126	drvenasta
linalol	+	23,8884	1096	154,252	2,970	0,016	citrus
nonanal	+	24,1158	1095	142,242	3,461	0,532	citrus
etil heksanska kiselina	+	25,8217	1128	144,214	2,640	0,03	bez arome
2-nonenal	+	27,1726	1155	140,226	3,319	0,256	zelena
-	mentol	27,6494	1167	156,27	3,216	0,032	zelena
α-terpineol	+	28,4620	1180	154,253	2,67	0,028	drvenasta
mirtanol	+	28,7553	1185	152,24	3,22	0,018	zelena
dekanal	+	29,4771	1200	156,269	3,97	0,207	cvjetna
-	etil benzaldehyd	29,672	1201	134,178	2,408	0,106	voćna
β-ciklocitral	-	29,9239	1207	152,237	3,10	0,176	biljna
nerol	+	30,5818	1218	154,253	3,47	0,013	citrus
geraniol	+	31,9384	1247	154,253	3,56	0,021	cvjetna
4-propil benzaldehyd	+	32,4908	1261	148,20	2,918	0,039	bez arome
vitispiran	-	32,7283	1265	192,302	3,62	0,022	cvjetna
-	dekanol	32,7995	1265	158,28	4,570	0,008510	voćna

-	nonanoska kiselina	33,5062	1277	158,23	3,42	0,009	voštana
α -jonol	+	37,4621	1376	194,317	4,492	0,001	bobičasta
β -damascenon	+	37,6571	1380	190,286	4,04	0,02	drvenasta
etil dekanoat	+	38,0311	1389	200,322	4,861	0,034	voćna
trans-kariofilen	-	38,5426	1402	204,356	6,777	0,013	drvenasta
α -jonon	+	38,9487	1417	192,302	3,995	0,014	bobičasta
dihidro β -jonon	+	39,2249	1432	194,317	3,990	0,01	bobičasta
dihidro- β -jonol	+	39,4117	1440	196,33	4,634	0,001	cvjetna
geranil aceton	+	39,6066	1448	194,318	3,834	0,016	cvjetna
β -jonon	+	4,3458	1477	192,302	3,995	0,017	bobičasta
miristicin	-	41,0120	1511	192,214	2,586	0,008	drvenasta
lilial	+	41,0691	1514	204,313	4,216	0,005	cvjetna
-	α -cedrol	42,4579	1592	222,372	4,33	0,001	drvenasta
miristil aldehid	-	42,4825	1601	212,376	6,008	0,006	drvenasta
-	benzofenon	42,799	1618	182,222	3,1	0,001	cvjetna
metil dihidrojasmonat	+	43,1727	1647	226,316	2,653	0,001	cvjetna
-	heksil salicilat	43,4814	1667	222,284	5,07	0,00049	zelena
heksil cinamaldehyd	+	44,3590	1737	216,324	4,866	0,001	cvjetna

¹Log P-logaritam koeficijenta oktanol voda koji pokazuje relativnu hidrofobnost spoja; podaci su dobiveni s <http://www.thegoodscentscompany.com>, <http://www.chemicalbook.com>; *detektirani "+" i nedetektirani "-" hlapljivi spojevi u soku i kompleksima celuloza/malina

Tablica 17 Hlapljivi spojevi ($\mu\text{g}/\text{kg}$) soka maline i kompleksa celuloza/malina (CM) nakon 15 minuta i 60 minuta kompleksiranja (2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze) nakon pripreme

Hlapljive komponente	Sok maline	2,5 %_CM		5 %_CM		7,5 %_CM		10 %_CM	
		15	60	15	60	15	60	15	60
Aldehidi i ketoni									
2-heksenal	37,44 \pm 0,05 ^a	0,22 \pm 0,00 ^d	1,53 \pm 0,05 ^b	0,20 \pm 0,03 ^d	0,57 \pm 0,08 ^c	-	0,57 \pm 0,03 ^c	0,22 \pm 0,04 ^d	0,25 \pm 0,04 ^d
benzaldehyd	42,03 \pm 1,17 ^a	1,48 \pm 0,00 ^f	4,58 \pm 0,47 ^c	4,84 \pm 0,87 ^c	8,45 \pm 0,99 ^b	2,06 \pm 0,07 ^e	4,97 \pm 0,31 ^c	2,20 \pm 0,40 ^{d,e}	2,98 \pm 0,32 ^d
oktanal	12,37 \pm 0,39 ^a	6,60 \pm 0,41 ^b	3,75 \pm 0,24 ^d	6,56 \pm 2,21 ^b	7,16 \pm 1,56 ^b	3,54 \pm 0,09 ^d	4,08 \pm 0,13 ^c	3,39 \pm 0,30 ^d	3,43 \pm 1,23 ^d
nonanal	27,63 \pm 0,03 ^a	17,02 \pm 1,71 ^b	12,16 \pm 0,13 ^c	17,16 \pm 2,60 ^b	18,71 \pm 1,70 ^b	11,05 \pm 1,1 ^{c,d}	11,78 \pm 0,33 ^{c,d}	11,44 \pm 0,12 ^d	8,59 \pm 2,46 ^e
2-nonenal	4,77 \pm 0,12 ^a	1,16 \pm 0,01 ^d	1,02 \pm 0,08 ^d	2,33 \pm 0,13 ^c	2,45 \pm 0,28 ^c	4,01 \pm 0,02 ^b	1,28 \pm 0,16 ^d	1,24 \pm 0,06 ^d	0,88 \pm 0,13 ^e

dekanal	39,56±2,80 ^a	9,75±1,12 ^c	38,56±2,4 ^a	10,07±1,55 ^c	10,78±0,87 ^{c,d}	25,98±2,32 ^b	8,19±0,98 ^d	22,00±2,8 ^b	9,59±0,50 ^c
etil benzaldehid	-	1,19±0,08 ^d	4,38±0,42 ^b	1,77±0,31 ^c	1,31±0,51 ^c	4,72±0,11 ^b	1,12±0,12 ^d	5,25±0,01 ^a	1,02±0,32 ^d
4-propil benzaldehid	92,06±0,58 ^a	4,15±0,36 ^d	7,44±0,90 ^c	7,50±0,86 ^c	7,65±1,28 ^c	4,21±0,59 ^d	4,43±0,08 ^d	11,30±0,7 ^b	2,89±0,27 ^e
lilial	8,64±0,03 ^a	2,74±0,05 ^c	2,84±0,73 ^{b,c}	2,77±0,35 ^{b,c}	3,31±0,50 ^b	2,35±0,30 ^c	2,61±0,34 ^{b,c}	3,30±0,46 ^b	2,34±0,90 ^{b,c}
heksil cinamaldehyd	4,07±0,12 ^a	1,91±0,03 ^f	2,81±0,06 ^{b,c}	2,22±0,049 ^d	2,65±0,13 ^{c,e}	2,14±0,29 ^{d,f}	2,44±0,10 ^{d,e}	3,10±0,26 ^b	2,82±0,48 ^{b,c}
acetofenon	9,30±0,18 ^a	3,53±0,24 ^c	1,02±0,04 ^f	2,19±0,16 ^d	4,43±0,12 ^b	1,71±0,48 ^e	1,35±0,15 ^e	2,27±0,18 ^d	0,94±0,32 ^f
geraniil aceton	28,77±0,10 ^a	6,29±0,49 ^{d,e}	6,89±1,22 ^{d,f}	10,18±1,41 ^b	8,94±1,46 ^{b,c,f}	8,26±0,72 ^{b,c,f}	7,60±0,15 ^{c,f}	7,87±0,93 ^{c,f}	7,70±1,26 ^{c,e,f}
benzofenon	-	1,61±0,13 ^e	2,52±0,50 ^{b,c}	2,05±0,07 ^d	1,82±0,41 ^{d,e}	1,79±0,45 ^{d,e}	3,54±0,39 ^a	2,91±0,40 ^{a,b}	2,39±0,47 ^c
Esteri									
metil dihidrojasmonat	6,94±0,08 ^a	1,63±0,21 ^d	3,06±0,08 ^d	3,33±0,38 ^c	3,23±0,06 ^c	1,41±0,12 ^a	4,59±0,26 ^b	3,44±0,38 ^c	2,73±0,66 ^c
heksil salicilat		3,17±0,03 ^b	2,05±0,27 ^c	3,08±0,26 ^b	2,63±0,27 ^c	4,91±0,84 ^a	2,76±0,52 ^a	3,66±0,65 ^a	4,39±0,67 ^a
Kiseline									
heksanska kiselina	22,44±0,42	-	-	-	-	-	-	-	-
etil heksanska kiselina	3,84±0,28 ^a	1,22±0,12 ^b	-	0,41±0,04 ^d	-	0,72±0,08 ^a	-	0,76±0,30 ^c	-
nonanska kiselina	-	1,41±0,13 ^f	3,26±0,45 ^c	8,12±0,94 ^a	4,00±0,06 ^b	1,51±0,44 ^{e,f}	2,19±0,14 ^d	2,29±0,03 ^d	2,04±0,25 ^{d,e}
Alkoholi									
heksanol	83,19±0,43	-	-	-	-	-	-	-	-
2-etil heksanol	37,99±2,88 ^a	21,21±0,48 ^b	16,07±0,20 ^c	25,21±4,33 ^b	35,09±2,76 ^a	22,06±0,55 ^b	24,56±0,13 ^b	20,98±2,23 ^b	11,98±0,77 ^d
benzil alkohol	10,12±0,02	-	-	-	-	-	-	-	-
dekanol	-	2,12±0,35 ^b	2,38±0,29 ^b	2,36±0,30 ^b	2,38±0,05 ^b	2,93±0,52 ^a	2,08±0,34 ^b	3,28±0,48 ^a	2,02±0,53 ^b
Fenoli									
gvajakol	-	4,38±0,14 ^b	3,43±0,35 ^d	4,53±0,55 ^b	6,88±0,72 ^a	4,19±0,73 ^{b,e}	5,34±0,51 ^b	6,09±0,05 ^a	3,30±0,70 ^{d,e}
Terpeni									
linalol	418,56±17,99	44,22±1,52 ^c	31,70±1,18 ^{d,f}	31,64±4,89 ^{d,f}	57,52±3,28 ^b	29,53±0,60 ^{d,f}	24,46±3,46 ^e	26,97±3,78 ^{e,f}	19,17±1,34 ^g
limonen	33,83±1,33 ^a	8,72±0,54 ^b	2,99±0,09 ^d	2,61±0,096 ^e	4,78±0,53 ^c	3,08±0,39 ^d	3,01±0,35 ^d	3,38±0,61 ^d	1,80±0,77 ^e
γ-terpinen	5,76±0,11	-	-	-	-	-	-	-	-
linalol oksid	17,79±0,38 ^a	1,16±0,09 ^f	0,99±0,03 ^f	1,79±0,12 ^e	1,73±0,24 ^e	5,36±0,26 ^c	1,69±0,14 ^e	5,98±0,16 ^b	2,81±0,64 ^d
α-terpinolen	48,79±0,47 ^a	1,67±0,32 ^b	0,92±0,14 ^{d,f}	1,20±0,05 ^c	1,13±0,16 ^c	0,91±0,003 ^d	0,94±0,06 ^d	0,84±0,16 ^e	0,51±0,13 ^f

mentol	-	4,94±0,11 ^{a,c}	6,23±0,31 ^a	4,58±0,71 ^{a,b}	4,40±0,66 ^b	4,01±0,27 ^b	6,66±1,67 ^a	5,10±0,027 ^a	4,20±0,85 ^b
α-terpineol	374,22±28,12 ^a	22,27±3,26 ^{b,d}	17,33±1,85 ^c	24,16±4,70 ^{b,d}	28,05±3,91 ^b	19,59±1,30 ^c	23,24±1,96 ^b	19,63±1,23 ^{c,d}	12,98±1,31 ^e
mirtenol	35,23±2,12 ^a	5,62±0,22 ^b	3,00±0,60 ^e	4,96±0,16 ^c	3,13±0,46 ^e	4,19±0,31 ^d	2,20±1,46 ^{e,f}	2,85±0,02 ^e	2,02±0,07 ^{f,g}
nerol	34,69±0,75 ^a	2,41±0,00 ^c	1,15±0,03 ^{f,g}	1,78±0,29 ^e	3,21±0,20 ^b	1,59±0,43 ^{e,g}	1,64±0,18 ^e	2,03±0,19 ^d	1,18±0,17 ^{f,g}
geraniol	118,55±3,39 ^a	8,47±0,53	6,23±1,24 ^{d,e}	7,23±0,72 ^{c,d}	9,90±0,63 ^b	5,31±0,27 ^e	4,57±0,28 ^f	6,27±0,81 ^d	3,59±0,63 ^f
vitispiran	16,67±0,14	-	-	-	-	-	-	-	-
α-cedrol	-	2,89±0,20 ^b	5,03±1,02 ^a	4,06±0,19 ^a	2,76±0,40 ^b	2,52±0,002 ^b	2,98±0,53 ^{b,c}	4,36±0,84	3,87±0,60 ^{a,c}
α-jonol	362,34±31,83 ^a	18,01±0,80 ^c	14,60±1,07 ^d	23,53±3,88 ^b	19,75±1,51 ^{b,c}	16,53±0,82 ^c	17,29±2,70 ^c	14,66±0,16 ^d	12,68±1,19 ^e
α-jonon	339,30±8,32 ^a	29,90±0,672 ^b	14,96±1,71 ^d	21,70±2,61 ^c	21,62±1,43 ^c	18,63±2,79 ^c	12,92±0,95 ^d	18,74±2,16 ^c	10,75±0,02
β-damascenon	38,74±1,81 ^a	2,72±0,02 ^c	1,96±0,22 ^{d,e}	3,08±0,49 ^b	2,65±0,47 ^c	2,02±0,026 ^d	2,36±0,44 ^{c,d}	2,24±0,27 ^{c,d}	1,59±0,36
trans-kariofilen	36,80±1,27	-	-	-	-	-	-	-	-
dihidro-β-jonon	152,40±2,12 ^a	26,13±1,40 ^b	11,32±1,49 ^{d,e}	17,32±1,99 ^c	12,61±2,80 ^d	13,30±2,12 ^d	9,51±1,15 ^e	13,97±1,69 ^d	6,85±1,37 ^f
dihidro-β-jonol	23,91±0,12 ^a	3,75±0,09 ^b	3,89±0,81 ^b	3,28±0,37 ^b	3,72±0,96 ^b	3,93±0,52 ^b	2,73±0,04 ^c	3,84±0,61 ^b	2,63±0,36 ^c
β-jonon	365,89±20,27 ^a	45,90±0,20 ^b	25,75±4,60 ^{d,e}	35,20±4,35 ^c	33,98±6,29 ^c	29,64±3,75 ^{c,d}	24,45±2,85 ^{d,e}	32,31±4,07 ^c	21,91±0,44 ^e
miristicin	8,51±0,15	-	-	-	-	-	-	-	-

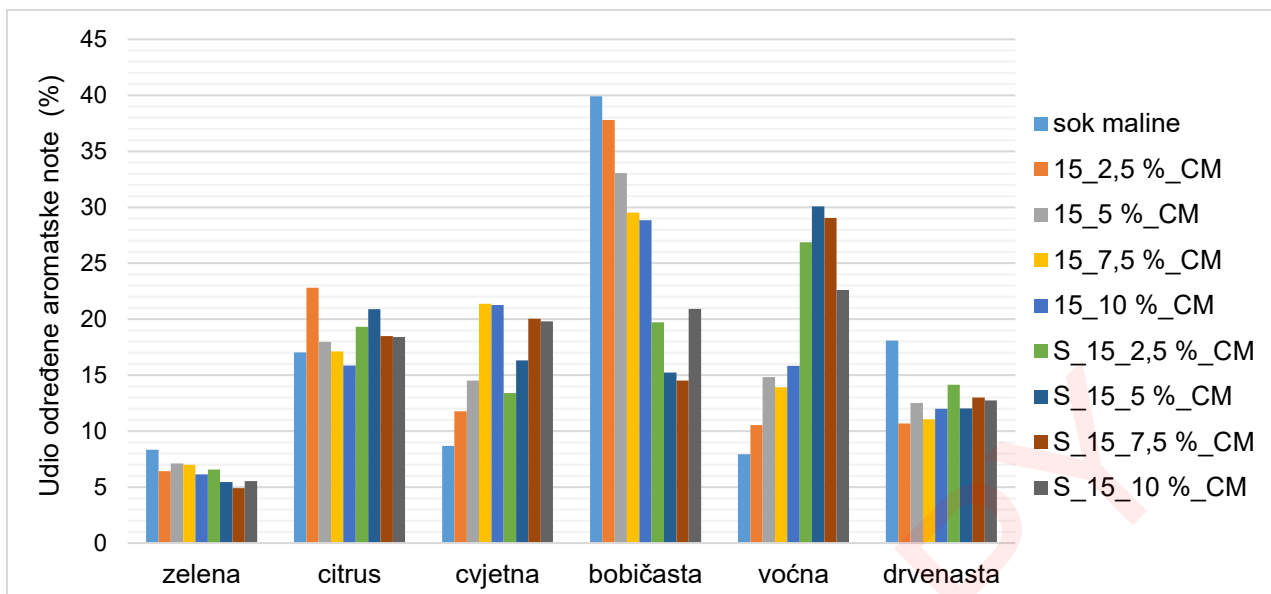
Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f > g$.

Tablica 18 Hlapljivi spojevi ($\mu\text{g}/\text{kg}$) kompleksa celuloza/malina (CM) nakon 15 minuta i 60 minuta kompleksiranja (2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze) nakon skladištenja

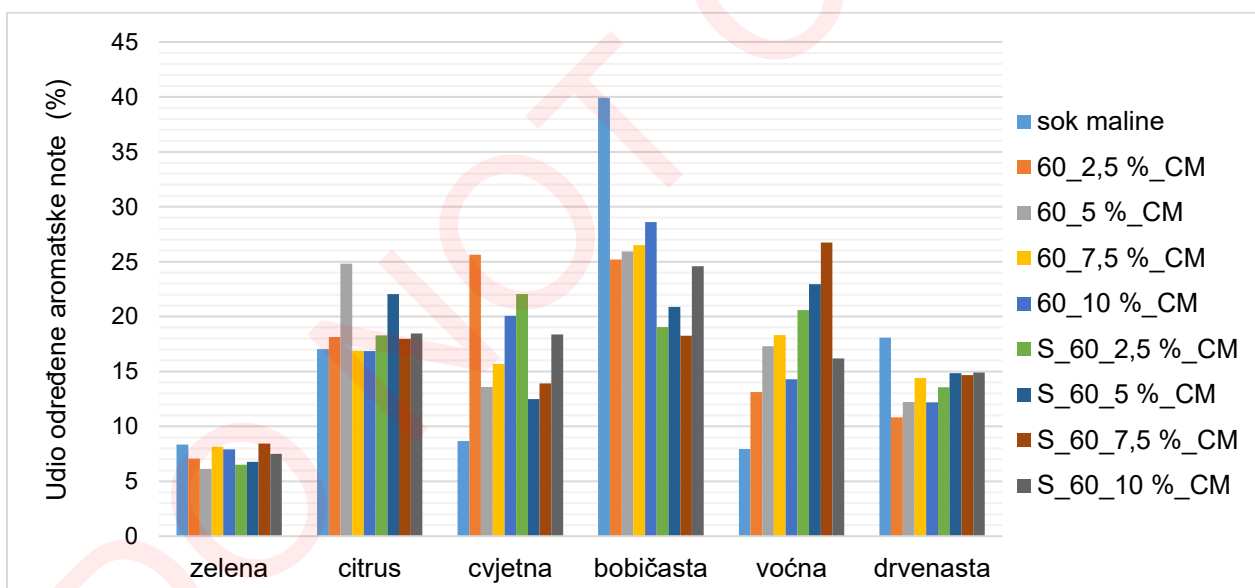
Hlapljive komponente	2,5 % CM		5 % CM		7,5 % CM		10% CM	
	15	60	15	60	15	60	15	60
Aldehidi i ketoni								
2-heksenal	-	-	-	-	-	-	-	-
benzaldehyd	4,45±0,03 ^e	4,77±0,47 ^d	6,33±0,01 ^a	5,22±0,07 ^c	5,08±0,11 ^{c,d}	4,89±0,20 ^d	5,48±0,09 ^b	4,69±0,17 ^d
oktanal	2,44±0,02 ^b	1,49±0,11 ^e	1,91±0,01 ^c	2,46±0,06 ^b	2,81±0,12 ^a	2,80±0,16 ^a	3,01±0,14 ^a	1,74±0,01 ^d
nonanal	7,00±0,05 ^f	6,37±0,35 ^g	13,94±0,08 ^a	8,60±0,25 ^d	8,05±0,17 ^e	9,73±0,33 ^c	12,57±0,24 ^b	9,11±0,42 ^{d,c}
2-nonenal	0,94±0,00 ^c	0,53±0,05 ^e	1,94±0,00 ^a	0,91±0,02 ^c	1,26±0,04 ^b	0,81±0,00 ^d	0,99±0,01 ^c	0,95±0,08 ^c
dekanal	7,00±0,01 ^d	20,85±0,66 ^a	13,78±1,42 ^b	4,41±0,17 ^e	20,93±0,99 ^a	4,10±0,24 ^e	20,65±0,75 ^a	7,61±0,21 ^c
etil benzaldehyd	0,99±0,00 ^d	2,28±0,20 ^a	1,73±0,01 ^b	0,92±0,08 ^d	2,52±0,02 ^a	1,07±0,12 ^d	2,57±0,12 ^a	1,30±0,01 ^c
4-propil benzaldehyd	6,72±0,04 ^e	10,23±0,01 ^d	11,82±0,37 ^c	12,45±0,15 ^b	10,68±0,21 ^d	13,66±1,23 ^b	11,68±0,26 ^c	15,39±0,43 ^a
lilial	-	2,14±0,09 ^d	-	2,64±0,16 ^c	-	3,11±0,06 ^b	-	3,35±0,04 ^a

heksil cinamaldehyd	1,18±0,01 ^e	1,60±0,22 ^{c,d}	1,38±0,09 ^d	1,37±0,04 ^d	1,73±0,06 ^c	2,13±0,19 ^b	2,30±0,08 ^b	2,57±0,03 ^a
1-feniletanon	1,10±0,03	0,00±0,00		0,00±0,00				0,00±0,00
geranil aceton	4,43±0,20 ^d	5,14±0,67 ^c	5,57±0,03 ^c	3,22±0,16 ^e	4,81±0,09 ^d	5,49±0,04 ^c	7,49±0,30 ^a	6,22±0,14 ^b
benzofenon	1,10±0,04 ^c	1,45±0,06 ^b	1,45±0,08 ^c	1,32±0,03 ^b	1,79±0,01 ^b	2,63±0,34 ^a	2,55±0,05 ^a	2,30±0,10 ^a
Esteri								
metil dihidrojasmonat	1,44±0,13 ^g	2,48±0,00 ^d	2,08±0,05 ^e	2,37±0,02 ^f	1,84±0,14 ^f	3,01±0,03 ^b	4,83±0,09 ^a	2,71±0,03 ^c
heksil salicilat	2,52±0,05 ^c	2,51±0,16 ^c	2,45±0,01 ^c	2,32±0,14 ^c	1,99±0,01 ^d	2,70±0,24 ^b	3,80±0,16 ^s	2,83±0,11 ^b
Kiseline								
etil heksanska kiselina	1,10±0,02 ^b	-	0,59±0,00 ^c	-	1,57±0,11 ^a	-	1,15±0,07 ^b	-
nonanska kiselina	1,19±0,10 ^e	1,52±0,09 ^c	1,66±0,04 ^c	6,03±0,07 ^a	1,02±0,03 ^e	1,79±0,21 ^c	2,45±0,15 ^b	1,34±0,07 ^d
Alkoholi								
2-etil heksanol	21,48±0,46 ^e	19,40±0,64 ^f	30,78±0,04 ^b	20,69±0,51 ^{e,f}	32,06±0,18 ^a	23,92±0,42 ^d	26,00±0,48 ^c	17,27±0,14 ^g
dekanol	1,18±0,01 ^f	1,45±0,05 ^d	1,48±0,03 ^d	1,18±0,25 ^{d,f}	1,73±0,02 ^c	1,27±0,20 ^{d,f}	2,36±0,06 ^s	1,94±0,08 ^b
Fenoli								
gvajakol	2,29±0,02 ^e	2,40±0,08 ^d	2,19±0,00 ^f	2,89±0,19 ^c	3,53±0,01 ^b	3,83±0,12 ^a	3,72±0,06 ^a	2,56±0,11 ^{c,d}
Terpeni								
linalol	20,75±0,38 ^d	24,59±0,41 ^a	23,61±0,16 ^b	26,78±2,89 ^a	24,94±1,06 ^a	22,20±0,69 ^c	25,64±0,10 ^a	20,71±2,30 ^b
limonen	1,36±0,00 ^d	1,57±0,07 ^c	1,50±0,04 ^c	2,63±0,07 ^b	2,65±0,13 ^b	1,17±0,22 ^{d,e}	3,80±0,05 ^a	0,96±0,01 ^e
linalol oksid	1,26±0,01 ^d	0,99±0,05 ^e	2,09±0,04 ^a	1,43±0,05 ^c	1,84±0,02 ^b	1,55±0,07 ^c	1,29±0,06 ^d	1,53±0,07 ^c
α-terpinolen	0,64±0,01 ^{a,b}	0,73±0,07 ^a	0,77±0,00 ^a	0,75±0,04 ^a	0,57±0,03 ^b	0,67±0,02 ^{a,b}	0,71±0,00 ^a	0,62±0,03 ^c
mentol	2,84±0,14 ^e	5,31±0,45 ^b	2,87±0,09 ^e	3,95±0,01 ^c	2,25±0,00 ^f	7,64±0,39 ^a	3,20±0,12 ^d	5,44±0,35 ^b
α-terpineol	15,67±0,65 ^c	16,98±1,30 ^{b,c}	17,32±0,42 ^c	19,99±0,39 ^a	18,32±0,11 ^b	20,36±0,82 ^a	20,02±0,53 ^a	18,38±0,02 ^b
mirtenol	1,44±0,02 ^c	2,05±0,24 ^{a,b}	1,42±0,04 ^c	2,29±0,24 ^a	1,38±0,08 ^c	2,05±0,15 ^{a,b}	1,97±0,07 ^b	2,04±0,00 ^{a,b}
nerol	0,85±0,00 ^d	0,91±0,11 ^{c,d}	1,55±0,03 ^a	0,91±0,12 ^{c,d}	0,97±0,00 ^c	0,94±0,05 ^c	1,18±0,08 ^b	1,22±0,08 ^b
geraniol	2,64±0,08 ^e	3,05±0,06 ^d	3,35±0,10 ^c	3,14±0,24 ^{c,d}	3,73±0,03 ^c	2,07±0,19 ^f	4,21±0,13 ^a	2,65±0,03 ^e
α-cedrol	2,21±0,10 ^c	3,15±0,28 ^b	1,94±0,08 ^d	1,48±0,05 ^f	2,18±0,08 ^c	1,77±0,20 ^e	4,01±0,16 ^a	3,01±0,21 ^b
α-jonol	8,96±0,11 ^c	5,87±4,68 ^d	11,81±0,43 ^b	12,29±1,53 ^b	11,64±0,07 ^b	14,94±0,78 ^a	14,92±0,48 ^a	15,62±1,10 ^a
α-jonon	8,38±0,11 ^c	9,51±0,63 ^b	7,70±0,04 ^d	9,58±0,40 ^b	6,34±0,10 ^f	6,89±0,10 ^e	13,38±0,88 ^a	9,94±0,47 ^b
β-damascenon	1,13±0,04 ^d	1,55±0,01 ^a	1,19±0,05 ^d	1,09±0,12 ^d	1,12±0,04 ^d	1,17±0,04 ^d	1,43±0,04 ^b	1,27±0,05 ^c
dihidro-β-jonon	4,85±0,00 ^c	6,95±0,48 ^a	3,50±0,09 ^e	2,95±0,18 ^b	3,94±0,11 ^d	3,04±0,04 ^f	6,15±0,05 ^b	4,75±0,20 ^c
dihidro-β-jonol	1,72±0,01 ^e	2,63±0,16 ^b	2,04±0,04 ^d	2,16±0,00 ^c	2,98±0,08 ^a	2,27±0,06 ^c	3,09±0,24 ^a	2,88±0,15 ^{a,b}
β-jonon	8,42±0,11 ^d	12,51±0,65 ^b	6,63±0,07 ^e	12,06±0,96 ^b	6,80±0,01 ^e	9,75±0,64 ^c	14,59±0,79 ^a	12,28±0,94 ^b

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: a > b > c > d > e > f > g.

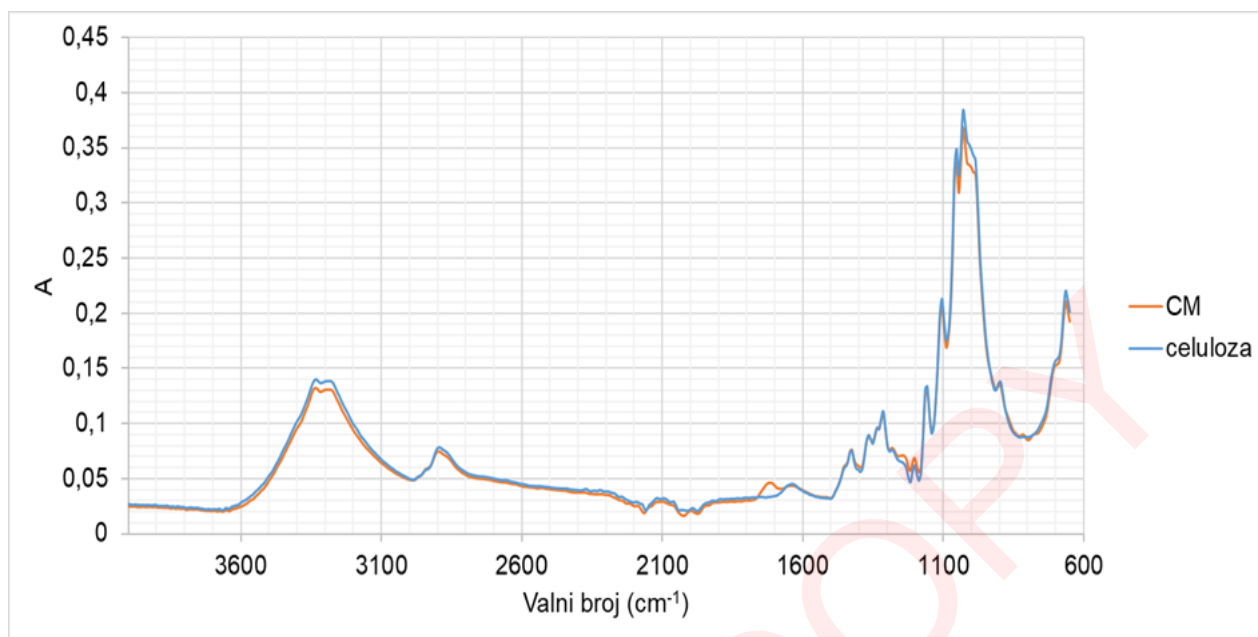


Slika 23 Udio određene aromatske note u sveukupnom aromatskom profilu soka maline i kompleksa celuloza/malina (CM) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja od 12 mjeseci (2,5 % - 10 % - udio celuloze; S - skladišteni uzorci)

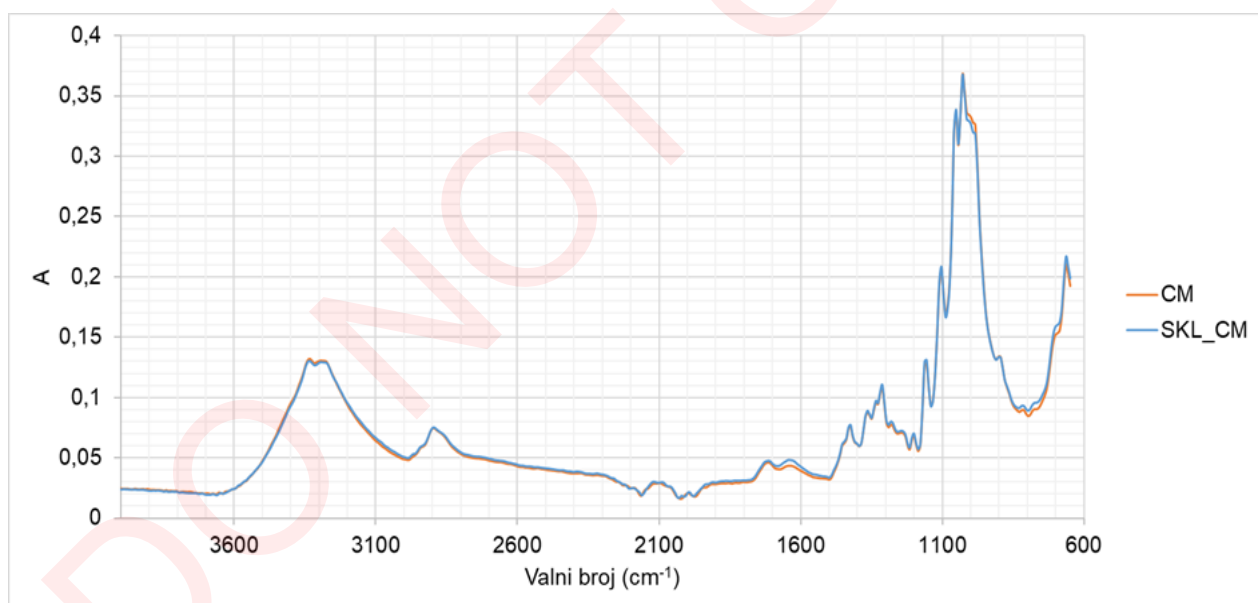


Slika 24 Udio određene aromatske note u sveukupnom aromatskom profilu soka maline i kompleksa celuloza/malina (CM) ovisno o vremenu kompleksiranja od 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja od 12 mjeseci (2,5 % - 10 % - udio celuloze; S - skladišteni uzorci)

4.1.7. FTIR-ATR kompleksa celuloza/malina



Slika 25 FTIR spektar čiste celuloze i kompleksa celuloza/sok maline (CM) koji definira razlike nastale u strukturi celuloze nakon kompleksiranja celuloze sa sokom od maline



Slika 26 FTIR spektar kompleksa celuloza/malina (CM) nakon pripreme i nakon skladištenja (SKL_CM)

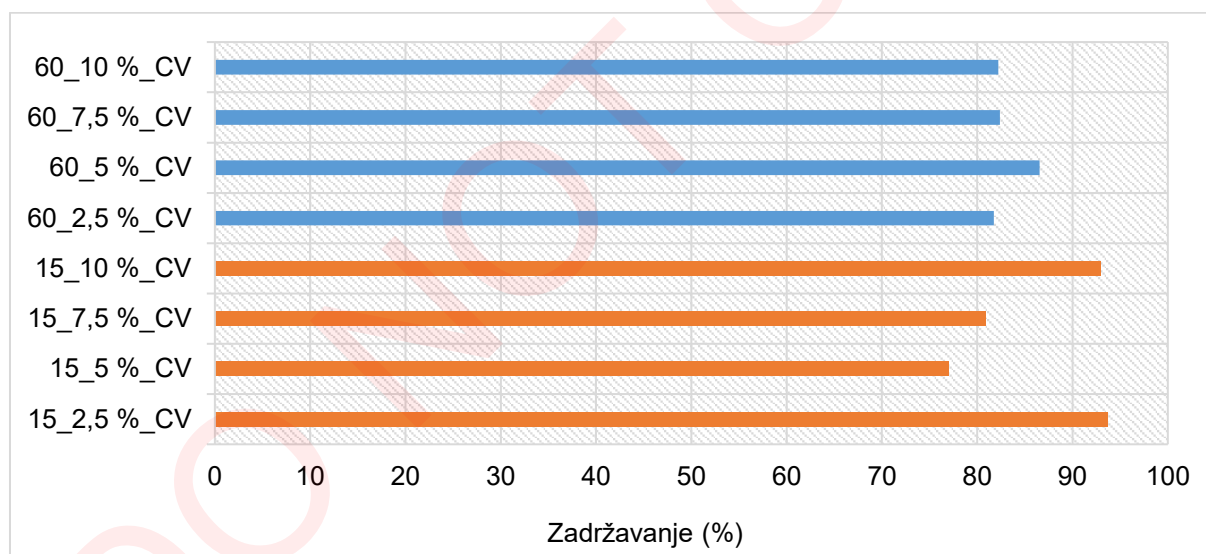
4.2. BIOAKTIVNI DODATCI HRANI NA BAZI CELULOZE I SOKA VIŠNJE

4.2.1. Udio fenola, antocijana i proantocijanidina u kompleksima celuloza/višnja

Tablica 19 Udio ukupnih fenola (g/kg) u kompleksima celuloza/višnja (CV) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja

Uzorci	Vrijeme kompleksiranja (minuta)	
	15	60
Nakon pripreme		
2,5 % CV	4,26±0,15 ^a	3,94±0,33 ^a
5 % CV	4,04±0,04 ^{a,b}	3,79±0,34 ^a
7,5 % CV	3,93±0,10 ^b	3,46±0,12 ^{a,b}
10 % CV	3,14±0,05 ^c	3,26±0,13 ^b
Nakon 12 mjeseci skladištenja		
2,5 % CV	3,99±0,05 ^b	3,22±0,07 ^b
5 % CV	3,11±0,12 ^c	3,28±0,06 ^b
7,5 % CV	3,18±0,13 ^c	2,85±0,02 ^c
10 % CV	2,92±0,03 ^c	2,68±0,05 ^d

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa.

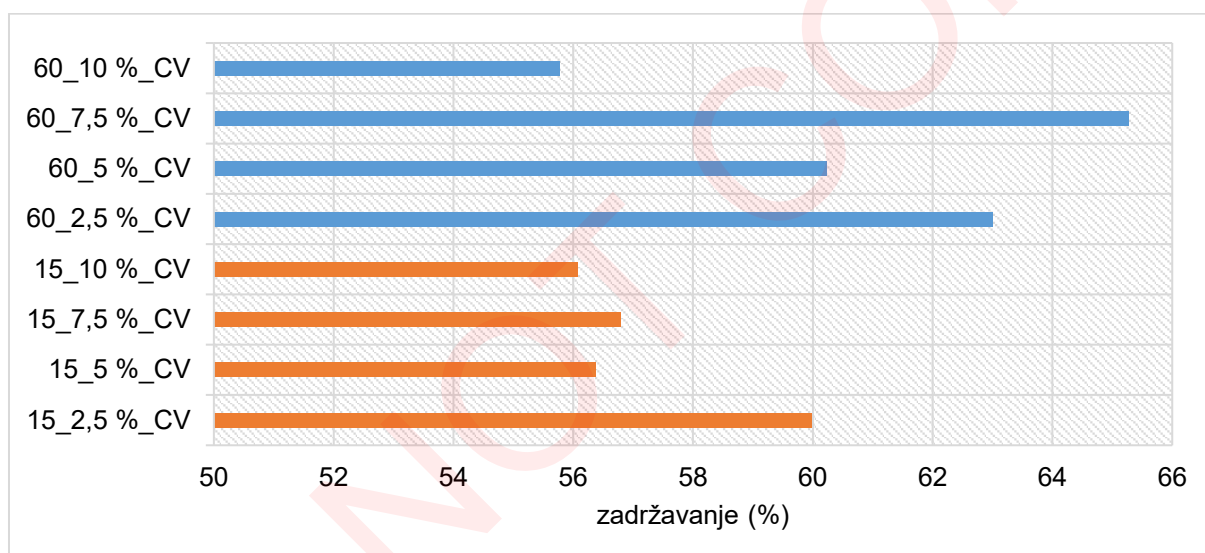


Slika 27 Postotak zadržavanja ukupnih fenola u kompleksima celuloza/višnja (15 minuta i 60 minuta) nakon skladištenja (CV - celuloza/višnja kompleks; 2,5 % - 10 % - udio celuloze)

Tablica 20 Udio antocijana (mg/kg) u kompleksima celuloza/višnja (CV) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja

Uzorci	Vrijeme kompleksiranja (minuta)	
	15	60
Nakon pripreme		
2,5 % CV	354,25±1,21 ^a	301,12±2,74 ^a
5 % CV	321,21±2,41 ^b	281,32±1,87 ^b
7,5 % CV	308,21±2,47 ^c	242,32±1,54 ^c
10 % CV	294,25±1,42 ^d	228,21±1,11 ^d
Nakon 12 mjeseci skladištenja		
2,5 % CV	212,49±1,21 ^e	189,7±1,54 ^e
5 % CV	181,07±1,36 ^f	169,43±1,45 ^f
7,5 % CV	175,05±1,50 ^g	158,18±1,36 ^g
10 % CV	164,98±0,98 ^h	127,29±2,21 ^h

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa.

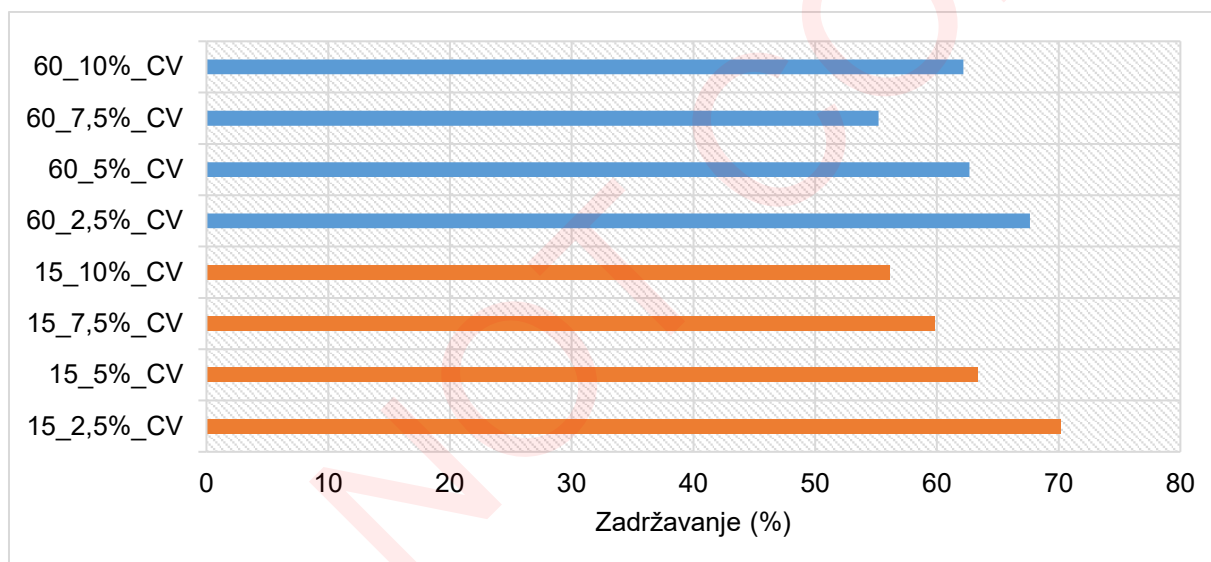


Slika 28 Postotak zadržavanja ukupnih antocijana u kompleksima celuloza/višnja (15 minuta i 60 minuta) nakon skladištenja (CV - celuloza/višnja kompleks; 2,5 % - 10 % - udio celuloze)

Tablica 21 Udio proantocijanidina (mg/kg) u kompleksima celuloza/višnja (CV) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja

Uzorci	Vrijeme kompleksiranja (minuta)	
	15	60
Nakon pripreme		
2,5%_CV	681,84±1,56 ^a	642,21±7,05 ^a
5 %_CV	567,51±4,63 ^b	528,52±2,92 ^b
7,5 %_CV	448,91±2,46 ^d	414,67±2,96 ^d
10 %_CV	358,45±0,51 ^e	306,29±3,31 ^f
Nakon 12 mjeseci skladištenja		
2,5 %_CV	478,34±1,75 ^c	434,39±2,44 ^c
5 %_CV	359,67±1,82 ^e	331,19±1,29 ^e
7,5 %_CV	268,59±2,25 ^f	228,94±1,28 ^g
10 %_CV	201,23±0,45 ^g	190,43±1,14 ^h

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa.



Slika 29 Postotak zadržavanja ukupnih proantocijanidina u kompleksima celuloza/višnja višnja (15 minuta i 60 minuta) nakon skladištenja (CV - celuloza/višnja kompleks; 2,5 % - 10 % - udio celuloze)

4.2.3. Udio pojedinačnih fenola u kompleksima celuloza/višnje (HPLC)

Tablica 22 Koncentracija polifenola ($\mu\text{g/g}$) u kompleksima celuloza/višnja (CV) pripremljeni kompleksiranjem od 15 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja

Fenolni spojevi	2,5 %_CV	5 %_CV	7,5 %_CV	10 %_CV
	15 minuta			
	Nakon pripreme			
Cijanidin-3-glukozil-rutinozid*	76,01 \pm 1,03 ^a	65,94 \pm 3,17 ^b	65,00 \pm 0,97 ^b	57,37 \pm 1,23 ^c
Cijanidin-3-rutinozid	185,89 \pm 1,78 ^a	171,73 \pm 3,71 ^b	156,82 \pm 0,68 ^c	147,06 \pm 1,41 ^d
Neoklorogenska kiselina	87,03 \pm 0,59 ^a	84,54 \pm 1,56 ^b	76,70 \pm 0,56 ^c	74,09 \pm 0,54 ^d
Klorogenska kiselina	151,71 \pm 0,64 ^a	141,99 \pm 2,55 ^b	126,65 \pm 2,89 ^c	127,00 \pm 0,17 ^c
Rutin	54,49 \pm 0,68 ^a	52,17 \pm 1,18 ^a	48,45 \pm 0,27 ^b	46,01 \pm 0,24 ^c
Kvercetin	19,92 \pm 0,26 ^a	19,43 \pm 0,53 ^a	18,47 \pm 0,11 ^b	18,56 \pm 0,19 ^b
Kempferol	9,40 \pm 0,12	8,94 \pm 0,15	8,50 \pm 0,07	8,47 \pm 0,01
	Nakon skladištenja			
Cijanidin3-glukozil-rutinozid*	32,31 \pm 0,06 ^a	27,14 \pm 0,97 ^b	24,32 \pm 0,09 ^c	21,28 \pm 0,70 ^d
Cijanidin3-rutinozid	87,83 \pm 0,13 ^a	70,39 \pm 0,36 ^b	64,34 \pm 1,03 ^c	53,88 \pm 0,11 ^d
Neoklorogenska kiselina	76,00 \pm 0,48	72,50 \pm 0,74	65,11 \pm 1,87	58,73 \pm 0,43
Klorogenska kiselina	136,14 \pm 1,19	133,46 \pm 1,49	116,76 \pm 0,67	103,45 \pm 2,77
Rutin	49,18 \pm 0,81 ^a	45,41 \pm 0,07 ^b	41,95 \pm 0,69 ^c	39,30 \pm 0,03 ^d
Kvercetin	22,19 \pm 0,12 ^a	21,60 \pm 0,14 ^b	19,99 \pm 0,29 ^c	20,01 \pm 0,11 ^c
Kempferol	9,69 \pm 0,04 ^a	9,22 \pm 0,02 ^b	8,56 \pm 0,15 ^c	8,36 \pm 0,02 ^c

*kvantificirano pomoću kalibracijskih krivulja cijanidin-3-rutinozida. Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: a > b > c > d; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa.

Tablica 23 Koncentracija polifenola ($\mu\text{g/g}$) u kompleksima celuloza/višnja (CV) pripremljeni kompleksiranjem od 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja

Fenolni spojevi	2,5 %_CV	5 %_CV	7,5 %_CV	10 %_CV
	60 minuta			
	Nakon pripreme			
Cijanidin3-glukozil-rutinozid*	53,80 \pm 1,12 ^a	49,95 \pm 0,39 ^b	44,11 \pm 0,48 ^c	50,77 \pm 0,86 ^b
Cijanidin3-rutinozid	135,66 \pm 4,34 ^a	133,58 \pm 1,86 ^a	110,48 \pm 0,66 ^c	117,26 \pm 0,46 ^b
Neoklorogenska kiselina	73,64 \pm 1,73 ^a	73,27 \pm 0,32 ^a	64,95 \pm 0,73 ^b	64,06 \pm 0,18 ^b
Klorogenska kiselina	127,21 \pm 2,02 ^a	125,21 \pm 1,87 ^a	113,68 \pm 0,57 ^b	111,99 \pm 1,59 ^b
Rutin	43,63 \pm 0,52 ^a	42,56 \pm 0,26 ^a	40,08 \pm 0,00 ^b	38,48 \pm 0,37 ^c
Kvercetin	23,21 \pm 0,45 ^a	23,16 \pm 0,13 ^a	20,98 \pm 0,06 ^b	21,34 \pm 0,09 ^b
Kempferol	9,79 \pm 0,26 ^a	9,75 \pm 0,03 ^a	8,96 \pm 0,07 ^b	8,98 \pm 0,03 ^b
	Nakon skladištenja			
Cijanidin3-glukozil-rutinozid*	23,02 \pm 0,63 ^a	21,97 \pm 1,36 ^{a,b}	21,45 \pm 0,26 ^b	20,79 \pm 0,06 ^c
Cijanidin3-rutinozid	55,02 \pm 0,32 ^a	49,67 \pm 1,13 ^b	49,00 \pm 0,10 ^b	46,32 \pm 1,99 ^c
Neoklorogenska kiselina	62,44 \pm 0,33 ^a	58,18 \pm 1,38 ^b	56,37 \pm 0,44 ^b	53,45 \pm 1,43 ^c
Klorogenska kiselina	106,93 \pm 2,23 ^b	113,43 \pm 0,86 ^a	104,63 \pm 2,51 ^b	96,39 \pm 0,45 ^c
Rutin	40,90 \pm 0,27 ^a	37,85 \pm 0,48 ^b	37,24 \pm 0,14 ^b	35,88 \pm 0,64 ^c
Kvercetin	24,49 \pm 0,08 ^a	24,49 \pm 0,14 ^a	23,18 \pm 0,13 ^b	22,34 \pm 0,01 ^c
Kempferol	9,40 \pm 0,02 ^a	9,51 \pm 0,12 ^a	9,11 \pm 0,07 ^b	8,86 \pm 0,17 ^c

*kvantificirano pomoću kalibracijskih krivulja cijanidin-3-rutinozida. Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: a > b > c > d; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa.

4.2.4. Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/višnja

Tablica 24 Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/višnja (CV) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja određena DPPH metodom

Uzorci	DPPH	
	15 minuta	60 minuta
	Nakon pripreme	
2,5 %_CV	26,98±0,22 ^a	30,24±0,18 ^a
5 %_CV	25,51±0,29 ^b	28,85±0,30 ^b
7,5 %_CV	25,16±0,36 ^{b,c}	28,63±0,94 ^b
10 %_CV	25,72±0,33 ^b	27,92±0,36 ^b
	Nakon skladištenja	
2,5 %_CV	24,78±0,48 ^{c,d}	24,77±0,59 ^c
5 %_CV	24,64±0,17 ^{c,d}	24,99±0,47 ^c
7,5 %_CV	24,12±0,30 ^d	24,49±0,23 ^c
10 %_CV	23,48±0,77 ^e	24,21±0,97 ^c

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa

Tablica 25 Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/višnja (CV) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 min nakon pripreme i nakon skladištenja određena ABTS metodom

Uzorci	ABTS	
	15 minuta	60 minuta
	Nakon pripreme	
2,5 %_CV	18,98±0,29 ^a	17,88±0,12 ^a
5 %_CV	16,78±0,31 ^b	17,63±0,31 ^a
7,5 %_CV	15,74±0,30 ^c	14,95±0,20 ^b
10 %_CV	13,85±0,13 ^d	14,77±0,16 ^b
	Nakon skladištenja	
2,5 %_CV	15,41±0,24 ^c	12,58±0,35 ^c
5 %_CV	13,21±0,23 ^d	12,09±0,32 ^c
7,5 %_CV	12,12±0,08 ^e	11,04±0,19 ^d
10 %_CV	11,43±0,36 ^f	10,30±0,63 ^d

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa

Tablica 26 Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/višnja (CV) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja određena FRAP metodom

Uzorci	FRAP	
	15 minuta	60 minuta
	Nakon pripreme	
2,5 % CV	3,04±0,05 ^a	2,70±0,11 ^a
5 % CV	2,75±0,13 ^b	2,69±0,09 ^a
7,5 % CV	2,69±0,11 ^b	2,28±0,06 ^b
10 % CV	2,33±0,15 ^c	2,23±0,11 ^b
	Nakon skladištenja	
2,5 % CV	2,31±0,07 ^c	2,27±0,06 ^b
5 % CV	1,98±0,17 ^d	1,94±0,23 ^c
7,5 % CV	1,67±0,06 ^d	1,68±0,04 ^c
10 % CV	1,63±0,10 ^d	1,56±0,18 ^c

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa

Tablica 27 Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/višnja (CV) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 odnosno 60 min nakon pripreme i nakon skladištenja određena CUPRAC metodom

Uzorci	CUPRAC	
	15 minuta	60 minuta
	Nakon pripreme	
2,5 % CV	167,58±2,01 ^a	151,63±1,24 ^a
5 % CV	151,90±2,35 ^b	142,35±4,35 ^b
7,5 % CV	138,97±1,57 ^c	131,26±4,51 ^c
10 % CV	125,69±0,23 ^d	128,70±2,20 ^c
	Nakon skladištenja	
2,5 % CV	138,41±0,12 ^c	128,85±0,05 ^c
5 % CV	122,26±0,31 ^e	126,31±5,04 ^c
7,5 % CV	113,30±1,97 ^f	107,49±1,43 ^d
10 % CV	104,73±2,44 ^g	101,16±0,08 ^d

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa

4.2.5. Boja kompleksa celuloza/višnja

Tablica 28 Parametri boje kompleksa celuloza/višnja (CV) nakon pripreme

Udio celuloze	L*	a*	b*	°h	C*
100 %_CV	93,40±0,00	0,42±0,02	6,65±0,01	86,34±0,11	6,66±0,01
15 minuta kompleksiranja					
2,5 %_CV	66,98±0,03 ^f	29,10±0,07 ^a	2,36±0,06 ^c	4,63±0,12 ^e	29,16±0,07 ^a
5 %_CV	68,16±0,01 ^e	28,59±0,03 ^b	2,04±0,02 ^e	4,08±0,04 ^f	28,66±0,03 ^b
7,5 %_CV	68,40±0,02 ^d	28,30±0,05 ^c	1,63±0,04 ^f	3,31±0,08 ^g	28,34±0,04 ^c
10 %_CV	70,64±0,02 ^b	27,00±0,03 ^e	1,39±0,03 ^g	2,94±0,07 ^g	27,04±0,03 ^e
60 minuta kompleksiranja					
2,5 %_CV	68,14±0,01 ^e	27,38±0,03 ^d	3,24±0,02 ^a	6,75±0,05 ^b	27,57±0,03 ^d
5 %_CV	68,89±0,01 ^d	26,53±0,03 ^f	3,29±0,01 ^a	7,08±0,04 ^a	26,73±0,03 ^f
7,5 %_CV	69,39±0,01 ^c	26,23±0,02 ^g	2,92±0,02 ^b	6,35±0,05 ^c	26,39±0,02 ^g
10 %_CV	71,85±0,01 ^a	25,30±0,00 ^h	2,13±0,02 ^d	4,81±0,03 ^d	25,39±0,01 ^h

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f > g > h$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa.

Tablica 29 Parametri boje kompleksa celuloza/višnja (CV) nakon skladištenja

Udio celuloze	L*	a*	b*	°h	C*
100 %	93,40±0,0	0,42±0,02	6,65±0,01	86,34±0,11	6,66±0,01
15 min kompleksiranja					
2,5 %_CV	69,75±0,02 ^h	19,21±0,02 ^a	9,67±0,01 ^c	26,72±0,03 ^e	21,50±0,02 ^a
5 %_CV	71,80±0,05 ^f	17,83±0,04 ^b	9,42±0,01 ^d	27,85±0,08 ^d	20,17±0,03 ^c
7,5 %_CV	73,16±0,01 ^d	17,76±0,04 ^b	8,42±0,03 ^f	25,37±0,13 ^f	19,66±0,03 ^d
10 %_CV	73,58±0,02 ^b	16,77±0,03 ^d	8,99±0,03 ^e	28,18±0,11 ^d	19,02±0,02 ^f
60 min kompleksiranja					
2,5 %_CV	70,96±0,01 ^g	17,28±0,03 ^c	10,77±0,01 ^a	31,94±0,07 ^c	20,36±0,02 ^b
5 %_CV	72,13±0,01 ^e	16,40±0,03 ^e	10,61±0,02 ^a	32,91±0,10 ^a	19,54±0,02 ^e
7,5 %_CV	73,46±0,01 ^c	15,96±0,02 ^f	10,20±0,01 ^b	32,59±0,06 ^b	18,94±0,01 ^f
10 %_CV	74,39±0,00 ^a	15,53±0,02 ^g	9,72±0,01 ^c	32,04±0,04 ^c	18,33±0,01 ^g

Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f > g > h$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa.

Tablica 30 Promjena boje kompleksa celuloza/višnja u odnosu na čistu celulozu ΔE i promjena boje uzoraka celuloza/višnja nakon skladištenja u odnosu na početne uzorke ΔE_1

Uzorci	ΔE	ΔE_1
15 minuta kompleksiranja		
2,5 %_CV	39,23	12,61
5 %_CV	38,10	13,55
7,5 %_CV	37,78	13,41
10 %_CV	35,38	13,08
60 minuta kompleksiranja		
2,5 %_CV	37,09	12,91
5 %_CV	35,96	12,91
7,5 %_CV	35,45	13,23
10 %_CV	33,22	12,63

CV – celuloza/višnja; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa.

4.2.6. Hlapljive komponente kompleksa celuloza/višnja

Tablica 31 Hlapljive komponente identificirane u soku višnje i kompleksima celuloza/višnja

Višnja sok	Kompleks celuloza/višnja	Vrijeme zadržavanja (minuta)	Indeks zadržavanja	Molekularna masa	log P (o/w) ¹	Tlak para (mm/Hg)	Opis arome
benzaldehyd	+	14,61	955,99	106,1	1,48	1,270	voćna
oktanal	+	18,0072	998	128,22	2,951	2,068	zelena
6-methyl-5-hepten-2-on	-	16,90	984,98	126,2	1,90	1,277	citrus
nonanal	+	23,98	1095,5	142,24	3,461	0,532	citrus
dekanal	+	29,38	1196,1	156,27	3,970	0,207	cvjetna
4-propilbenzaldehyd	+	32,34	1258,5	148,20	2,918	0,039	voćna
dodekanal	+	38,34	1396,8	184,32	4,989	0,034	citrus
geranilaceton	+	39,50	1444,7	194,32	4,129	0,016	cvjetna
lilial	+	41,05	1513,6	204,31	4,216	0,005	cvjetna
α-heksilcinamaldehyd	+	44,34	1735,7	216,32	4,866	0,001	cvjetna
2-ethyl-1-heksanol	+	19,8268	1029	130,231	2,82	0,207	voćna
benzil alkohol	-	19,81	1029	192,3	3,20	0,008	voćna
dekanol	+	32,7265	1266	158,28	4,570	0,0085	voćna
feniletil alkohol	-	24,35	1101,4	122,2	1,40	0,087	cvjetna
perila alkohol	+	33,72	1286	152,24	3,170	0,006	zelena
D-limonen	+	19,17	1017,7	136,2	4,57	0,198	citrus
linalol	+	23,74	1092,1	154,3	2,970	0,016	citrus
nerol	-	30,45	1218,6	154,25	3,47	0,013	cvjetna
geraniol	+	31,78	1246,9	154,25	3,56	0,021	cvjetna
eugenol	-	36,43	1350,7	164,20	2,27	0,010	cvjetna
α-jonol	+	37,27	1371,2	194,32	4,492	0,001	bobičasta
β-damascenone	+	37,48	1376,3	190,29	4,042	0,020	cvjetna
α-jonon	+	38,83	1415,6	192,30	3,995	0,014	bobičasta
β-jonon	+	40,29	1477,7	192,3	3,995	0,017	bobičasta

¹Log P-logaritam koeficijenta oktanol voda koji pokazuje relativnu hidrofobnost spoja; podaci su dobiveni s <http://www.thegoodscentscompany.com>, <http://www.chemicalbook.com>; *detektirani "+" i nedetektirani "-" hlapljivi spojevi u soku i kompleksima celuloza/višnja

Tablica 32 Hlapljivi spojevi ($\mu\text{g}/\text{kg}$) soka višnje i kompleksa celuloze/višnja (CV) nakon 15 minuta i 60 minuta kompleksiranja nakon pripreme

Hlapljive komponente	Sok višnje	2,5 %_CV		5 %_CV		7,5 %_CV		10 %_CV	
		15	60	15	60	15	60	15	60
Vrijeme kompleksiranja	-	15	60	15	60	15	60	15	60
Aldehidi i ketoni									
benzaldehyd	216,20±2,53 ^a	46,42±4,48 ^c	39,47±3,04 ^{d,e}	43,66±2,52 ^{c,d}	32,96±3,10 ^e	69,55±2,48 ^a	54,93±1,71 ^g	53,15±3,82 ^b	47,49±1,87 ^f
oktanal	6,78±0,21	4,61±0,27 ^{b,c}	4,14±0,22 ^{c,d}	4,90±0,28 ^b	3,49±0,25 ^d	2,38±0,02 ^a	2,17±0,21 ^d	2,40±0,57 ^d	2,11±0,11 ^e
6-metil-5-hepten-2-on	7,60±0,27	-	-	-	-	-	-	-	-
nonanal	24,77±0,23 ^{a,b}	15,78±1,61 ^a	8,81±0,08 ^d	15,83±0,62 ^a	8,79±0,44 ^c	15,74±0,13 ^a	8,75±0,88 ^d	13,02±1,01 ^b	7,18±0,72 ^c
dekanal	13,87±0,43 ^c	8,64±0,59 ^{d,e}	8,15±0,71 ^{d,e}	8,72±1,87 ^b	9,52±0,28 ^d	9,98±1,10 ^a	8,07±0,02 ^e	8,71±0,00 ^d	7,55±0,02 ^f
4-propilbenzaldehyd	5,96±0,30 ^f	7,58±0,58 ^d	8,30±0,75 ^c	8,48±0,52 ^d	8,64±0,43 ^d	7,09±1,29 ^a	7,51±0,35 ^e	7,67±1,23 ^b	7,37±0,56 ^d
dodekanal	4,01±0,04 ^e	5,24±0,63 ^d	5,34±0,60 ^d	6,05±0,35 ^b	6,55±0,66 ^c	5,86±0,47 ^a	5,31±0,24 ^d	5,94±0,72 ^b	5,61±0,66
geranilaceton	10,39±0,06 ^e	12,69±0,31 ^f	11,97±1,44 ^d	18,74±0,61 ^d	14,16±1,21 ^{d,e}	29,04±1,40 ^a	13,72±0,07 ^d	22,11±1,22 ^b	18,50±1,49 ^c
lilial	3,00±0,27 ^d	7,92±0,27 ^b	5,09±0,23 ^b	6,51±0,45 ^{a,b}	3,76±0,14	6,24±0,58 ^a	3,88±0,10 ^c	6,48±0,71 ^a	3,43±0,27 ^{c,d}
α -heksilcinamaldehyd	4,88±0,46 ^a	2,63±0,20 ^c	2,81±0,06 ^c	3,82±0,39 ^b	3,93±0,21	4,22±0,19 ^{a,b}	4,93±0,29 ^c	4,31±0,31	4,89±0,25
Alkoholi									
2-etil-1-heksanol	-	25,26±2,53 ^b	24,48±0,44 ^b	19,63±0,98 ^d	30,35±0,63 ^a	21,43±0,25 ^c	23,81±1,66 ^{b,c}	10,61±1,07 ^e	11,26±0,90 ^e
benzil alkohol	48,55±0,78 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-
dekanol	-	4,49±0,05 ^e	4,59±0,50 ^{d,e}	6,76±0,44 ^c	7,16±0,61 ^{b,c}	8,61±0,20 ^a	5,57±0,37 ^d	7,97±0,45 ^{a,b}	5,24±0,23 ^d
feniletil alkohol	10,91±0,35 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-
perila alkohol	8,13±0,25 ^a	5,42±0,49 ^c	5,81±0,15 ^c	7,40±0,63 ^{a,b}	6,07±0,60 ^c	7,82±0,07	5,88±0,33 ^c	8,09±0,46 ^a	6,19±0,41 ^{b,c}
Terpeni									
D-limonen	45,05±0,64 ^g	36,67±3,69 ^d	33,89±3,62 ^b	36,72±6,59 ^b	32,00±0,94 ^c	19,72±5,52 ^a	14,93±0,95 ^f	16,22±0,32 ^e	13,24±0,83 ^f
linalol	64,19±4,12 ^a	9,18±0,91 ^f	11,81±0,83 ^d	12,80±0,17 ^c	11,17±0,31 ^e	13,37±0,53 ^c	12,11±1,58 ^b	12,18±0,18 ^d	13,36±0,37 ^c
nerol	3,89±0,14 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-
geraniol	14,10±0,09 ^a	1,49±0,24 ^e	1,45±0,21 ^e	2,08±0,01 ^d	2,10±0,29 ^d	2,76±0,01 ^b	2,55±0,26 ^{c,d}	2,91±0,16 ^c	2,49±0,18 ^{c,d}
eugenol	6,26±0,10 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-
α -jonol	39,84±0,57 ^a	3,43±0,14 ^d	1,76±0,06 ^b	3,70±0,42 ^c	2,15±0,19 ^c	3,13±0,32 ^a	2,16±0,34 ^c	3,40±0,30 ^b	2,31±0,21 ^c
β -damascenon	9,84±0,28 ^a	1,62±0,17 ^b	1,53±0,14 ^b	1,80±0,27 ^b	1,45±0,18 ^b	1,95±0,10 ^b	1,29±0,15 ^b	1,87±0,04 ^b	1,56±0,20 ^b
α -jonon	27,00±1,06 ^a	3,25±0,32	3,34±0,33	4,49±0,53	4,04±0,32	4,22±0,53	3,68±0,29	4,16±0,23	2,78±0,19
β -jonon	61,01±1,49 ^a	9,20±0,58 ^c	8,94±0,57 ^{c,d}	13,70±1,18 ^b	12,52±1,32 ^b	17,86±1,51 ^a	18,73±0,20 ^d	14,96±1,32 ^b	14,12±0,51 ^c

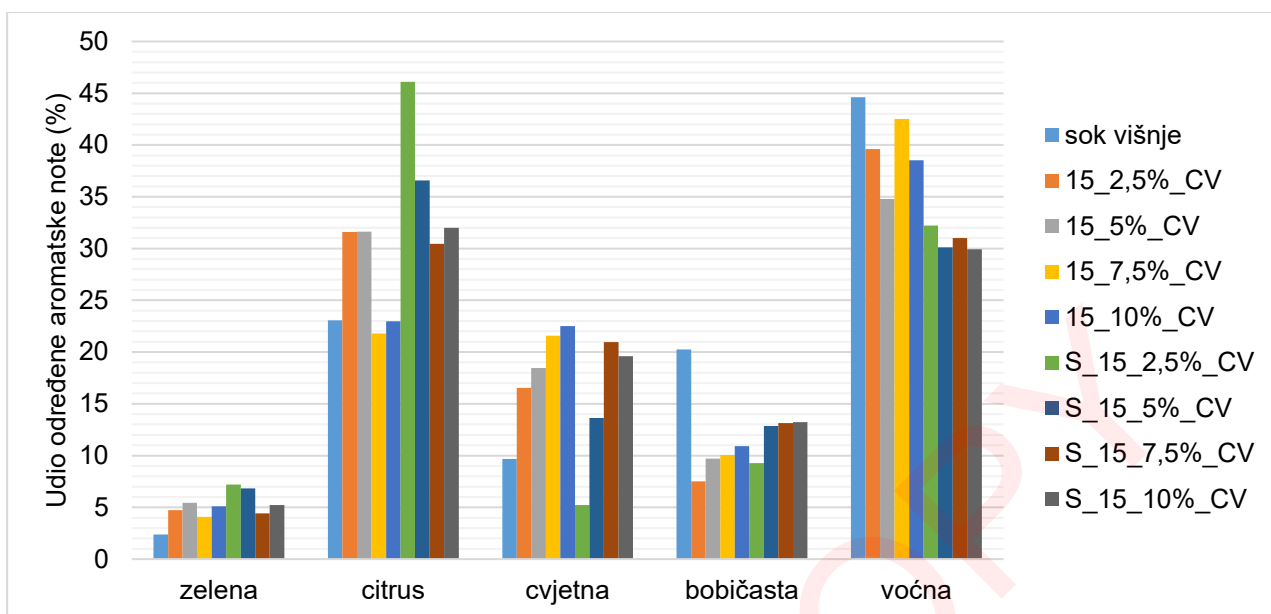
Vrijednosti u istom redu označene različitim slovima su statistički različite. Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa

Tablica 33 Hlapljivi spojevi ($\mu\text{g}/\text{kg}$) kompleksa celuloza/višnja (CV) nakon 15 minuta i 60 minuta kompleksiranja nakon skladištenja

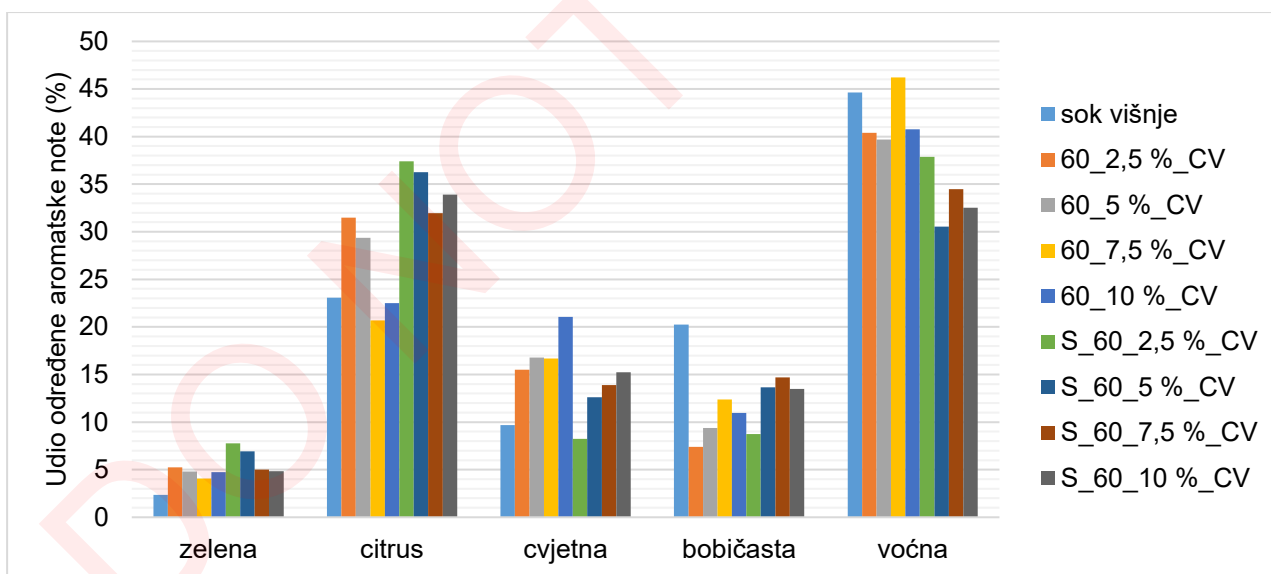
Hlapljive komponente	2,5 % CV		5 % CV		7,5 % CV		10 % CV	
	15	60	15	60	15	60	15	60
Aldehidi i ketoni								
benzaldehyd	2,84±0,12 ^d	2,33±0,17 ^e	2,41±0,16 ^e	2,65±0,13 ^d	8,34±0,75 ^b	7,52±0,23 ^c	9,74±0,85 ^{a,b}	10,93±0,07 ^a
oktanal	2,89±0,18 ^c	2,50±0,12 ^a	2,52±0,14 ^b	2,55±0,09	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
6-metil-5-hepten-2-one	-	-	-	-	-	-	-	-
nonanal	5,66±0,50 ^d	4,99±0,28 ^d	5,47±0,28 ^d	5,25±0,02 ^a	8,71±0,71 ^a	7,69±0,08 ^b	6,39±0,51 ^d	6,85±0,41 ^c
dekanal	-	-	-	-	-	-	-	-
4-propilbenzaldehyd	3,35±0,11 ^c	4,41±0,39 ^b	3,78±0,33 ^{b,c}	4,97±1,14 ^a	3,10±0,76 ^a	3,61±0,92 ^a	3,99±0,85 ^a	3,96±1,25 ^a
dodekanal	3,05±0,08 ^c	2,80±0,09 ^d	3,50±0,32 ^{b,c}	4,04±0,18 ^b	4,67±0,23 ^a	3,69±0,18 ^b	5,40±0,39 ^a	5,97±0,56 ^a
geranilaceton	3,66±0,15 ^d	5,17±0,40 ^c	11,60±0,51 ^c	10,56±0,54 ^a	22,15±0,70 ^b	11,42±0,80 ^b	16,68±1,11 ^b	12,09±0,67 ^a
lilial	-	-	-	-	-	-	-	-
α -heksilcinamaldehyd	-	-	-	-	-	-	-	-
Alkoholi								
2-etil-1-heksanol	20,75±1,52 ^{a,b}	20,00±0,20 ^b	19,48±0,64 ^a	18,83±0,95 ^a	17,98±2,19 ^{a,b}	16,96±0,58 ^c	8,69±0,29 ^c	8,84±0,42 ^c
benzil alkohol	-	-	-	-	-	-	-	-
dekanol	3,29±0,15 ^b	2,66±0,11 ^c	3,28±0,34 ^b	3,67±0,12 ^a	5,36±0,43 ^a	5,13±0,04 ^a	5,08±0,07 ^a	5,76±0,50 ^a
feniletil alkohol	-	-	-	-	-	-	-	-
perila alkohol	3,87±0,21 ^b	3,52±0,37 ^b	4,06±0,19 ^b	4,27±0,09 ^a	4,95±0,02 ^a	4,82±0,31 ^a	4,79±0,11	4,39±0,35 ^a
Terpeni								
D-limonen	26,62±2,00 ^b	13,61±2,12 ^a	18,46±0,84 ^c	17,84±0,82 ^c	12,11±1,48 ^{d,e}	9,50±0,52 ^e	8,73±0,59 ^c	7,33±0,21 ^d
linalol	7,94±0,44 ^c	7,63±0,79 ^c	7,73±0,03 ^d	8,63±0,05 ^a	8,67±0,76 ^{b,c}	9,88±0,15 ^b	8,89±0,70 ^{b,c}	10,60±1,03 ^b
nerol	-	-	-	-	-	-	-	-
geraniol	1,24±0,13 ^b	1,22±0,11 ^b	1,51±0,00 ^a	1,87±0,21 ^a	1,19±0,03 ^b	1,96±0,10 ^a	1,89±0,33 ^a	1,74±0,20
eugenol	-	-	-	-	-	-	-	-
α -jonol	1,41±0,08 ^{c,d}	1,34±0,04 ^d	1,51±0,08 ^c	1,86±0,07 ^a	1,37±0,25 ^a	1,58±0,05 ^c	1,32±0,04	1,65±0,16 ^{b,c}
β -damascenon	-	-	-	-	-	-	-	-
α -jonon	2,07±0,04 ^c	1,46±0,00 ^e	1,70±0,07 ^d	1,94±0,03 ^a	3,14±0,21 ^b	2,47±0,22 ^c	2,28±0,17 ^c	2,14±0,28 ^c
β -jonon	5,23±0,01 ^c	4,00±0,30 ^d	9,15±0,10 ^c	9,68±0,10 ^a	10,23±0,30 ^b	10,09±0,70 ^d	8,56±0,60 ^b	8,43±0,22

Vrijednosti u istom redu označene različitim slovima su statistički različite. Vrijednosti u istom stupcu označene različitim slovima nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$); Statistička razlika između rezultata prikazana je sljedećim rastućim redoslijedom: $a > b > c > d > e > f$; 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % - količine korištene celuloze za formulaciju CV kompleksa

DO NOT COPY

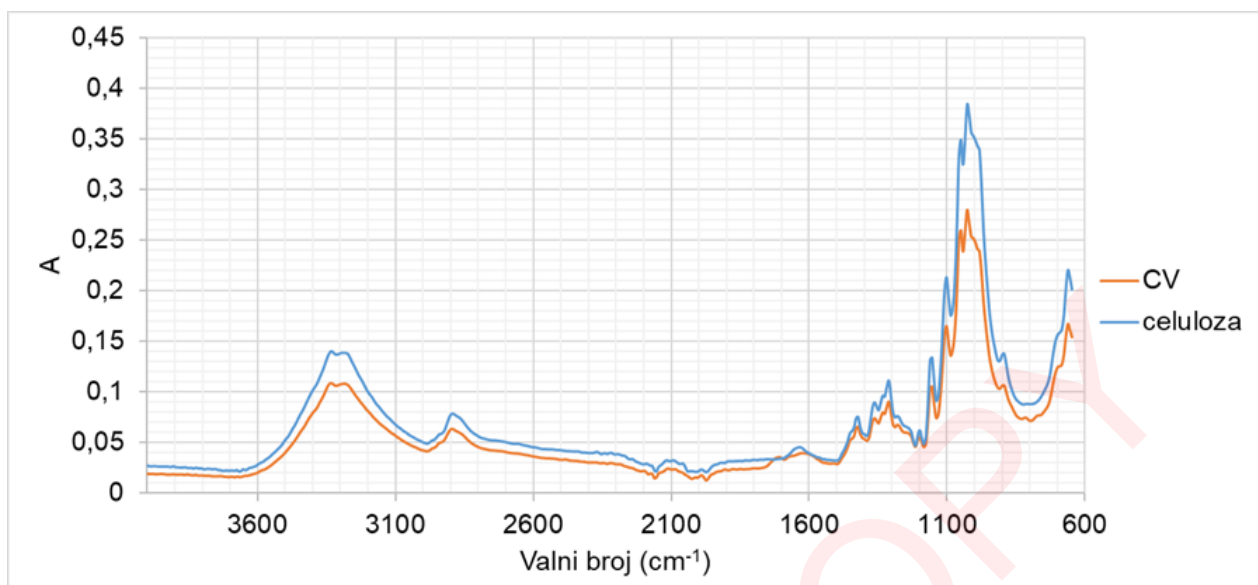


Slika 30 Udio određene aromatske note u sveukupnom aromatskom profilu soka višnje i kompleksa celuloza/višnja (CV) ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja od 12 mjeseci (2,5 % - 10% - udio celuloze; S - skladišteni uzorci)

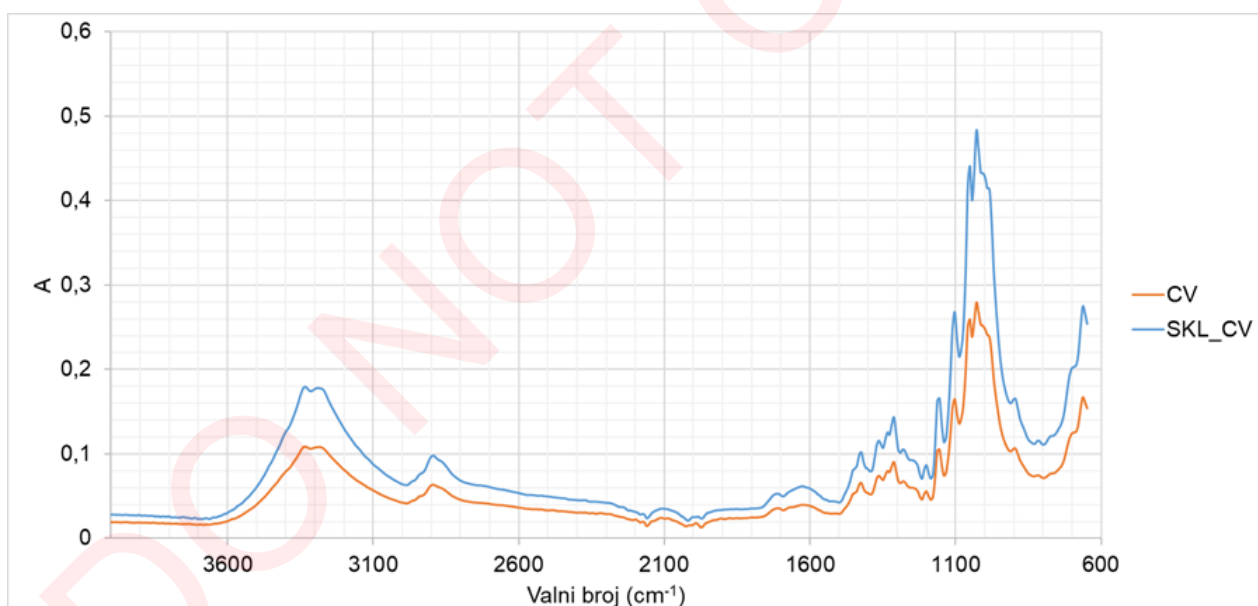


Slika 31 Udio određene aromatske note u sveukupnom aromatskom profilu soka višnje i kompleksa celuloza/višnja (CV) ovisno o vremenu kompleksiranja od 60 minuta nakon pripreme i nakon skladištenja od 12 mjeseci (2,5 % - 10% - udio celuloze; S - skladišteni uzorci)

4.2.7. FTIR-ATR analiza kompleksa celuloza/višnja



Slika 32 FTIR spektar čiste celuloze i kompleksa celuloza/sok višnje (CV) koji definira razlike nastale u strukturi celuloze nakon kompleksiranja celuloze sa sokom od višnje



Slika 33 FTIR spektar kompleksa celuloza/višnja (CV) i skladištenog kompleksa celuloza/višnja (SKL_CV)

DO NOT COPY

5. RASPRAVA

U ovom istraživanju pripremljeni su kompleksi celuloza/sok maline (CM) i celuloza/sok višnje (CV). Količina soka maline odnosno soka višnje tijekom kompleksiranja je bila konstantna, dok se je količina celuloze za pripremu kompleksa mijenjala te je iznosila 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 %. Cilj istraživanja bio je ispitati mogućnost primjene celuloze kao nositelja fenolnih i hlapljivih komponenti sokova maline i višnje. Spajanjem celuloze i fenola, biljnih komponenti s dokazanim pozitivnim utjecaj na zdravlje, kreirali bi se novi bioaktivni dodatci hrani. Dodatno, spajanjem celuloze i hlapljivih komponenti kreirali bi se dodatci hrani koji bi mogli poboljšati aromu već postojećih prehrambenih proizvoda. U ovom radu ispitivana je adsorpcija fenolnih komponenti, antocijana i proantocijanidina na celulozu, antioksidacijska aktivnost dobivenih kompleksa (CM i CV), promjena boje kompleksa, te adsorpcija hlapljivih komponenti na celulozu. Ujedno je i definirana promjena u strukturi kompleksa u odnosu na čistu celulozu kao posljedica adsorpcije komponenta odabranih sokova. Pripremljeni kompleksi skladišteni su 12 mjeseci pri sobnoj temperaturi te su analize provedene nakon skladištenja kako bi se utvrdila stabilnost kompleksa tijekom skladištenja.

5.1. UDIO FENOLA, ANTOCIJANA, PROANTOCIJANIDINA I POJEDINAČNIH FENOLA U KOMPLEKSIMA CELULOZA/MALINA I CELULOZA/VIŠNJA

Ukupni udio fenola i antocijana soka maline adsorbiranih na celulozu, nakon pripreme i nakon skladištenja prikazan je u **Tablicama 6 i 7**. Iz rezultata je vidljivo da su vrijeme kompleksiranja i udio korištene celuloze za formuliranje kompleksa imali utjecaj na istraživane parametre. U kompleksima celuloza/malina (CM) najveći udio adsorbiranih ukupnih fenola (**Tablica 6**) imao je kompleks 2,5 %_CM (2,43 g/kg) s vremenom kompleksiranja od 15 minuta. Povećanjem udjela celuloze od 2,5 % do 10 % utvrđeno je smanjenje adsorbiranih ukupnih fenola, te su kompleksi 10 %_CM formulirani 15 minuta odnosno 60 minuta imali najmanji udio adsorbiranih fenola (1,26 g/kg odnosno 1,16 g/kg). Kompleksi formulirani kraće vrijeme (15 minuta) imali su veći udio fenola u odnosu na komplekse formulirane duži period (60 minuta). Ovaj trend je utvrđen i u sadržaju antocijana (**Tablica 7**). Kompleks 2,5 %_CM s vremenom kompleksiranja od 15 minuta imao je najveću koncentraciju antocijana (429,40 mg/kg). Povećanjem udjela celuloze (od 2,5 % do 10 %) i dužim vremenom kompleksiranja (60 minuta) došlo je do postepenog smanjenja koncentracije antocijana u ispitivanim uzorcima. Uzorci s 10 % celuloze imali su najnižu koncentraciju antocijana (320,19 mg/kg pri kompleksiranju od 15 minuta i 274,10 mg/kg pri kompleksiranju od 60 minuta). U skladištenim uzorcima u razdoblju od 12 mjeseci zadržana je ista tendencija kao i nakon pripreme u pogledu ukupnih fenola i antocijana. Kompleksi s najmanjim udjelom celuloze imali su najveću količinu fenola odnosno antocijana. U uzorku 2,5 %_CM s vremenom kompleksiranja od 15 minuta određeno je 2,08 g/kg ukupnih fenola i 280,75 mg/kg antocijana. Najveće zadržavanje ukupnih fenola nakon skladištenja bilo je u kompleksima 7,5 %_CM i 5 %_CM (100 %) s vremenom kompleksiranja od 15 minuta

(**Slika 21**), kao i u kompleksima s istom količinom celuloze s vremenom kompleksiranja od 60 minuta (od 90 do 96 %). U uzorcima s 2,5 % celuloze s vremenom kompleksiranja od 15 minuta i 60 minuta, postotak zadržavanja fenola bio je 85 %. Najmanje zadržavanje bilo je u kompleksima s 10 % celuloze (76 % u kompleksima formuliranim 15 minuta i 62 % u kompleksima formuliranim 60 minuta). Zadržavanje antocijana bilo je niže u kompleksima (**Slika 22**) s većim udjelima celuloze i s kraćim vremenom kompleksiranja. Za komplekse formulirane s 2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 % celuloze postotak zadržavanja antocijana bio je 65 %, 62 %, 59 % odnosno 55 %. Dužim kompleksiranjem (60 minuta) najviše antocijana zadržalo se je u kompleksu 10 %_CM (61 %), a u preostalim kompleksima zadržavanje je bilo oko 58 %.

U **Tablici 8** i **Tablici 9** prikazan je udio pojedinačnih fenolnih komponenti u kompleksima celuloza/malina s vremenom kompleksiranja od 15 minuta odnosno 60 minuta, nakon pripreme i nakon skladištenja. Od antocijana detektirani su cijanidin-3-soforozid, cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-rutinozid i cijanidin-3-glukozil-rutinozid. Od svih fenolnih komponenti u najvećoj koncentraciji određen je cijanidin-3-soforozid. Najveći udio cijanidin-3-soforozida adsorbiran je u kompleksima s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %_CM) i kraćim vremenom kompleksiranja (196 µg/g). U uzorcima koji su kompleksirani 60 minuta, najveća koncentracija cijandini-3-soforozida također je utvrđena u kompleksu s 2,5 % celuloze (188,96 µg/g). Daljnjim povećanjem količine celuloze od 2,5 % do 10 %, udio cijanidin-3-soforozida se smanjivao i kod uzoraka kompleksiranih 15 minuta (178,95 µg/g, 165,37 µg/g, 158,08 µg/g za 5 %_CM, 7,5 %_CM, 10 %_CM) kao i kod uzoraka kompleksiranih 60 minuta (175,56 µg/g, 156,08 µg/g, 134,95 µg/g za 5 %_CM, 7,5 %_CM, 10 %_CM). Koncentracija cijanidin-3-glukozida također je bila najveća u kompleksima 2,5 %_CM s vremenom kompleksiranja od 15 minuta i 60 minuta (58,39 µg/g odnosno 53,55 µg/g), kao i koncentracija cijanidin-3-glukozil-rutinozida (28,82 µg/g odnosno 26,41 µg/g) i cijanidin-3-rutinozida (33,95 µg/g odnosno 32,20 µg/g). Povećanjem udjela celuloze od 2,5 % do 10 % smanjivala je se i koncentracija adsorbiranih fenola na celulozu, tako da je koncentracija cijanidin-3-glukozida kod ostalih uzoraka kompleksiranih 15 minuta bila 52,29 µg/g (5 %_CM), 46,20 µg/g (7,5 %_CM) i 41,00 µg/g (10 %_CM). U uzorcima kompleksiranih 60 minuta koncentracija ovog antocijana bila je 47,36 µg/g (5 %_CM), 39,92 µg/g (7,5 %_CM) i 33,75 µg/g (10 %_CM). Koncentracija cijanidin-3-rutinozida kod uzoraka kompleksiranih 15 minuta bila je 31,87 µg/g (5 %_CM), 30,83 µg/g (7,5 %_CM), 29,08 µg/g (10 %_CM), te kod uzoraka kompleksiranih 60 minuta 30,61 µg/g (5 %_CM), 28,85 µg/g (7,5 %_CM), 27,17 µg/g (10 %_CM). Koncentracija cijanidin-3-glukozil-rutinozida kod uzoraka kompleksiranih 15 minuta bila je 28,01 µg/g (5 %_CM), 26,96 µg/g (7,5 %_CM), 26,92 µg/g (10 %_CM) te kod uzoraka kompleksiranih 60 minuta 25,91 µg/g (5 %_CM), 24,84 µg/g (7,5 %_CM), 24,54 µg/g (10 %_CM). Drugi najzastupljeniji fenol u kompleksima CM bila je

elaginska kiselina. Najveća koncentracija utvrđena je u kompleksima 2,5 %_CM (80,84 µg/g s vremenom kompleksiranja od 15 minuta odnosno 89,09 µg/g s vremenom kompleksiranja od 60 minuta). Kod uzoraka s vremenom kompleksiranja od 15 minuta, povećanjem udjela celuloze od 2,5 % do 10 % došlo je do postepenog smanjenja koncentracije elaginske kiseline (od 80,84 µg/g do 44,11 µg/g), dok je kod uzoraka s vremenom kompleksiranja od 60 minuta trend bio nešto drugačiji. Naime, dužim vremenom kompleksiranja (60 minuta) koncentracija elaginske kiseline bila je najmanja u kompleksu 7,5 %_CM (67,92 µg/g). U uzorcima nakon pripreme određeni su još derivati elaginske kiseline. Najveća koncentracija derivata elaginske kiseline bila je u uzorcima 2,5 %_CM s vremenom kompleksiranja od 15 minuta i 60 minuta. Povećanjem koncentracije celuloze (od 2,5 % do 10 % celuloze) postepeno se je smanjivala koncentracija svih derivata elaginske kiseline. Koncentracija elaginske kiseline derivata 1 kretala se u rasponu od 19,96 µg/g do 10,46 µg/g, elaginske kiseline derivata 2 u rasponu od 8,38 µg/g do 5,41 µg/g, te elaginske kiseline derivata 3 u rasponu od 10,32 µg/g do 7,20 µg/g u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta. U uzorcima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta koncentracija elaginske kiseline derivata 1 bila je u rasponu od 12,82 µg/g do 6,12 µg/g, elaginske kiseline derivata 2 od 7,12 µg/g do 8,03 µg/g, te elaginske kiseline derivata 3 od 13,22 µg/g do 8,03 µg/g. Koncentracija kvercetina bila je u rasponu od 25,67 µg/g do 21,73 µg/g za uzorke od 2,5 %_CM do 10 %_CM s vremenom kompleksiranja od 15 minuta, te u rasponu od 26,54 µg/g do 21,90 µg/g za uzorke od 2,5 %_CM do 10 %_CM s vremenom kompleksiranja od 60 minuta. Određen je također i jedan derivat kvercetina i to u koncentraciji oko 16 µg/g u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta i 60 minuta, odnosno nije utvrđena statistički značajna razlika u vrijednostima između uzoraka s različitim udjelima celuloze.

Nakon skladištenja, koncentracija cijanidin-3-soforozida bila je najveća u kompleksima 2,5 %_CM s vremenom kompleksiranja od 15 minuta odnosno 60 minuta (83,03 µg/g i 73,96 µg/g). Povećanjem udjela celuloze od 2,5 % do 10 %, smanjivala se i koncentracija cijanidin-3-soforozida. Postotak zadržavanja cijanidin-3-soforozida u uzorcima nakon skladištenja bio je manji u odnosu na ostale antocijane. Njegovo zadržavanja je bilo oko 41 % u kompleksima formuliranim kraće vrijeme, te od 36 % do 44 % u kompleksima s dužim vremenom kompleksiranja. Koncentracija cijanidin-3-glukozida kretala se u rasponu od 45,64 µg/g do 30,25 µg/g u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta, dok je u kompleksima s dužim vremenom kompleksiranja koncentracija cijandini-3-glukozida bila nešto manja i kretala se u rasponu od 37,76 µg/g do 28,68 µg/g. Postotak zadržavanja cijanidin-3-glukozida nakon skladištenja bio je od 70 % do 85 %. Koncentracija cijanidin-3-glukozil-rutinozida nakon skladištenja iznosila je oko 20,8 µg/g, s postotkom zadržavanja od 74 % do 84 %. Koncentracija cijanidin-3-rutinozid kretala se u rasponu od 28,40 µg/g do 24,36 µg/g. Postotak

zadržavanja cijanidin-3-rutinozida kretao se od 84 % do 90 %. Najveće zadržavanje cijanidin-3-soforizida, cijanidin-3-glukozida, cijanidin-3-rutinozid i cijanidin-3-glukozil-rutinozida utvrđeni su u kompleksima s 10 % celuloze. Nakon skladištenja povećana je koncentracija elaginske kiseline. Najveća je bila u uzorku 2,5 %_{CM} s vremenom kompleksiranja od 15 minuta i iznosila je 104,80 µg/g. Dužim vremenom kompleksiranja najveća koncentracija elaginske kiseline određena je u uzorku 5 %_{CM} (104,53 µg/g). Postotak zadržavanja elaginske kiseline bio je u svim uzorcima 100 %, izuzev uzorka 10 %_{CM} (77 %) s vremenom kompleksiranja od 60 minuta. Elaginska kiselina derivat 1 određen je u rasponu od 19,47 µg/g do 7,09 µg/g s vremenom kompleksiranja od 15 minuta, te u rasponu od 9,94 µg/g do 5,95 µg/g s vremenom kompleksiranja od 60 minuta. Elaginska kiselina derivat 2 bio je u rasponu od 8,21 µg/g do 4,78 µg/g (15 minuta kompleksiranja) te u rasponu od 6,14 µg/g do 4,24 µg/g (60 min kompleksiranja). Elaginska kiselina derivat 3 određen je u rasponu od 12,56 µg/g do 7,46 µg/g (15 minuta kompleksiranja) te od 14,22 µg/g do 8,78 µg/g (60 minuta kompleksiranja). Kod sva tri derivata elaginske kiseline koncentracija se smanjivala s povećanjem udjela celuloze od 2,5% do 10%. Zadržavanja elaginske kiseline derivata 1 nakon skladištenja bio je u rasponu od 75 % do 98 %, elaginske kiseline derivata 2 od 86 % do 98 %. U skladištenim uzorcima koncentracija kvercetina kretala se oko 23 µg/g, a kvercetin derivata 1 oko 15 µg/g. U skladištenim uzorcima zadržavanje elaginske kiseline 3, kvercetina i kvercetin derivata 1 bilo je 100 %.

Ukupni udio fenola i antocijana soka višnje adsorbiranih na celulozu, nakon pripreme i nakon skladištenja prikazan je u **Tablicama 19 i 20**. Općenito, iz rezultata je vidljivo da su vrijeme kompleksiranja i udio korištene celuloze za formuliranje kompleksa imali utjecaj na istraživane parametre. U kompleksima celuloza/višnja (CV) nakon pripreme najveći udio adsorbiranih ukupnih fenola (**Tablica 19**) imali su kompleksi 2,5 %_{CV} s vremenom kompleksiranja od 15 minuta i 60 minuta (4,26 g/kg odnosno 3,94 g/kg), iza kojeg su slijedili kompleksi s većim udjelima celuloze (5 %, 7,5 % i 10 %) u kojima se postepeno smanjivala koncentracija ukupnih fenola. Najmanji udio ukupnih fenola imali su kompleksi 10 %_{CV} (3,14 g/kg odnosno 3,26 g/kg s vremenom kompleksiranja od 15 minuta odnosno 60 minuta). Ukupni udio adsorbiranih antocijana (**Tablica 20**) bio je najveći u kompleksu 2,5 %_{CV} (354,25 mg/kg) s vremenom kompleksiranja od 15 minuta. Povećanjem udjela celuloze od 2,5 % do 10 % udio antocijana adsorbiranih na celulozu se postepeno smanjivao, tako da su kompleksi s 10 % celuloze imali najniži udio antocijana (294,25 mg/kg u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta i 228,21 mg/kg u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta). U kompleksima celuloza/višnja utvrđen je i udio adsorbiranih proantocijanidina (**Tablica 21**). Kompleksi s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %) i vremenom kompleksiranja od 15 minuta imali su najveću koncentraciju proantocijanidina. Tako je koncentracija proantocijanidina bila 681,84 mg/kg u

kompleksu 2,5 %_CV s vremenom kompleksiranja od 15 minuta te 642,21 mg/kg u kompleksu 2,5 %_CV s vremenom kompleksiranja od 60 minuta. Povećanjem udjela celuloze od 2,5 % do 10 % smanjivala se i koncentracija proantocijanidina, tako da su najniže koncentracije određene u kompleksima 10 %_CV (358,45 mg/kg odnosno 306,29 mg/kg). U skladištenim uzorcima zadržana je ista tendencija kao i nakon pripreme u pogledu ukupnih fenola, antocijana i proantocijanidina. Kompleksi s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %) i kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta) imali su najveći udio fenola i antocijana (3,99 g/kg ukupnih fenola, 212,49 mg/kg antocijana i 478,34 mg/kg). Stabilnost dobivenih kompleksa tj. zadržavanje komponenti utvrđeno je skladištenjem uzoraka pri sobnoj temperaturi u razdoblju od 12 mjeseci. Postotak zadržavanja fenola u kompleksima celuloza/višnja prikazan je na **Slici 27**. Nakon 12 mjeseci skladištenja uzoraka na sobnoj temperaturi, najveće zadržavanje ukupnih fenola bilo je u kompleksima 2,5 %_CV i 10 %_CV (oko 93 %) s kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta). Zadržavanje fenola u kompleksima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta bilo je u rasponu od 81 % (2,5%_CV) do 86 % (5 %_CV). Najmanje zadržavanje ukupnih fenola imao je kompleks 5 %_CV formuliran 15 minuta (76 %). Postotak zadržavanje antocijana nakon skladištenja (**Slika 28**) bio je najveći u kompleksu 7,5 %_CV (65 %) i kompleksu 2,5 %_CV (63 %) s vremenom kompleksiranja od 60 minuta, zatim u kompleksu 5 %_CV (51 %) dok je najmanje zadržavanje bilo je u kompleksu 10 %_CV (55 %), također s dužim vremenom kompleksiranja. Zadržavanje antocijana u kompleksima celuloza/višnja s kraćim vremenom kompleksiranja kretao se od 56 % (10 %_CV) do 60 % (2,5 %_CV). Na **Slici 29** prikazan je postotak zadržavanja proantocijanidina u kompleksima nakon skladištenja. Najveće zadržavanje određeno je u kompleksu 2,5 %_CV (70 %) s vremenom kompleksiranja od 15 minuta, a zatim u kompleksu 2,5 %_CV s vremenom kompleksiranja od 60 minuta (67 %). Najniži postotak zadržavanja određen je u kompleksu 7,5 %_CV (55 %) s vremenom kompleksiranja od 60 minuta te u kompleksu 10 %_CV (56 %) s vremenom kompleksiranja od 15 minuta.

U **Tablici 22** i **Tablici 23** prikazani su udjeli pojedinačnih fenolnih komponenti u kompleksima celuloza/višnja s vremenom kompleksiranja od 15 minuta i 60 minuta, nakon pripreme i nakon skladištenja. Od antocijana detektirani su cijanidin-3-rutinozida i cijanidin-3-glukozil-rutinozid. Kompleks 2,5 %_CV s vremenom kompleksiranja od 15 minuta imao je najveću koncentraciju cijanidin-3-rutinozida (185,89 µg/g) kao i u uzorcima koji su kompleksirani 60 minuta (135,66 µg/g). Koncentracija cijanidin-3-glukozil-rutinozida bila je najveća u uzorku 2,5 %_CV s vremenom kompleksiranja 15 minuta i iznosila je 76,01 µg/g. Od ostalih fenola, u najvećoj koncentraciji određena je klorogenska kiselina. Kompleks 2,5 %_CV s vremenom kompleksiranja od 15 minuta imao je najveću koncentraciju klorogenske kiseline (151,71 µg/g) dok je s vremenom kompleksiranja od 60 minuta koncentracija klorogenske kiseline iznosila

127,21 µg/g. Najveće koncentracije ostalih fenolnih komponenti (neoklorogenske kiseline, rutina, kvercetina i kempferola) određene su u uzorcima s kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta) i s najnižim udjelom celuloze (2,5 %). Koncentracija neoklorogenske kiseline iznosila je 87,03 µg/g, rutina 54,49 µg/g, kvercetina 19,92 µg/g te kempferola 9,40 µg/g. Kao i u kompleksima celuloza/malina, povećanjem koncentracije celuloze od 2,5 % do 10 %, koncentracija pojedinačnih fenola se postepeno smanjivala. Izuzetak je koncentracija cijanidin-3-glukozil-rutinozida u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta, gdje je najnižu koncentraciju imao uzorak 7,5 %_CV.

Nakon skladištenja koncentracija cijanidin-3-rutinozida i cijanidin-3-glukozil-rutinozida bila je najveća u uzorcima 2,5 %_CV s vremenom kompleksiranja od 15 minuta (87,83 µg/g cijanidin-3-rutinozida i 32,31 µg/g cijanidin-3-glukozil-rutinozida). U uzorcima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta koncentracija cijanidin-3-rutinozida iznosila je 55,02 µg/g dok je cijanidin-3-glukozil-rutinozida iznosila 23,02 µg/g. Povećanjem udjela celuloze od 2,5 % do 10 % postepeno se smanjivala i njihova koncentracija u uzorcima. Tako je u uzorcima 10 %_CV određena koncentracija cijanidin-3-rutinozida od 53,88 µg/g i cijanidin-3-glukozil-rutinozida od 21,28 µg/g s vremenom kompleksiranja od 15 minuta te cijanidin-3-rutinozida od 46,32 µg/g i cijanidin-3-glukozil-rutinozida od 20,79 µg/g s vremenom kompleksiranja od 60 minuta. Postotak zadržavanja cijanidin-3-rutinozida bio je veći u uzorku 2,5 %_CV s vremenom kompleksiranja od 15 minuta (47 %), dok je najniži postotak zadržavanja bio u uzorku 5 %_CV (37 %) s vremenom kompleksiranja od 60 minuta. Postotak zadržavanja cijanidin-3-glukozil-rutinozida bilo je u rasponu od 37 % do 49 %. U skladištenim uzorcima u najvećoj koncentraciji bilo je klorogenske kiseline. U rasponu od 136,14 µg/g (2,5%_CV) do 103,45 µg/g (10%_CV) u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta, te u rasponu od 106,93 µg/g (2,5%_CV) do 96,39 µg/g (10%_CV). Neoklorogenske kiseline i rutina bilo je također najviše u uzorku 2,5 %_CV i vremenom kompleksiranja od 15 minuta (76,00 µg/g za neoklorogensku kiselinu i 49,18 µg/g za rutin). Stabilnost klorogenske kiseline u skladištenim uzorcima bila je u rasponu od 81 % do 94 %, neoklorogenske kiseline u rasponu od 79 % do 87 %, a rutina u rasponu od 85 % do 94 %. Koncentracija kvercetina u skladištenim uzorcima bila je oko 22 µg/g, a kempferola oko 9 µg/g. Postotak zadržavanja iznosio je 100 %.

Interakcije između različitih vlakana, uključujući celulozu, i polifenola ovise o kemijskim karakteristikama (molekularnoj strukturi i molekularnoj masi), fizikalnim svojstvima i početnoj koncentraciji obiju komponenti (Le Bourvellec i Renard, 2005a; Le Bourvellec i sur., 2005b). Polifenoli i celuloza dolaze u međusobnu interakciju preko nekovalentnih veza, kao što su vodikove veze, hidrofobne interakcije i van der Waalove sile, ili jednostavno fizičkim zarobljavanjem jedne komponente od strane druge komponente. Te interakcije su pod snažnim utjecajem okolišnih parametara poput pH vrijednosti i temperature te vremena

kompleksiranja (Le Bourvellec i sur., 2004; Padayachee i sur., 2012a,b; Phan i sur., 2017; Renard i sur., 2001; Tang i sur., 2003). Osnova interakcija fenola i celuloze su veličina i struktura molekule fenola (Le Bourvellec i sur., 2004). Osnovna karakteristika fenola je posjedovanje jednog ili više benzenskih prstenova i hidroksilnih skupina pomoću koji se vežu na specifična mjesta na molekule polisaharida. Uglavnom se fenoli i vlakna međusobno vežu vodikovim vezama (formiranih između OH skupina fenolnih spojeva i atoma kisika polisaharida), kao i hidrofobnim vezama. Također, između polisaharida i fenolnih kiselina mogu se formirati kovalentne veze kao što je esterska veza (Saura-Calixto, 2011). Nadalje, ove interakcije mogu ovisiti o površinskim svojstvima molekule, njezinoj veličini i poroznosti. Veličina pora u polisaharidima može ograničiti difuziju polifenola s većom molekulskom masom (Saura-Calixto, 2011). S druge strane, neka istraživanja su potvrdila da se polifenoli veće molekulske mase vežu u većoj količini na celulozu u usporedbi s polifenolima manje molekulske mase (Phan i sur., 2015). Naši rezultati su u skladu s prijašnjim istraživanjima u pogledu utjecaja vremena kompleksiranja na interakciju između fenolnih komponenti i polisaharida stanične stijenke. Duže vrijeme kompleksiranja, koje je uključivalo miješanje, nije dovelo do povećane adsorpcije fenolnih komponenti na celulozu. Interakcija se događa spontano unutar 1 minute, zatim se ubrzano povećava unutar 30 minuta, nakon čega dolazi do usporenog vezivanja (Padayachee i sur., 2012a; Phan i sur., 2015). Vjerojatno postoje određena mjesta na molekuli celuloze koje su odgovorne za formiranje čvršćih regija. Druga alternativa je da celuloza ima određeni afinitet za vezanje fenolnih molekula i iznad tog stupnja, fenolni spojevi počinju stvarati ionsku barijeru za daljnje vezanje (Padayachee i sur., 2012a). Costa i sur. (2015) proučavali su adsorpcijski kapacitet katehina, ferulične kiseline i kafeinske kiseline na ksilan i celulozu. Uočili su da se adsorpcija polifenola dogodila u prvoj minuti kontakta, dok je nakon 10 minuta došlo do zasićenja aktivnih mjesta na adsorbensu. Liu i sur. (2017) utvrdili su da do početnog vezivanja dolazi zbog adsorpcije fenola na površinska vezna mjesta na molekuli celuloze zbog prisutnih labilnih hidroksilnih skupina. Dodatna interakcija odvija se zbog nekovalentnog vezanja, tj. vodikovih veza i hidrofobnih interakcija (Liu i sur., 2017). Važni čimbenici za nekovalentno vezanje također su i fenolni prstenovi, njihov broj i njihova konformacijska fleksibilnost (Cartalade i Vernhet, 2006). Budući da je nekovalentno vezanje uključeno u adsorpcijski proces fenola na celulozu, vjerojatno je da produljeno vrijeme kompleksiranja koje je uključivalo miješanje rezultiralo kidanjem vodikovih veza i hidrofobnih interakcija te su zbog toga utvrđeni niži sadržaji fenola na kompleksima celuloza/malina i celuloza/višnja formuliranih 60 minuta (Phan i sur., 2015; Liu i sur., 2017). Maksimalni kapacitet vezivanja fenola ovisi o njihovoj molekularnoj strukturi i kreće se u rasponu od 0,4 do 1,4 g na 1 g celuloze (Phan i sur., 2015) te vjerojatno zbog toga dolazi do usporavanja vezivanja. Dostupna vezivna mjesta na vlaknima također se smatraju važnim čimbenikom u određivanju količine vezanih polifenola. Iz rezultata istraživanja ukupnih fenola soka kupine adsorbiranih

na vlakna jabuke vidljivo je da je povećana količina vlakana u kompleksima (iznad 2%), negativno utjecala na vezanje polifenola i pretpostavljeno je da je maksimalni kapacitet vezanja postignut ispod te točke (Kopjar i sur., 2022). U istraživanjima Jakobek i sur. (2021) i Phan i sur. (2017) zaključeno je da veća koncentracija polifenola u okruženju vlakana dovodi i do njihove veće adsorpcije. To se slaže i s našim rezultatima. Cijanidin-3-soforozid najzastupljeniji je fenol u soku maline te posljedično tome i u kompleksima s celulozom. Interakcije između proantocijanidina i vlakana iz materijala stanične stijenke ovise o koncentraciji proantocijanidina, molekularnoj masi, stupnju galoilacije i polimerizacije kao i o sastavu i strukturi stanične stijenke (Renard i sur., 2017). Rezultati nekih istraživanja pokazali su da veća koncentracija polifenola prisutnih u okolini povećava adsorpciju proantocijanidina (Renard i sur., 2001; Rendar i sur., 2017). Što se tiče strukture proantocijanidina, oni s (+)-katehinskim jedinicama pokazali su veći afinitet prema polisaharidima od onih s (-)-epikatehinskim produžnim jedinicama (Renard i sur., 2017). Povećana poroznost stanične stijenke dovodi do veće adsorpcije tanina veće molekularne mase, dok smanjenja poroznost staničnih stjenki uzorkovana procesom sušenja rezultira smanjenim afinitetom proantocijanidina prema staničnoj stjenci (Le Bourvellec i sur., 2005; Le Bourvellec i sur., 2012a,b). U ovom istraživanju adsorpcija proantocijanidina soka višnje na celulozu slijedila je trend ranijih istraživanja vezanja proantocijanidina na citrus vlakna i vlakna jabuke (Buljeta i sur., 2021; Kopjar i sur., 2022). U kompleksima s najmanjim udjelom vlakana bila je najveća koncentracija proantocijanidina.

5.2. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST KOMPLEKSA CELULOZA/MALINA I CELULOZA/VIŠNJA

Antioksidacijska aktivnost jedna je od brojnih bioloških aktivnosti fenola koja ovisi o njihovoj kemijskoj strukturi. Određivanje antioksidativnog djelovanja provedeno je primjenom DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metoda. Kroz naše rezultate vidljivo je da su različitim metodama, dobivene različite vrijednosti antioksidacijske aktivnosti kompleksa. DPPH metoda temelji se na uklanjanju DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radikala i jedna je od najčešće korištenih analiza za određivanje antioksidacijske aktivnosti. DPPH je komercijalno dostupan stabilni kromogen radikal (Shahidi i Zhong, 2015). U ABTS metodi nastaje ABTS kation radikal intenzivne boje, a antioksidacijski se utjecaj mjeri kao sposobnost spojeva za smanjenje boje u reakciji s radikalom (Prior i sur., 2005). S druge strane, FRAP test mjeri smanjenje kompleksa željeznog iona (Fe^{3+}) - liganda u plavo obojeni željezo (Fe^{2+}) kompleks djelovanjem antioksidansa (Shahidi i Zhong, 2015). U našem istraživanju korišten je trispiridiltriazin (TPTZ) kao željezo - vezujući ligand. FRAP metoda je jednostavna i jeftina, i temelji se na „selektivnom elektron donor“ mehanizmu, stoga ju se preporučuje koristiti u kombinaciji s drugim testovima za provjeru dominantnog mehanizam za različite antioksidanse (Prior i sur., 2005). Konačno,

CUPRAC metoda temelji se na redukciji bakra (Cu^{2+}) u bakar ion (Cu^+) pomoću antioksidansa (Prior i sur., 2005). Analogno FRAP metodi, ligand (neokuproin) tvori bakreni ligand kompleks za olakšavanje mjerenja apsorbancije u CUPRAC metodi (Shahidi i Zhong, 2015).

Određivanje antioksidacijskog djelovanja kompleksa celuloza/malina provedena je primjenom DPPH, FRAP i CUPRAC metode. Dobiveni rezultati antioksidacijskog djelovanja celuloza/malina kompleksa prikazani su u **Tablici 10**, **Tablici 11** i **Tablici 12**. Različite vrijednosti antioksidacijske aktivnosti dobivene su ovisno o primijenjenoj metodi, tj. njihovom mehanizmu djelovanja kao što je prethodno objašnjeno. Antioksidacijska aktivnost kompleksa 2,5 %_CM određena DPPH metodom kretala se u rasponu od 23,51 do 20,01 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ za komplekse s vremenom kompleksiranja od 15 minuta, i utvrđeno je da s porastom količine celuloze opada antioksidacijska aktivnost. Antioksidacijska aktivnost prema DPPH metodi za komplekse s vremenom kompleksiranja od 60 minuta iznosila je oko 23 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. Nakon 12 mjeseci skladištenja, antioksidacijsko djelovanje u svim CM kompleksima se povećalo, ali nije bilo značajne razlike između kompleksa s različitom količinom korištene celuloze bez obzira na vrijeme kompleksiranja. Vrijednosti antioksidacijske aktivnosti dobivene FRAP metodom bile su u rasponu od 2,81 do 1,79 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. CM kompleksi formulirani s 2,5 % celuloze tijekom 15 minuta i 60 minuta kompleksiranja imali su najveću antioksidacijsku aktivnost. Povećanjem količine celuloze s 2,5 % na 10 %, vrijednosti antioksidacijske aktivnosti su se smanjivale. Nakon skladištenja zadržala se ista tendencija. Slični rezultati kao kod DPPH i FRAP metoda, također su dobiveni CUPRAC metodom. Najveću antioksidacijsku aktivnost imao je CM kompleks pripremljen s 2,5 % celuloze (103,20 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$) i s povećanjem količine celuloze, došlo je do smanjenja antioksidacijske aktivnosti. Najniže vrijednosti bile su u uzorcima 10 %_CM, i kod kraćeg (15 minuta) i kod dužeg (60 minuta) vremena kompleksiranja (54,47 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ i 55,48 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$). CM kompleksi s 2,5 % celuloze koji su imali najveći sadržaj fenola također su imali najveću antioksidacijsku aktivnost, dok CM kompleksi s 10 % celuloze, s najnižim sadržajem fenola, imali su najmanju antioksidacijsku aktivnost. Nakon 12 mjeseci skladištenja, antioksidacijska aktivnost u celuloza/malina kompleksima bila je veća u odnosu na uzorke nakon pripreme. Uzorak 7,5 %_CM imao je najveću antioksidacijsku vrijednost prema DPPH metodi (26,54 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$), dok su uzorci 2,5 %_CM imali najveću antioksidacijsku vrijednost prema FRAP (3,08 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$) i CUPRAC (127,33 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$) metodi.

Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/višnja određivana je metodama DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC. Kompleksi celuloza/višnja s vremenom kompleksiranja od 60 minuta s udjelom celuloze 2,5 % imali su najveću antioksidacijsku aktivnost prema DPPH metodi. Antioksidacijska aktivnost kretala se od 30,24 do 27,92 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. Smanjenjem udjela celuloze od 2,5 % do 10 %, smanjivala se i vrijednost antioksidacijske aktivnosti kompleksa (**Tablica 24**). Antioksidacijska aktivnost kompleksa CV prema ABTS (**Tablica 25**), FRAP

(**Tablica 26**) i CUPRAC (**Tablica 27**) metodi bila je najveća u uzorcima s 2,5% celuloze, ali kraćim (15 minuta) vremenom kompleksiranja. Prema ABTS metodi antioksidacijska aktivnost kretala se u intervalu od 18,98 do 13,85 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, prema FRAP metodi od 3,04 do 2,33 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, te prema CUPRAC metodi od 167,58 do 125,69 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. Nakon skladištenja u svim kompleksima celuloza/višnja došlo je do smanjenja antioksidacijske aktivnosti. Prema DPPH metodi vrijednosti antioksidacijske aktivnosti kretale su se oko 24 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, tako da je postotak zadržavanja u skladištenim uzorcima bio od 81% do 97%. Prema ABTS metodi vrijednosti su bile u rasponu od 10,30 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ do 14,41 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ (postotak zadržavanja od 65% do 83%), prema FRAP metodi od 1,56 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ do 2,31 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ (postotak zadržavanja od 62% do 84%) i prema CUPRAC metodi od 101,16 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ do 138,41 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ (postotak zadržavanja od 79% do 89%).

Kod oba tipa kompleksa (CM i CV) najveću antioksidacijsku aktivnost imali su kompleksi pripremljeni s 2,5 % celuloze. Povećanjem udjela celuloze, antioksidacijska aktivnost se smanjivala. Nakon 12 mjeseci skladištenja, antioksidacijska aktivnost u celuloza/malina kompleksima bila je veća ili jednaka u odnosu na uzorke nakon pripreme. Razlog tome su najvjerojatnije strukturne promjene fenola jer može doći do stvaranja polimeriziranih i oksidiranih fenola koji mogu pokazati veću antioksidacijsku aktivnost od nepolimeriziranih i neoksidiranih fenola (Da Porto i sur., 2000; Manzocco i sur., 2001; Nicoli i sur., 2000). U celuloza/višnja kompleksima vrijednosti u skladištenim uzorcima bile su niže u odnosu na uzorke nakon pripreme. Također, antioksidacijska aktivnost određena sa sve četiri metode imala je različite vrijednosti, zbog različitih mehanizama samih metoda. Usporedba DPPH radikala i ABTS kation radikala, DPPH radikali imaju veću selektivnost u reakciji s vodik donorom nego ABTS kation radikal (Lončarić i sur., 2014). Apak i sur. (2004) utvrdili su da je pored konjugacije molekula, broj i položaj –OH skupina izravno povezan s antioksidacijskom aktivnošću u CUPRAC metodi. U našem istraživanju, vjerojatno je količina fenolnih spojeva vezanih na celulozu, smanjila broj dostupnih hidroksilnih grupa na fenolima i tako uzrokovala promjenu u reakcijama s DPPH radikalima i ABTS kation radikalima, kao i redukciju metalnih iona u druge dvije metode. Antioksidacijska aktivnost kompleksa vlakna/fenoli proučavana je i ranije (Kopjar i sur., 2023; Kopjar i sur., 2022; Buljeta i sur., 2021; Da Rosa i sur., 2014). Antioksidacijska aktivnost kompleksa celuloza/galna kiselina i celuloza/kafeinska kiselina bila je najveća u uzorcima s najnižim udjelom (2,5 %) celuloze. Polifenoli soka kupine inkapsulirani s vlaknima citrusa i vlaknima jabuke pokazali su veći antioksidacijski potencijal kada je 1 % vlakana bilo prisutno u kompleksu, u usporedbi s 4 % odnosno 10 % vlakana (Buljeta i sur., 2021, Kopjar i sur., 2022). Da Rosa i sur. (2014) utvrdili su veću antioksidacijsku aktivnost u mikrokapsulama ekstrakta polifenola kupine obloženih ksantanom (90,75 %) i β -ciklodekstrinom (84,43 %) nego obloženih hitozanom (80,38 %). Njihovi rezultati za antioksidativno djelovanje bili su u skladu s količinama polifenola u mikrokapsulama.

5.3. BOJA KOMPLEKSA CELULOZA/MALINA I CELULOZA/VIŠNJA

U **Tablici 13** prikazani su parametri boje (L^* , a^* , b^* , $^{\circ}h$ i C^*) za komplekse celuloza/malina i u **Tablici 28** parametri boje kompleksa celuloza/višnja nakon pripreme, kompleksiranih 15 odnosno 60 minuta. L^* vrijednost čiste celuloze iznosila je 93,40, adsorpcijom fenolnih komponenti maline i višnje došlo je do smanjenja L^* vrijednosti čime kompleksi postaju tamniji. L^* vrijednosti za komplekse celuloza/malina bile su u rasponu od 68,93 do 74,09. Povećanjem količine celuloze povećavala se je i vrijednost parametra L^* , odnosno kompleksi su bili sve svjetliji. Kompleksi s vremenom kompleksiranja od 15 minuta imali su nešto niže vrijednosti parametra L^* u odnosu na komplekse s vremenom kompleksiranja od 60 minuta. L^* vrijednosti kompleksa celuloza/višnja kretale su se u rasponu od 66,98 do 71,85. Također povećanjem količine celuloze od 2,5 % do 10 %, povećavale su se L^* vrijednosti, odnosno povećavala se svjetlina kompleksa. Celuloza je imala pozitivnu vrijednost parametra a^* koji definira crveni ton uzorka (0,42). Adsorpcijom antocijana maline i višnje vrijednost a^* se značajno povećala. U kompleksima celuloza/malina nakon pripreme i kompleksiranja pri 15 odnosno 60 minuta vrijednost parametra a^* bila je između 29,94 i 34,42, dok je u kompleksima celuloza/višnja bila između 25,30 i 29,10. Najmanje vrijednosti parametra a^* imali su kompleksi s najvećim udjelom celuloze (10 %_{CM} i 10 %_{CV}). b^* vrijednost definira žuti ton uzorka, a za celulozu ova vrijednost je iznosila 6,65. Adsorpcijom fenola maline i višnje značajno se smanjila ova vrijednost. b^* vrijednost u kompleksima CM iznosila je između 1,11 i 2,29, te za komplekse CV između 1,29 i 3,24. Kompleksi s najmanjim udjelom celuloze imali su najveću b^* vrijednost. Povećanjem količine celuloze vrijednosti parametra b^* su se smanjivale. Na temelju izmjerenih L^* , a^* , b^* vrijednosti, izračunata je i promjena boje kompleksa nakon pripreme u odnosu na čistu celulozu (ΔE). Najveća promjena boje uzorka u odnosu na čistu celulozu utvrđena je u kompleksima s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %) i kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta). ΔE za kompleks 2,5 %_{CM} iznosio je 42,11 (**Tablica 15**), dok je za kompleks 2,5 %_{CV} iznosio 39,23 (**Tablica 30**). Daljnjim povećanjem količine celuloze, promjena boje se smanjivala.

Ton boje, $^{\circ}h$ vrijednost, za celulozu iznosila je 86,34, a adsorpcijom fenola maline i višnje došlo je do značajnog smanjenja $^{\circ}h$ vrijednosti. $^{\circ}h$ vrijednost za komplekse CM bila je u intervalu od 2,13 do 3,79. Za komplekse CV bila je u intervalu od 2,94 do 6,75. Zasićenje boje odnosno C^* vrijednost za čistu celulozu je iznosila 6,66. Adsorpcijom fenola maline i višnje došlo je do zasićenja i to najviše na kompleksima 2,5 %_{CM} (34,50 i 34,26) i 2,5 %_{CV} (29,16 i 27,57) formuliranih 15 minuta odnosno 60 minuta.

U **Tablici 14** prikazani su parametri boje skladištenih kompleksa celuloza/malina i **Tablici 29** promjena boje skladištenih kompleksa celuloza/višnja. Što se tiče skladištenih uzoraka, L^* vrijednosti slijede isti trend kao i L^* vrijednosti za komplekse nakon pripreme, a^* i b^* vrijednosti

također su bile najveće u kompleksima s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %_{CM} i 2,5 %_{CV}), te se s povećanjem udjela celuloze od 2,5 % do 10 % njihova vrijednost smanjivala. Ton boje, °h vrijednost skladištenih kompleksa celuloza/malina bila je u rasponu od 3,36 do 5,47, s tim da je najveću vrijednost imao kompleks 5 %_{CM} s vremenom kompleksiranja od 60 minuta. °h vrijednost skladištenih uzoraka kompleksa celuloza/višnja bila je u rasponu od 25,37 do 32,91, s tim da je najveću vrijednost imao kompleks 5 %_{CV}. Najveće zasićenje boje odnosno C* vrijednost imali su kompleksi 2,5 %_{CM} (27,48 i 27,34) i 2,5%_{CV} (21,50 i 20,36) formulirani 15 minuta odnosno 60 minuta. Povećanjem udjela celuloze došlo je do smanjenja zasićenja boje. Određena je i promjena boje (ΔE_1) skladištenih kompleksa u odnosu na komplekse nakon pripreme. Promjena boje u skladištenim kompleksima celuloza/malina (**Tablica 15**) bila je u rasponu od 6,47 do 9,52, dok je u kompleksima celuloza/višnja (**Tablica 30**) promjena boje bila u rasponu od 12,61 do 13,55 s vremenom kompleksiranja od 15 i 60 minuta.

5.5. UDIO HLAPLJIVIH KOMPONENATA U KOMPLEKSIMA

Rezultati određivanja udjela hlapljivih komponenti identificiranih u sokovima maline i kompleksima celuloza/malina prikazani su u **Tablici 16**. U soku maline identificirano je 39 hlapljivih komponenti, dok je u kompleksima celuloza/malina utvrđeno 35 hlapljivih komponenti. Vrijeme kompleksiranja i količina celuloze imali su utjecaj na adsorpciju hlapljivih komponenti na celulozu. Nekoliko hlapljivih komponenti utvrđenih u soku maline nije identificirano u CM kompleksima (heksanol, oktanol, γ -terpinen, vitispirane, benzil alkohol, heksanska kiselina, trans-kariofilen, miristicin, miristol aldehyd, β -mircen, etil dekanat i β -ciklocitral) dok je nekoliko novih hlapljivih komponenti identificirano u novonastalim kompleksima (mentol, etil benzaldehid, dekanol, nonanonska kiselina, gvajakol, α -cedrol, benzofenon, heksil salicilat). U **Tablici 17** i **Tablici 18** prikazan je udio hlapljivih komponenti na kompleksima celuloza/malina odnosno dan je prikaz utjecaja količine celuloze i vremena kompleksiranja na adsorpciju hlapljivih komponenti nakon pripreme i njihovu stabilnost nakon 12 mjeseci skladištenja pri sobnoj temperaturi. Sve hlapljive komponente grupirane su ovisno o kemijskoj strukturi u pet skupina: aldehidi i ketoni, alkoholi, esteri, kiseline i terpeni. Identificirano je 10 aldehida u kompleksima CM (2-heksanal, benzaldehid, oktanal, nonanal, 2-nonenal, dekanal, etil benzaldehid, 4-propilbenzaldehyd, lillial i heksil cinamaldehyd) među kojima je dekanal, s cvjetnom aromom, imao najveću koncentraciju. Kompleksi pripremljeni s udjelom celuloze 7,5 % s vremenom kompleksiranja od 15 minuta imali su 25,98 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dekanala dok su kompleksi pripremljeni s 2,5 % celuloze s vremenom kompleksiranja od 60 minuta imali najveći udio ukupnih aldehida (38,56 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Kompleksi CM kompleksirani 60 minuta i s 5 % celuloze imali su najveću količinu benzaldehida (8,45 $\mu\text{g}/\text{kg}$), nonanala (18,71 $\mu\text{g}/\text{kg}$), oktanela (7,16 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 4-propilbenzaldehyda (7,65 $\mu\text{g}/\text{kg}$) i lilliala (3,31 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

Produženo vrijeme kompleksiranja imalo je utjecaj na adsorpciju 2-heksenala i najveća količina (1,53 µg/kg) ovog hlapljivog aldehida određena je u kompleksima pripremljenim s 2,5 % celuloze. 2-nonenal u najvećoj koncentraciji utvrđen je u uzorku s 7,5 % celuloze (4,01 µg/kg), te etil benzaldehida i heksil cinamaldehida (5,25 µg/kg odnosno 3,10 µg/kg) u uzorku s 10 % celuloze i vremenom kompleksiranja od 15 minuta. U kompleksu CM identificirana su tri ketona i njihovo ponašanje ovisilo je o vremenu kompleksiranja. Sva tri ketona u najvećoj koncentraciji identificirana su u kompleksima s 5 % celuloze. Keton voćnog aromatskog profila, 1-feniletanon, u najvećoj koncentraciji detektiran je u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta, dok su druga dva ketona s cvjetnom aromom u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta (10,18 µg/kg odnosno 2,91 µg/kg). Identificirano je šesnaest terpena u kompleksima celuloza/malina. β-jonon i α-jonon, komponente koje su nositelji arome maline (Fehr i Guntern, 1992; Jaeger i sur., 2013) u najvećoj koncentraciji (45,90 µg/kg odnosno 29,90 µg/kg) određene su u uzorcima s 2,5 % celuloze i 15 minuta kompleksiranja. Produženim kompleksiranjem (60 minuta) koncentracija oba terpena se smanjila. Isto ponašanje zapaženo je i kod dihidro-β-jonona i α-jonola, hlapljivih komponenti nositelja arome bobičastog voća. Dihidro-β-jonon je imao najveću koncentraciju u kompleksu sa 2,5 % celuloze (26,13 µg/kg), a α-jonol u kompleksu s 5 % celuloze (23,53 µg/kg). Količina celuloze nije imala utjecaj na adsorpciju dihidro-β-jonola nakon 15 minuta kompleksiranja dok su nakon 60 minuta kompleksiranja detektirane manje količine ovog spoja u kompleksima s većim udjelom celuloze (7,5 % i 10 %). β-damascenon je identificiran u nešto većim količinama pri kompleksiranju od 15 minuta, ali je u najvećoj koncentraciji adsorbiran u uzorku s 5 % celuloze. Linalol je identificiran u najvećoj koncentraciji od svi terpena. Tijekom 15 minuta kompleksiranja s povećanjem količine celuloze došlo je do smanjenja adsorpcije ovog hlapljivog spoja. CM kompleks s 5 %-nim udjelom celuloze kompleksiran 60 minuta imao je najveću koncentraciju linalola (57,52 µg/kg). Adsorpcija linalol oksida bila je izraženija kada se celuloza koristila u većim količinama (7,5 % i 10 %) i tijekom 15 minuta kompleksiranja (oko 5,6 µg/kg). Produženo vrijeme kompleksiranja uzrokovalo je gubitak ovoga spoja. Najveća adsorpcija nerola, geraniola i α-terpinolena bila je u kompleksima s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %) i kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta). Povećanjem količine celuloze, opaženo je smanjenje adsorpcije tih hlapljivih komponenti. Koncentracija mirtenola bila je najveća kada je korištena manja količina celuloze, neovisno o vremenu kompleksiranja. U kompleksima celuloza/malina utvrđena su dva alkohola: 2-etilheksanol i dekanol. Najveća količina 2-etilheksanola, slatke, voćne arome, bila je u kompleksima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta i 5 %-tnim udjelom celuloze (35,09 µg/kg), i u ovom slučaju produženo kompleksiranje imalo je utjecaj na adsorpciju ove hlapljive tvari na celulozu. Za drugi alkohol, dekanol, s voćnim, citrusnim notama, vrijeme kompleksiranja nije imalo važnu ulogu i utvrđen je u najvećim koncentracijama u kompleksima s 10 % celuloze (3,28 µg/kg) i vremenom kompleksiranja od 15 minuta.

Također, dvije kiseline su detektirane u kompleksima. Etilheksanska kiselina koja nije identificirana u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta. Najveća koncentracija nonanske kiseline detektirana je u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta i 5 % celuloze (8,12 µg/kg). Dva estera, metil dihidrojasmonat i heksil salicilat, također su identificirana u kompleksima. Metil dihidrojasmonat utvrđen je u većim koncentracijama nakon 15 minuta kompleksiranja, dok su za heksil salicilata, bolji rezultati postignuti dužim kompleksiranjem (60 minuta).

Određena je i stabilnost hlapljivih spojeva u kompleksima skladištenim tijekom 12 mjeseci (**Tablica 18**). Količina celuloze značajno je utjecala na zadržavanje hlapljivih tvari tijekom skladištenja. U skladištenim celuloza/malina kompleksima uočene su niže koncentracije specifičnih grupa, ali je tendencija bila ista kao i nakon pripreme, tj. terpeni su bili najzastupljenija klasa hlapljivih spojeva, a zatim aldehidi i alkoholi. Čak i ako terpeni nisu pronađeni u najvećoj količini u kompleksima pripremljenim s 10 % celuloze, njihovo zadržavanje tijekom skladištenja bilo je najveće što ukazuje na njihovu stabilnost. Samo je 2-heksenal, hlapljiva tvar s najnižom molekularnom masom, potpuno izgubljena tijekom skladištenja u svim kompleksima. Lilial se je potpuno izgubio u kompleksima kompleksiranim 15 minuta, dok je u kompleksima s dužim kompleksiranjem ovaj spoj bio stabilan. Etil heksanska kiselina imala je obrnuto ponašanje od liliala, budući da se potpuno izgubila u kompleksima pripremljenim produljenim kompleksiranjem dok je bila postojana u kompleksima pripremljenim 15 minuta. Također, 1-feniletanon je potpuno izgubljen tijekom uvjeta skladištenja u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta i zadržao se samo u kompleksu s 2,5 % celuloze i vremenom kompleksiranja od 15 minuta. Postoje varijacije u zadržavanju estera, alkohola, kiselina, ketona, ali vjerojatno su se tijekom skladištenja dogodile reakcije transformacije, kao i promjene omjera ovih spojeva. Primjerice, benzaldehid je identificiran u mnogo većim količinama, dok je količina etil benzaldehida smanjena tijekom skladištenja pa je vjerojatno da je došlo do razgradnje etil benzaldehida i stvaranja benzaldehida. Generalno, terpeni su poznati po svojim vrlo ugodnim aromatskim notama odgovornim za kompletan aromatski profil i vrlo su poželjni spojevi. U svim kompleksima bez obzira na vrijeme kompleksiranja, sveukupno veće zadržavanje ove hlapljive skupine postignuto je dodatkom 7,5 % i 10 % celuloze tijekom kompleksiranja. Iz rezultata se može uočiti da priprema, vrijeme kompleksiranja i količina celuloze jako utječu na adsorpciju hlapljivih tvari i postignut je različit omjer hlapljivih tvari. Ovaj omjer hlapljivih tvari koji je postignut nakon pripreme kompleksa također utječe na stabilnost spojeva, tj. gubitke tijekom skladištenja.

Rezultati hlapljivih komponenti identificiranih u sokovima višnje i kompleksima celuloza/višnja prikazani su u **Tablici 31**. U soku višnje identificirano je ukupno 24 hlapljivih komponenti, a u

kompleksima celuloza/višnja (CV) identificirano ih je 19. U CV kompleksima u odnosu na sok višnje nisu identificirani 6-metil-5-hepten-2-on, benzil alkohol, feniletil alkohol, nerol i eugenol. U **Tablici 32** i **Tablici 33** prikazan je udio hlapljivih komponenti na kompleksima celuloza/višnja odnosno dan je prikaz utjecaj količine celuloze i vremena kompleksiranja na adsorpciju hlapljivih komponenti nakon pripreme i njihovu stabilnost nakon 12 mjeseci skladištenja pri sobnoj temperaturi. Benzaldehida, nositelja arome višnja, bilo je najviše u uzorku s 7,5 % celuloze (69,55 µg/kg), a zatim u uzorku s 10 % celuloze (53,15 µg/kg) s kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta). Količina oktanal i nonanal najveća je bila u uzorku 5 %_CV i vremenom kompleksiranja od 15 minuta, 4-propilbenzaldehida i dodekanala također je najviše bilo u uzorku 5 %_CV, ali s dužim vremenom kompleksiranja (60 minuta). Dekanala i geranil acetona najviše je bilo u uzorku 7,5 %_CV i vremenom kompleksiranja od 15 minuta, te α -heksilcinamaldehida također u uzorku 7,5 %_CV i dužim vremenom kompleksiranja. Liliala je najviše bilo u uzorku 2,5 %_CV i vremenom kompleksiranja od 15 minuta. Od alkohola u kompleksima su detektirani 2-etil-1-heksanol, dekanol i perila alkohol. Najveće koncentracije 2-etil-1-heksanola određene su u uzorcima 5 %_CV i vremenom kompleksiranja od 60 minuta. Od ostalih alkohola, najveće vrijednosti bile su u uzorcima s kraćim vremenom kompleksiranja. Perila alkohola najviše je bilo u kompleksu 10 %_CV i dekanola u kompleksu 7,5 %_CV. Benzil alkohol i feniletil alkohol detektirani u soku višnje nisu detektirani u kompleksima celuloza/višnja. Ukupno je identificirano 15 terpena. U najvećoj koncentraciji adsorbirano je D-limonena (36,72 µg/kg) u uzorku s udjelom celuloze 5 % i vremenom kompleksiranja 15 minuta. Drugi najzastupljeniji terpen u kompleksu CV je β -jonon (18,73 µg/kg), nakon kojeg slijedi linalol (13,37 µg/kg) u uzorku s udjelom celuloze 7,5 % i vremenom kompleksiranja 60 minuta odnosno 15 minuta. α -jonola i α -jonona najviše je određeno u kompleksima 5 %_CV s kraćim vremenom kompleksiranja. β -damascenon određen je u najvećim koncentracijama u kompleksu 7,5 %_CV, a geraniol u kompleksu 10 %_CV i vremenom kompleksiranja od 15 minuta. Nakon skladištenja, došlo je do djelomičnog ili potpunog gubitka pojedinih spojeva arome. Benzaldehida je bilo najviše u uzorku 10 %_CV formuliranog 60 minuta (10,93 µg/kg), kao i dodekanala (5,97 µg/kg). Nonanal i geranilacetona bilo je najviše u uzorku 7,5 %_CV s vremenom kompleksiranja od 15 minuta. 4-propilbenzaldehida bilo je najviše u kompleksu 5 %_CV s dužim vremenom kompleksiranja. Oktanal je detektiran samo u kompleksima s 2,5 % i 5 % celuloze. U skladištenim kompleksima s 7,5 % i 10 % celuloze oktanal nije detektiran. U skladištenim uzorcima nisu detektirani dekanol, lilial i α -heksilcinamaldehida. Alkoholi (2-etil-1heksanol, dekanol i perila alkohol) su bili stabilni tijekom skladištenja. D-limonena, bilo je najviše u uzorku 2,5 %_CV i vremenom kompleksiranja od 15 minuta (26,61 µg/kg). Terpen β -damascenon potpuno je izgubljen tijekom skladištenja, dok su ostali terpeni (linalol, α -jonol, α -jonin, β -jonol, geraniol) pokazali stabilnost tijekom uvjeta skladištenja.

Ranija istraživanja pokazala su da stabilnost i zadržavanje hlapljivih spojeva u kompleksima s ugljikohidratima ovise o brojnim čimbenicima poput fizikalno-kemijskih svojstava hlapljivih spojeva (molekularna masa, duljina lanca molekule, hidrofobnost, kemijska grupa), te o vrsti i koncentraciji ugljikohidrata (Secouard i sur., 2003; Boland i sur., 2004; Arvisenet i sur., 2002a; Arvisenet i sur., 2002b; Xiao i sur., 2019). Hlapljive komponente s većom molekularnom masom imaju veću stabilnost u odnosu na hlapljive komponente s manjom molekularnom masom povezanih s ugljikohidratima. Rosenberg i sur. (1990) proučavanjem estera vezanih na guma arabiku u kompleksu dobivenom sušenjem raspršivanjem došli su do zaključka da se zadržavanje hlapljivih komponenti povećava s povećanjem njihove molekularne mase. Etil heksanoat s većom molekularnom masom imao je veću stabilnost od etil butirata. Ovaj rezultat može se objasniti činjenicom da molekule manje molekularne mase bolje difundiraju kroz složeni matriks tijekom procesa sušenja. Budući da ove molekule nisu linearne, molekularna masa i molekularna veličina je povezana i primarni je čimbenik koji utječe na difuziju komponenti kroz strukturu molekule. Povećanjem molekularne mase hlapljivih spojeva, povećava se njihova molekularna veličina što usporava njihov stupanj difuzije. Kao što smo utvrdili u našem istraživanju, nisu se sve hlapljive tvari soka maline i soka višnje vezale s celulozom tijekom procesa kompleksiranja. Neki od njih (kao što su heksanol, oktanol, γ -terpinen, vitispiran, benzil alkohol, heksanska kiselina, trans-kariofilen, miristicin, miristil aldehyd i β -ciklocitral) nisu otkriveni u kompleksima celuloza/malina, kao ni (6-metil-5-hepten-2-on, benzil alkohol, fenil etil alkohol, nerol, eugenol) u kompleksima celuloza/višnja. Te hlapljive tvari imaju ili nisku molekularnu težinu ili nizak tlak pare ili kombinaciju ovih svojstava. Ista svojstva također su primijećena za hlapljive tvari koje su izgubljene tijekom skladištenja u kompleksima CM i CV (2-heksenal, lilial, β -damascenon, dekanal, α -heksilcinamaldehyd). Postoji također odnos između kemijskih skupina hlapljivih spojeva i stupnju zadržavanja istih u kompleksima. Nekoliko istraživanja pokazalo je da se alkoholi najbolje zadržavaju na molekulama ugljikohidrata zbog mogućeg stvaranja veza između ugljikohidrata i alkohola (Goubet i sur., 1998). Kim i Maga (1994) proučavali su stabilnost hlapljivih komponenti (kiselina, aldehyda i alkohola) na amilozi škroba te su ustanovili da alkoholi imaju najveću stabilnost, dok najmanju imaju aldehydi. Istraživanje o utjecaju λ -karagenana na stabilnost hlapljivih spojeva (aldehyda, ketona, estera i alkohola) pokazalo je da esteri imaju najveći stupanj hlapljivosti, nakon čega slijede aldehydi, ketoni i alkoholi s najnižim stupnjem hlapljivosti (Kim i Maga, 1994). Slični rezultati dobiveni su za učinkovitost uključivanja arome lubenice pomoću γ -ciklodekstrina koji se smanjivao u redoslijedu alkoholi > aldehydi > esteri (Xiao i sur., 2019). U usporedbi s prethodnim istraživanjima o povezanosti ugljikohidrata i kemijskih skupina hlapljivih tvari, naši rezultati djelomično se slažu s tim pretpostavkama. Kao što je već spomenuto, tijekom kompleksiranja, kao i skladištenja, izgubljeni su neki aldehydi, ali i dva alkohola (heksanol i benzil alkohol) iz soka maline te četiri alkohola iz soka višnje (octen-3-ol,

benzil alkohol, fenil etil alkohol i nonanol), te se nisu vezala na celulozu, što pokazuje važnost kemijske strukture i svojstva nosača.

Hidrofobnost hlapljivih spojeva također je važan čimbenik koji utječe na stabilnost i otpuštanje tvari arome. Stabilnost polarnih (hidrofilnih) komponenti je vrlo niska. Terta i sur. (2006) istraživali su stabilnost limonena i trans-2-heksanala u otopini guma arabike i propilen glikol alginata plinskom kromatografijom. Limonen s većim stupnjem hidrofobnosti imao je veću stabilnost od trans-2-heksanala koji je polaran. Polarne komponente se bolje otapaju u vodi te mogu lakše difundirati kroz matriks, što rezultira smanjenjem stabilnosti polarnih hlapljivih komponenti (Bhandari i sur., 2001). Terpeni koji su općenito bolje zadržani tijekom skladištenja na kompleksima s većom količinom celuloze, imaju veću molekularnu masu u kombinaciji s visokim stupnjem hidrofobnosti. Otpuštanje aromatskih komponenti lubenice iz kompleksa s γ -ciklodekstrinom se smanjivao s povećanjem stupnja hidrofobnosti, što ukazuje na različite afinitete hidrofobnih aromatskih komponenti prema γ -ciklodekstrinu (Xiao i sur., 2019). To bi mogao biti razlog usporene difuzije hlapljivih tvari tijekom skladištenja. Struktura ugljikohidrata vrlo je važna, no nije presudna za sposobnost polimera da veže hlapljive tvari. Istraživanje adsorpcije hlapljivih komponenti na β -ciklodekstrin i α -ciklodekstrin otkrilo je važnost strukture „nosača“. Ispitivane hlapljive tvari imale su veći afinitet prema β -ciklodekstrinu zbog različitih veličina pora na strukturi molekule ciklodekstrina. Osim toga, hidrofobnost hlapljivih sastojaka također je bila važna, što dokazuje da je pokretačka snaga za stvaranje kompleksa hidrofobno/hidrofilno međudjelovanje (Astray i sur., 2010). Oksidirani kukuruzni škrob i oksidiran škrob amaranta korišten je za kapsuliranje vanilina kao moguća zamjena za guma arabiku. Uočeno je da se oksidirani oblici škroba mogu koristiti za kapsuliranje ovog spoja sa sličnom učinkovitosti kao guma arabika i sa dodatnom prednosti kao što je smanjenje higroskopnosti (Chattopadhyaya i sur., 1998).

Primjena celuloznih nanokristala u pripremi jestivog filma na bazi škroba uzrokovala je promjenu u propusnosti D-limonena (Liu i sur., 2018). Sredstva za kapsuliranje kao što su maltodekstrini, modificirani škrob, guma arabika, ksantan guma i β -ciklodekstrin korišteni su za kapsuliranje sintetičke arome jagoda s različitim tehnikama sušenja. Rezultati su otkrili da je mješavina maltodekstrin/modificirani škrob/ β -ciklodekstrin pokazala najbolju sposobnost za kapsuliranje komponenti, a slijedi ga maltodekstrin/guma arabika/ β -ciklodekstrin i maltodekstrini/ksantanska guma/ β -ciklodekstrin (Pellicer i sur., 2018; Pelliceri sur., 2019).

Flink i Karel (1970) proučavali su zadržavanje organskih hlapljivih tvari u ugljikohidratnim smjesama koje su bile osušene liofilizacijom. Na temelju istraživanja na liofiliziranim uzorcima, pretpostavljen je mehanizam za zadržavanje i gubitak hlapljivih tvari tijekom sušenja. Mehanizam uključuje formiranje mikropodručja u suhom kolaču u kojima su zarobljene

hlapljive tvari. Skupna struktura suhog kolač ukazuje na to da se te mikroregije drže zajedno u matriksu, najvjerojatnije stvaranjem mostova ugljikohidrata preko vodikovih veza. Ove mikroregije postaju nepropusne za organske spojeve kada sadržaj vode padne ispod kritične razine. Njihova istraživanja su pokazala da sporo smrzavanje i smanjenje debljine uzorka dovode do većeg zadržavanja hlapljivih tvari. Povećanje koncentracije polisaharida dovodi do smanjenja otpuštanja spojeva arome zbog kompleksiranja i utjecaja na viskoznost samog polisaharida. Secouard i sur. (2003) proučavali su otpuštanje limonena i mentola iz različitih otopina ksantana. Ustanovili su da se s većom koncentracijom ksantana smanjuje oslobađanje limonena što je objašnjeno većim hidrofobnim karakterom ksantana u usporedbi s drugim hidrokolidima. Ksantan se sastoji od celulozne okosnice s ioniziranim trisaharidnim ograncima. Uređena molekula se stabilizira kroz vodikove veze nekovalentnim interakcijama bočnog lanca i glavnog lanca. Na taj način ksantan može stvoriti hidrofobnu unutrašnjost molekule ugljikohidrata, koja može zadržati hlapljive spojeve. Hidrofobni karakter celuloze, svojstva hlapljivih tvari i interakcije među njima tijekom stvaranja kompleksa, kao i stvaranje mikroregija tijekom sušenja zamrzavanjem može biti kombinacija koja čini celulozu prihvatljivim nosačem hlapljivih tvari maline i višnje. Povećanje količine celuloze nije imalo utjecaj na smanjenje kao ni na povećanje vezanih hlapljivih komponenti. Međutim, za neke spojeve nije uočena pravilna tendencija. U našem istraživanju količina početnih hlapljivih tvari bila je konstantna, ali se količina celuloze mijenjala, što je vjerojatno imalo utjecaja na broj dostupnih mjesta za interakciju s hlapljivim tvarima. Kao što je već spomenuto, celuloza se sastoji od jedinica glukoze povezanih β -(1-4) vezama i povezani su međumolekularnim vodikovim vezama, a te su veze odgovorne za kristalnu strukturu celuloze i njezina svojstva (Bharimalla i sur., 2015; Siqueira i sur., 2010). Kompletna struktura celuloze utječe na nastanak van der Waalsovih ili vodikovih interakcija. Hidroksilne skupine celuloze povezane su s glukopiranoznim prstenom, tvoreći hidrofilno stanje molekule koje uzrokuje stvaranje vodikovih veza. Također, -CH skupine se aksijalno vežu s glukopiranoznim prstenovima tvoreći tako hidrofobni dio molekule koji uzrokuje stvaranje van der Waalsovih interakcija (Kondo, 2007). Vjerojatno su, i van der Waalsove interakcije i vodikove veze bile uključene u interakcije između celuloze i komponenata soka maline odnosno soka višnje. Nadalje, potrebno je uzeti u obzir natjecanje između komponenata za vezna mjesta, budući da je dokazano da bi to natjecanje moglo biti značajan čimbenik u zadržavanju hlapljivih tvari, osobito kada se dodaju kao mješavine spojeva (Kopjar i sur., 2013; Kopjar i sur., 2008; Van Ruth i sur., 2003).

Usporedba aromatskog profila

Ugljikohidrati imaju različite sposobnosti „zarobljavanja“ hlapljivih spojeva tijekom procesa sušenja pa posljedično to može promijeniti konačni aromatski profil dobivenih suhih proizvoda

kroz promjene u zadržavanju hlapljivih spojeva i njihovog relativnog omjera (Komes i sur., 2003; Galmarini i sur., 2008; Kopjar i sur., 2008; Galmarini i sur., 2011). Hlapljive tvari soka maline i kompleksa celuloza/malina su podijeljene u šest skupina specifične aromatske note: zelena, citrusna, voćna, cvjetna, bobičasta i drvenasta, koje u kombinaciji zajedno daju cjelokupni aromatski profil maline. Na **Slici 23** prikazana je usporedba aromatskog profila soka maline i kompleksa celuloza/malina nakon pripreme i nakon skladištenja ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 minuta dok je na **Slici 24** prikazana usporedba aromatskog profila soka maline i kompleksa celuloza/malina nakon pripreme i nakon skladištenja ovisno o vremenu kompleksiranja od 60 minuta. Aromatska nota bobičastog voća (α -jonol, α -jonon, β -jonon, dihidro- β -jonon) bila je najdominantnija u soku maline (40 % ukupne arome), zatim citrusna i drvenasta nota (svaka oko 18 % od ukupnog aromatskog profila) te cvjetna, voćna i zelena aromatska nota (svaka oko 8 % od ukupnog aromatskog profila). Iako su kompleksi celuloza/malina imali različite aromatske profile, aromatska nota bobičastog voća i dalje je bila dominantna u svim kompleksima, ali je njezin doprinos ukupnom aromatskom profilu bio manji. U kompleksima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta nota bobičastog voća doprinijela je od 28 % do 38 % ukupne arome (uočeno je povećanje sa smanjenjem količine celuloze) dok je u kompleksima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta, aromatska nota bobičastog voća bila zastupljena od 25 % do 28 % ukupne arome. Doprinos citrusne arome (nerol, limonen, linalol, nonanal) u ukupnom aromatskom profilu je bio sličan za komplekse kao i za sok maline, s izuzetkom kompleksa sa 2,5 % i 5 % celuloze za 15 odnosno 60 minuta kompleksiranja. Doprinos cjelokupnoj aromi tih spojeva u navedenim kompleksima iznosio je oko 24 %. Cvjetna aroma (dekanal, lillial, geranil aceton, benzofenon, geraniol, linalol oksid, heksil cinamaldehyd, metil dihidrojasmonat, dihidro- β -ionol) bila je najdominantnija u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta s 2,5 % celuloze. Uz povećanje količine celuloze s 2,5 % na 10 %, povećala se i cvjetna aroma u uzorcima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta. Voćna aromatska nota (etil benzaldehid, benzaldehid, 2-etilheksanol, 4 propilbenzaldehyd, etil dekanoat) u većoj mjeri je pridonijela ukupnoj aromi kompleksa (od 11 % do 18 %) nego li aromi čistog soka maline (8 %). Drvenasta (α -terpinolen, gvajakol, α -cedrol, α -terpineol, β -damascenon) kao i zelena aromatska nota (2-nonenal, mentol, oktanal, mirtenol, heksil salicilat) u manjoj mjeri su utjecale na ukupni aromatski profil kompleksa (od 11 % do 13,5 %) u odnosu na sok maline (18 %). Tijekom skladištenja mijenjali su se omjeri specifičnih aromatskih nota. Voćna aromatska nota postala je dominantna u kompleksima. Doprinos voćne note iznosio je od 16 % do 30 %. Bobičasta, citrus i cvjetna aroma bile su uravnotežene. Doprinos cjelokupnoj aromi tih spojeva u navedenim kompleksima bio je u rasponu od 14 % do 22 %.

Hlapljive tvari soka višnje i kompleksa celuloza/višnja su podijeljene u pet skupina specifične aromatske note: zelena, citrusna, cvjetna, bobičasta i voćna koje u kombinaciji zajedno daju cjelokupni aromatski profil višnje. Na **Slici 30** prikazana je usporedba aromatskog profila soka višnje i kompleksa celuloza/višnja nakon pripreme i nakon skladištenja ovisno o vremenu kompleksiranja od 15 minuta dok je na **Slici 31** prikazana usporedba aromatskog profila soka višnje i kompleksa celuloza/višnja nakon pripreme i nakon skladištenja ovisno o vremenu kompleksiranja od 60 minuta. Voćna aromatska nota (benzaldehyd, 4-propilbenzaldehyd, 2-etil-1-heksanol, dekanol) bila je najdominantnija u soku višnje (44 %), zatim citrusna (23 %), bobičasta (20 %), cvjetna (9 %) i zelena nota (2 %). Kompleksi celuloza/višnja nakon pripreme imali su nešto drugačiji aromatski profil, ali je i dalje voćna aroma bila najdominantnija. U kompleksima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta voćna nota doprinijela je od 32 % do 42 % ukupne arome, dok u je kompleksima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta doprinos bio od 39 % do 46 % ukupne arome. Doprinos citrusne arome (limonen, linalol, nonanal, dodekanal) u ukupnom aromatskom profilu kompleksa bio je od 21 % do 32 %. Cvjetna aromatska nota (dekanal, lillial, geranil aceton, geraniol, heksil cinamaldehyd, β -damascenon) bila je dominantnija u kompleksima nego li u soku višnje. Njezin udio u ukupnom aromatskom profilu kompleksa bio je u rasponu od 16 % do 22 %. Bobičasta aroma (α -jonol, α -jonon, β -jonon) pridonijela je ukupnoj aromi oko 8 % dok je zelena nota pridonijela oko 5 %. Tijekom skladištenja mijenjali su se omjeri specifičnih aromatskih nota. U skladištenim uzorcima došlo je do povećanja citrusne arome. Doprinos cijelokupnoj aromi skladištenih kompleksa bio je u rasponu od 32 % do 46 %. Kompleks 2,5 %_CV s vremenom kompleksiranja od 15 minuta imao je najveći udio citrus arome (46 %). Voćna aroma bila je druga po zastupljenosti u skladištenim kompleksima. Njezin doprinos ukupnom aromatskom profilu bio je u rasponu od 30 % do 37 %. Također, kompleks 2,5 %_CV imao je najveći udio voćne arome, ali s dužim (60 minuta) vremenom kompleksiranja. Doprinos bobičaste arome u ukupnom aromatskom profilu skladištenih kompleksa iznosio je oko 14 %, cvjetne od 6 % do 21 %, te zelene oko 5 %.

5.4. FTIR-ATR ANALIZA

Primjenom FTIR-ATR-a snimljeni su IR spektri čiste celuloze i dobivenih kompleksa celuloza/malina odnosno celuloza/višnja nakon pripreme i nakon skladištenja. Budući da su svi kompleksi imali identičan spektar i identičnu razliku u odnosu na celulozu, prikazan je samo po jedan primjer spektra kompleksa celuloza/malina i celuloza/višnja. Usporedba IR spektra čiste celuloze i kompleksa celuloza/malina prikazana je na **Slici 25**, dok su spektri usporedbe kompleksa CM nakon pripreme i nakon skladištenja prikazani na **Slici 26**. FTIR spektar čiste celuloze u skladu je sa spektrom dobivenim prema Cichosz i Masek-u (2002). Vrpca promatrana u regiji od 3660 do 2900 cm^{-1} povezana je s rasteznim vibracijama O-H i C-H veza

koje su prisutne u molekulama polisaharida (Cichosz & Masek, 2020; Hospodarova i sur., 2018; Poletta i sur., 2011; Popescu i sur., 2011; Rosa i sur., 2010). Ova regija je također identificirana u svim našim kompleksima, samo nižeg intenziteta u odnosu na celulozu. Široki pojas na 3300 cm^{-1} je povezan s vibracijskim istezanjem OH skupina u polisaharidima s inter- i intra-molekularnim vibracijama vodikovih veza u celulozi (Poletto i sur., 2011; Popescu i sur., 2011; Rosa i sur., 2010). Generalno, pojava vrpce na 2894 cm^{-1} odgovara CH rasteznim vibracijama u svim polisaharida (Poletto i sur., 2011; Popescu i sur., 2011). Osim ove regije na celulozi, postoje još dvije važne regije: $1430 - 1420\text{ cm}^{-1}$ i $900 - 890\text{ cm}^{-1}$. Prva je povezana s količinom kristalnih struktura celuloze, a druga s amorfnom frakcijom celuloze (Jonoobi i sur., 2010; Hospodarova i sur., 2018).

IR spektri celuloze i celuloza/malina kompleksa preklapaju se u području od 3400 cm^{-1} do 3200 cm^{-1} što se može pripisati istezanju O-H skupine na nekoliko veznih mjesta. Preklapanje vrpce uočeno je u području valnog broja od 2900 cm^{-1} što je pripisano simetričnom rastezanju $-\text{CH}_3$ skupine. Vrpca na 1640 cm^{-1} definira H-O-H deformaciju vode. Preklapanje vrpce na 1431 cm^{-1} i 1364 cm^{-1} pripisano je simetričnom istezanju CH_2 skupine u celulozi. Nadalje, preklapanje uočeno na području 1312 cm^{-1} posljedica je deformacijskih vibracija C-H skupina koje su dio aromatskih prstenova, a preklapanja u području 1200 cm^{-1} povezana su s promjenama C-O-C skupine. Vrpce u području 1150 cm^{-1} pripisuju se C-O isteznim vibracijama, preklapanja na 1130 cm^{-1} valnoj duljini povezana su s C-O i C-C skupinama na prstenu polisaharida, dok je preklapanje na valnoj duljini 1051 cm^{-1} dodijeljeno C-O vibracijskom istezanju. Vrpce na valnoj duljini od 1028 cm^{-1} odnose se na skupinu CH_2 i C-O i njihovo vibracijsko istezanje u kombinaciji s C-O savijanjem C-OH skupine ugljikohidrata, dok su vrpce na 894 cm^{-1} pripisane su C-C vezi (Movasaghi i sur., 2008). U usporedbi s celulozom, kompleksi celuloza/malina imali su dodatne nove vrpce na 1714 cm^{-1} , 820 cm^{-1} i 780 cm^{-1} , koje se pripisuju istezanju C=O veze (povezane s HC=O vezom na aromatskom prstenu ili C=O vezom u ketonima ili karbonilnim skupinama), deformaciji C-H prstena i vibracijskim savijanjima izvan ravnine. Općenito, intenzitet vrpce kompleksa je niži u odnosu na čistu celulozu što indicira da su funkcionalne skupine na površini vlakana vezane s fenolima. Skladišteni uzorci imali su gotovo isti IR spektar kao uzorci nakon pripreme. Izuzev područja na valnim duljinama od 1570 cm^{-1} do 1600 cm^{-1} , području od 820 cm^{-1} do 780 cm^{-1} i na području valne duljine od 690 cm^{-1} na kojima su skladišteni uzorci imali nešto veći intenzitet vrpce u odnosu na komplekse nakon pripreme, vjerojatno zbog toga što je došlo do smanjenja koncentracije fenola u uzorcima nakon skladištenja. Na **Slici 32** prikazan je IR spektar celuloze i kompleksa celuloza/višnja nakon pripreme, te na **Slici 33** spektri usporedbe kompleksa celuloza/višnja nakon pripreme i nakon skladištenja. Kao i u IR spektru kompleksa celuloza/malina utvrđeno je preklapanje spektra čiste celuloze i kompleksa kod istih valnih duljina. U usporedbi s celulozom, kompleksi celuloza/višnja imali su dodatne vrpce na

valnim duljinama 1580 cm^{-1} . Stvaranje vrpce na ovoj valnoj duljini indikator je vibracijskog istezanja C-C fenilnog prstena. Također, u regiji od 820 cm^{-1} do 780 cm^{-1} na kompleksima celuloza/višnja utvrđene su dvije vrpce kojih nije bilo na celuloza krivulji i koje pripisujemo deformaciji C-H prstena. Kod skladištenih uzoraka celuloza/višnja intezitet vrpce bio je dosta veći u odnosu na uzorke nakon pripreme. Razlog može biti kao i u CM kompleksima, a to je niža koncentracija adsorbiranih fenola u skladištenim uzorcima u odnosu na uzorke nakon pripreme.

Strukturne promjene na celulozi uzrokovane adsorpcijom polifenola soka maline i soka višnje mogu se dokazati pomoću FTIR-ATR analize. U novijim istraživanjima (Buljeta i sur., 2021, 2022b) dokazano je da dolazi do smanjenja inteziteta IR spektra prilikom adsorpcije polifenola kupine na vlakna jabuke i citrusa. To je bio slučaj i u našem istraživanju u kojem su kompleksi celuloza/malina i celuloza/višnja imali niži intezitet IR spektra nego spektar čiste celuloze. Buljeta i sur. (2022a) dokazali su FTIR analizom da dolazi do strukturnih promjena prilikom adsorpcije kvercetina na vlakna jabuke i citrusa. Pokretačka sila za njihovu interakciju pretpostavlja se da su vodikove veze i hidrofobne interakcije. Moon i sur. (2021) inkapsulirali su kvercetin na polisaharide soje/hitozan i primijetili promjene u IR spektru. Pretpostavili su da su hidrofobne veze pokretačka sila za inkapsuliranje kvercetina. U istraživanju Savića i sur. (2015), gdje je kvercetin inkapsuliran na (2-hidroksipropil)- β -ciklodekstrin, vrpce nosača bile su dominantnije u spektru u odnosu na vrpce nosača i kvercetina, što je bio slučaj i u našem istraživanju. Kopjar i sur. (2023) dokazali su da dolazi do promjene na IR spektrima adsorpcijom fenolnih kiselina na celulozu. Kompleksiranjem celuloze s galnom kiselinom ili kafeinskom kiselinom došlo je do porasta inteziteta IR spektra kompleksa u odnosu na čistu celulozu. Galna i kafeinska kiselina imaju fenolne OH skupine i jednu karboksilnu skupinu stoga im njihova struktura omogućuje vezanje vodikovim vezama. FTIR analiza potvrdila je teoriju da je preko vodikovih veza došlo do interakcije između fenolnih kiselina i celuloze. Druge studije također su dokazale da su promjene na IR spektrima vidljive nakon vezanja fenola na celulozu (Vukoja i sur., 2021). U studiji Abdelwahaba i Amina (2013) uočeno je da se intenzitet vrpce na IR spektrima smanjuje nakon adsorpcije fenola iz vodene otopine na *Luffa cylindrica* vlakna. Naglasili su da su funkcionalne skupine površine vlakana zauzete fenolima, ali i da je došlo do prodora u međuslojni prostor vlakna.

DO NOT COPY

6. ZAKLJUČAK

U ovom istraživanju pripremljeni su liofilizirani kompleksi soka maline odnosno soka višnje (konstantna količina) i celuloze (2,5 %, 5 %, 7,5 % i 10 %). Ispitivana je adsorpcija fenolnih komponenti, antocijana i proantocijanidina na celulozu, antioksidacijska aktivnost dobivenih kompleksa celuloza/malina i celuloza/višnja, promjena boje kompleksa, te adsorpcija hlapljivih komponenti na celulozu. Ujedno je i definirana promjena u strukturi kompleksa u odnosu na čistu celulozu kao posljedica adsorpcije komponenata odabranih sokova. Pripremljeni kompleksi skladišteni su 12 mjeseci pri sobnoj temperaturi te su analize provedene nakon skladištenja kako bi se utvrdila stabilnost kompleksa tijekom skladištenja.

Na temelju istraživanja, dobivenih rezultata te provedene rasprave može se zaključiti sljedeće:

Hipoteza 1: *Adsorpcija fenola na celulozu ovisi o količini celuloze*

- Količina celuloze imala je utjecaj na adsorpciju fenola, antocijana i proantocijanidina u kompleksima celuloza/malina i celuloza/višnja.
- U kompleksima celuloza/malina i celuloza/višnja najveći udio adsorbiranih ukupnih fenola i antocijana imali su kompleksi s najmanjim udjelom celuloze tj. s udjelom celuloze od 2,5 % dok su najmanji udio ukupnih fenola i antocijana imali kompleksi s najvećim udjelom celuloze tj. s udjelom celuloze od 10 %. Također, koncentracija proantocijanidina u kompleksima celuloza/višnja bila je najveća u uzorcima s 2,5 % celuloze, a najniža u uzorcima s 10 % celuloze.
- Primjenom svih metoda (DPPH, ABTS, CUPRAC i FRAP) utvrđeno je da su najveću antioksidacijsku aktivnost imali kompleksi celuloza/malina i celuloza/višnja s udjelom celuloze od 2,5 %.
- Adsorpcijom fenolnih komponenti maline i višnje na celulozu došlo je do značajne promjene boje kompleksa. L^* vrijednost celuloze se smanjila odnosno kompleksi su postali tamniji. Povećanjem količine celuloze povećavala se je i vrijednost L^* odnosno kompleksi su bili sve svjetliji. Adsorpcijom fenola maline odnosno višnje, b^* vrijednost se je značajno smanjila, a a^* vrijednost se je povećala odnosno kompleksi su poprimili crveno-ljubičastu boju te je žuta boja celuloze na taj način prikrivena. Adsorpcijom fenola maline i višnje došlo je do značajne promjene tona boje ($^{\circ}h$). Najveća promjena boje (ΔE) uzorka u odnosu na čistu celulozu utvrđena je u kompleksima celuloza/malina i celuloza/višnja s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %).
- Tijekom kompleksiranja celuloze sa sokom maline odnosno sokom višnje došlo je do promjene u IR spektru kompleksa u odnosu na čistu celulozu zbog vezivanja komponenata iz maline odnosno višnje na celulozu. Utvrđeno je preklapanje spektra čiste celuloze i kompleksa celuloza/malina i celuloza/višnja kod istih valnih brojeva. Rezultati dobiveni usporedbom FTIR spektara indiciraju da je došlo do promjene na -OH vezi, na C-C vezi (istezanje) fenilnog prstena, na C=O vezi te na C-H vezi.

Hipoteza 2: Adsorpcija fenola na celulozu ovisi o vrsti i svojstvima fenola

- U kompleksima celuloza/malina bilo je prisutno 10 polifenola soka maline, pripadali su skupini antocijana (cijanidin-3-soforozid, cijanidin-3-glukozil-rutinozid, cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-rutinozid), fenolnih kiselina (elaginska kiselina i njezina tri derivata) i flavonola (kvercetin i kvercetin derivat 1). U najvećoj koncentraciji detektiran je antocijan cijanidin-3-soforozid. Najveći udio adsorbiran je u kompleksima s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %_{CM}). Drugi najzastupljeniji fenol u kompleksima celuloza/malina bila je elaginska kiselina koja pripada skupini hidroksibenzojevih kiselina. Koncentracija elaginske kiseline bila je najveća u uzorku s 2,5 % celuloze, a najmanja u uzorku s 10 % celuloze.
- U kompleksima celuloza/višnja bilo je prisutno sedam polifenola soka višnje, pripadali su skupini antocijana (cijanidin-3-glukozil-rutinozid, cijanidin-3-rutinozid), fenolnih kiselina (neoklorogenska kiselina, klorogenska kiselina) i flavonola (rutin, kvercetin i kempferol). Od antocijana u najvećoj koncentraciji detektiran je cijanidin-3-rutinozid. Kompleks 2,5 %_{CV} imao je najveću koncentraciju cijanidin-3-rutinozida. Od ostalih fenola, u najvećoj koncentraciji određena je klorogenska kiselina. Također kompleks 2,5 %_{CV} imao je najveću koncentraciju ove fenolne kiseline. Najveće koncentracije svih polifenolnih spojeva bile su u kompleksima s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %). Povećanjem udjela celuloze od 2,5 % do 10 % smanjivala je se i koncentracija pojedinačnih polifenola u kompleksima.

Hipoteza 3: Adsorpcija hlapljivih komponenti na celulozu ovisi o količini celuloze te fizikalno-kemijskim karakteristikama hlapljivih komponenti

- Istraživanjem je dokazano da adsorpcija hlapljivih komponenti na celulozu ovisi o količini celuloze, ali i o količini i fizikalno-kemijskim karakteristikama samih hlapljivih spojeva. GC-MS analizom potvrđeno je vezanje 35 hlapljivih komponenti soka maline odnosno 19 hlapljivih komponenti soka višnje na celulozu. U kompleksima celuloza/malina najzastupljenija skupina hlapljivih spojeva bili su terpeni. Terpeni α -jonon i β -jonon, nositelji malina arome, u najvećoj koncentraciji utvrđeni su u uzorcima s 2,5 % celuloze. U kompleksima celuloza/višnja najzastupljenija skupina bili su aldehidi i ketoni. Benzaldehida, nositelja višnja arome najviše je bilo u kompleksu 7,5 %_{CV}.
- Hlapljivi spojevi aromatske note bobičastog voća koji su karakteristični za aromu maline zadržani su u formuliranim kompleksima celuloza/malina. Njihov doprinos ukupnom aromatskom profilu CM kompleksa bio je najveći (20 % do 36 %). U kompleksima celuloza/višnja najdominantniji hlapljivi spojevi bili su oni s voćnom aromatskom notom kojoj pripada i benzaldehid. Najveći postotak voćne aromatske note (preko 45 %) utvrđen je u kompleksima s udjelom celuloze od 7,5 %.

Hipoteza 4: Adsorpcija fenola i hlapljivih komponenti na celulozu ovisi o vremenu kompleksiranja celuloze i sokova maline/višnje

- Vrijeme kompleksiranja utjecalo je na adsorpciju fenola, antocijana i proantocijanidina u kompleksima celuloza/malina i celuloza/višnja.
- U kompleksima celuloza/malina i celuloza/višnja najveći udio adsorbiranih ukupnih fenola i antocijana imali su kompleksi s kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta). Kompleks celuloza/višnja s vremenom kompleksiranja od 15 minuta imao je najveću koncentraciju proantocijanidina.
- Koncentracija pojedinačnih fenola (cijanidin-3-soforozida, zatim elaginske kiseline, cijanidin-3-glukozida, kvercetina i ostalih) u kompleksima celuloza/malina bila je veća u uzorcima s kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta). U kompleksima celuloza/višnja također se pokazalo da se koncentracija cijanidin-3-glukozil-rutinozida, cijanidin-3-rutinozida, neoklorogenske kiseline, klorogenske kiseline, rutina, kvercetina i kempferola smanjila dužim (60 minuta) vremenom kompleksiranja. Kod obje vrste kompleksa i kraćim i dužim vremenom kompleksiranja poredak prema zastupljenosti pojedinačnih polifenola ostao je isti kao i nakon pripreme. U kompleksima CM najzastupljeniji je bio cijanidin-3-soforozid, a u kompleksima CV najzastupljeniji bio je cijanidin-3-rutinozid.
- Najveću antioksidativnu aktivnost u imali su kompleksi celuloza/malina s kraćim (15 minuta) vremenom kompleksiranja. Kompleksi celuloza/višnja s vremenom kompleksiranja od 60 minuta imali su najveću antioksidacijsku aktivnost prema DPPH metodi, dok su prema ABTS, FRAP i CUPRAC metodi najveću antioksidacijsku aktivnost imali CV kompleksi s vremenom kompleksiranja od 15 minuta.
- Najveća promjena boje (ΔE) uzorka u odnosu na čistu celulozu utvrđena je u kompleksima celuloza/malina i celuloza/višnja s kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta).
- Vrijeme kompleksiranja utjecalo je na adsorpciju hlapljivih komponenti soka maline i soka višnje na celulozu. U celuloza/malina kompleksima hlapljivi spojevi aromatske note bobičastog voća u najvećoj koncentraciji utvrđeni su u kompleksima s vremenom kompleksiranja od 15 minuta. Produženo vrijeme kompleksiranja (60 minuta) dovelo je do smanjenja koncentracije ovih spojeva. U kompleksima celuloza/višnja najveći postotak voćne arome kojoj pripada benzaldehid, karakterističan spoj koji je nositelj višnja arome, utvrđen je u kompleksima s vremenom kompleksiranja od 60 minuta.

Hipoteza 5: Vrsta fenolnih i hlapljivih komponentata utječe na stabilnost kompleksa tijekom skladištenja.

- U skladištenim celuloza/malina i celuloza/višnja kompleksima najveću koncentraciju ukupnih fenola i antocijana imali su uzorci s udjelom celuloze od 2,5 % i vremenom kompleksiranja od 15 minuta. Također, koncentracija proantocijanidina u skladištenim celuloza/višnja kompleksima bila je najveća u uzorcima s udjelom celuloze od 2,5 % i kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta).
- U kompleksima celuloza/malina najveće (100 %) zadržavanje ukupnih fenola bilo je u kompleksima 5 %_CM i 7,5 %_CM s vremenom kompleksiranja od 15 minuta, antocijana u kompleksu 2,5 %_CM s vremenom kompleksiranja od 15 minuta. Kod celuloza/višnja skladištenih uzoraka najveće zadržavanje ukupnih fenola i proantocijanidina bilo je u kompleksima 2,5 %_CV s vremenom kompleksiranja od 15 minuta, a antocijana u kompleksima 7,5%_CV s vremenom kompleksiranja od 60 minuta.
- U skladištenim celuloza/malina uzorcima najveći postotak zadržavanja antocijana (cijanidin-3-soforozida, cijanidin-3-glukozil-rutinozida, cijanidin-3-glukozida, cijanidin-3-rutinozida) utvrđen je u kompleksima s 10 % celuloze. Nakon skladištenja došlo je do povećanja koncentracije elaginske kiseline (100 % zadržavanje). Najveća koncentracije bila je u uzorku 2,5 %_CM i vremenom kompleksiranja od 15 minuta.
- Nakon skladištenja celuloza/višnja kompleksa koncentracija antocijana bila je najveća u uzorcima 2,5 %_CV i vremenom kompleksiranja od 15 minuta. U najvećoj koncentraciji utvrđena je klorogenska kiselina, i to u kompleksu 2,5 %_CV s postotkom zadržavanja od 94 %.
- Nakon 12 mjeseci skladištenja, antioksidacijska aktivnost u celuloza/malina kompleksima bila je veća u odnosu na uzorke nakon pripreme, dok je u kompleksima celuloza/višnja antioksidacijska aktivnost nakon skladištenja bila manja u odnosu na komplekse nakon pripreme.
- Količina celuloze značajno je utjecala na zadržavanje hlapljivih tvari tijekom skladištenja. U skladištenim celuloza/malina kompleksima terpeni su bili najzastupljenija klasa hlapljivih spojeva, a zatim aldehidi i alkoholi. Zadržavanje terpena bilo je najveće u uzorcima 7,5 %_CM i 10 %_CM. Nakon 12 mjeseci skladištenja voćna aroma ostala je dominantna u soku višnje, kao i u kompleksima, izuzev uzorka 2,5 %_CV u kojem je dominantnija bila citrus aroma. Najveće zadržavanje benzaldehida bilo je u uzorku 10 %_CV.
- U skladištenim uzorcima L * vrijednosti slijedile su isti trend kao i L * vrijednosti za komplekse nakon pripreme, a* i b* vrijednosti također su bile najveće u

kompleksima s najmanjim udjelom celuloze (2,5 %) i kraćim vremenom kompleksiranja (15 minuta).

Ovo istraživanje je dobra podloga za razvoj novih i/ili za poboljšanje već postojećih prehrambenih proizvoda. Buduća istraživanja trebala bi se usmjeriti na formuliranje proizvoda s dodatkom nosača na bazi celuloze te istraživanju pravog utjecaja dobivenih kompleksa na antioksidacijsku stabilnost, na promjenu boje i arome proizvoda u koja se dodaju. Utvrđivanje stabilnosti obogaćenih proizvoda tijekom vremena kao i senzorska analiza istih dali bi vrijedan uvid u stvarni utjecaj kompleksa na kvalitetu proizvoda.

DO NOT COPY

DO NOT COPY

7. LITERATURA

- Abdelwahab O, Amin NK: Adsorption of phenol from aqueous solutions by *Luffa cylindrica* fibers: Kinetics, isotherm and thermodynamic studies. *Egyptian Journal of Aquatic Research* 39, 215–223, 2013.
- Aherne SA, O'Brien NM: Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition* 18, 75-81, 2002.
- Alexander P, Brown C, Arnehtc A, Finnigan J, Moran D, Rounsevell MDA: Losses, inefficiencies and waste in the global food system. *Agricultural Systems* 153, 190–200, 2017.
- Allan MC, Rajwa B, Mauer LJ: Effects of sugars and sugar alcohols on the gelatinization temperature of wheat starch. *Food Hydrocolloids* 84, 593–607, 2018.
- Alvarez-Lorenzo C, Blanco-Fernandez B, Puga AM, Concheiro A: Crosslinked ionic polysaccharides for stimuli-sensitive drug delivery. *Advanced Drug Delivery Review* 1148-1171, 2013.
- Anderson JW, Baird P, Davis RH Jr, Ferreri S, Knudtson M, Koraym A, Waters V, Williams CL: Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Review*, 67(4):188-205, 2009.
- Apak R, Guculu KG, Ozyurek M, Karademir SE: Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric iron reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 7970–7981, 2004.
- Arranz S, Saura-Calixto F, Shaha S, Kroon PA, High contents of nonextractable polyphenols in fruits suggest that polyphenol contents of plant foods have been underestimated. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(16):7298-303, 2009.
- Arts IC, Hollman PC, Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition* 81(1):317S–25S, 2005.
- Arvisenet G, Ball LP, Voilley A, Cayot N: Influence of physicochemical interaction between amylose and aroma compounds on the retention of aroma in food-like matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 7088–7093, 2002a.
- Arvisenet G, Voilley A, Cayot N: Retention of aroma compounds in starch matrices: Competitions between aroma compounds towards amylose and amylopectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 7345–7349, 2002b.
- Astray G, Mejuto JC, Morales J, Rial-Otero R, Simal-Gándara J: Factors controlling flavors binding constants to cyclodextrins and their applications in foods. *Food Research International* 43, 1212–1218, 2010.
- Azofeifa G: Study of the health promoting properties of the tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos*) and the impact of digestion and pasteurization processes. *Disertacija*. Universite Montpellier, 2014.
- Bačić T, Sabo M: *Filogenetska sistematika stablašica (Embriophyta-Cormophyta)*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2006.

- Bahramparvar M, Mazaheri Tehrani M, Razavi, SMA: Effects of a novel stabilizer blend and presence of κ -carrageenan on some properties of vanilla ice cream during storage. *Food Bioscience* 3:10–18, 2013.
- Bajerska J, Mildner-Szkudlarz S, Gornas P, Seglina D: The effects of muffins enriched with sour cherry pomace on acceptability, glycemic response, satiety and energy intake: a randomized crossover trial. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96:2486-2493, 2016.
- Barasi ME: *Human Nutrition - a health perspective*. 2 nd ed, Hodder Arnold, London, 2003.
- Beekwilder J, Jonker H, Meesters P, Hall RD, van der Meer IM, Ric deVos CH, Antioxidants in raspberry: on-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:3313–20, 2005.
- Benzie IF, Strain JJ: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239:70–79, 1996.
- Berger RG: *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Springer, 2007.
- Bhandari B, D’Arcy B, Young G: Flavor retention during high temperature short time extrusion cooking process: A review. *International Journal of Food Sciences and Technology* 36:453–461, 2001.
- Bhanja T, Kumari A, Banerjee R: Enrichment of phenolics and free radical scavenging property of wheat koji prepared with two filamentous fungi. *Bioresource Technology* 100 (11): 2861–2866, 2009.
- Bharimalla AK, Deshmukh SP, Patil PG, Vigneshwaran N: Energy efficient manufacturing of nanocellulose by chemo- and bio-mechanical processes: A review. *World Journal of Nano Science and Engineering* 5:204–212, 2015.
- Bhatta S, Stevanovic Janezic T, Ratti C: Freeze-Drying of Plant-Based Foods. *Foods* 9:87, 2020.
- Bobé G, Wang B, Seeram NP, Nair MG, Bourquin LD: Dietary anthocyanin-rich tart cherry extract inhibits intestinal tumorigenesis in APC(Min) mice fed suboptimal levels of sulindac. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:9322-9328, 2006.
- Boland BA, Burh K, Giannouli P, Ruth MS: Influence of gelatine, starch, pectin and artificial saliva on the release of 11 flavor compounds from model gel systems. *Food Chemistry* 86:401–411, 2004.
- Boland BA, Delahunty MC, Ruth MS: Influence of texture of gelatin gels and pectin’s gels on strawberry flavour release and perception. *Food Chemistry* 96:452–460, 2006.
- Bonerz D, Wurth K, Dietrich H, Will F: Analytical characterization and the impact of ageing on anthocyanin composition and degradation in juices from five sour cherry cultivars. *European Food Research and Technology* 224:355–364, 2007.

- Bordenave N, Hameker BR, Feruzzi MG: Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in foods. *Food Function* 5:18–34, 2014.
- Borejsza-Wysocki W, Hrazdina G: Biosynthesis of p-hydroxyphenylbutan-2-one in raspberry fruits and tissue cultures. *Phytochemistry* 35:623–628, 1994.
- Brand-William W, Cuvelier ME, Berset C: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie* 28:25–30, 1995.
- Bravo L: Polyphenols, chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56:317–333, 1998.
- Brouillard R: Chemical structure of anthocyanins. U *Anthocyanins as Food Colors*. Pericles Markakis (ed.), Academic Press Inc, New York, 1–38, 1982.
- Buljeta I, Ćorković I, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: (2022a). Application of citrus and apple fibers for formulation of quercetin/fiber aggregates: Impact of quercetin concentration. *Plants*, 11(24), art. no. 3582, 2022a.
- Buljeta I, Nosić M, Pichler A, Ivić I, Šimunović J, Kopjar M: Apple Fibers as Carriers of Blackberry Juice Polyphenols: Development of Natural Functional Food Additives. *Molecules* 27:3029, 2022b.
- Buljeta I, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: Polyphenols and Antioxidant Activity of Citrus Fiber/Blackberry Juice Complexes. *Molecules* 26:4400, 2021.
- Burton-Freeman B: Dietary fiber and energy regulation. *Journal of Nutrition* 130:272S–275S, 2000.
- Burton-Freeman BM, Sandhu AK, Edirisinghe I: Red Raspberries and Their Bioactive Polyphenols: Cardiometabolic and Neuronal Health Links. *Advances in Nutrition* 7(1):44–65, 2016.
- Cao G, Sofic E, Prior RL: Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine* 22(5):749–60, 1997.
- Cartalade D, Vernhet A: Polar interactions in flavan-3-ol adsorption on solid surfaces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:3086–3094, 2006.
- Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández ML, Paéz-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA: Chemical studies of anthocyanins. *Food Chemistry* 113:859–871, 2009.
- Chantaro P, Devahastin S, Chiewchan N: Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *Lwt - Food Science and Technology* 41:1987–1994, 2008.
- Chattopadhyaya S, Singhal RS, Kulkarni PR: Oxidized starch as gum arabic substitute for encapsulation of flavors. *Carbohydrate Polymers* 37:43–144, 1998.

- Chen L, Ren F, Zhang Z, Tong Q, Rashed MM: Effect of pullulan on the short-term and long-term retrogradation of rice starch. *Carbohydrate Polymers* 115:415–421, 2015.
- Childs NM: Functional foods and the food industry. *Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods* 1(2):25–43, 2016.
- Cichosz S, Masek A: IR study on cellulose with the varied moisture contents: insight into the supramolecular structure. *Materials* 13(20):4573, 2020.
- Ciolacu DE, Darie RN: Nanocomposites based on cellulose, hemicelluloses, and lignin. U *Nanomaterials and Nanocomposites: Zero- to Three-Dimensional Materials and Their Composites*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 391–424, 2016.
- Clifford MN: Anthocyanins-nature occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:1063-1072, 2000.
- Costa TS, Rogez H, Pena RS: Adsorption capacity of phenolic compounds onto cellulose and xylan. *Food Science and Technology* 35:314–320, 2015.
- Cropotova J, Popel S, Parshakova, L: Development of heat-stable fruit fillings using gellan gum as stabilizer. *Science Papers* 291–295, 2013.
- Cui S, Li M, Zhang S, Liu J, Sun Q, Xiong L: Physicochemical properties of maize and sweet potato starches in the presence of cellulose nanocrystals. *Food Hydrocolloids* 77:220–227, 2017.
- Czompa A, Gyongyosi A, Czegledi A, Csepányi E, Bak I, Haines DD, Tosaki A, Lekli I: Cardioprotection afforded by sour cherry seed kernel: the role of heme oxygenase-1. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 64:412–419, 2014.
- Da Porto C, Calligaris S, Celotti E, Nicoli MC: Antiradical properties of commercial cognacs assessed by the DPPH test. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:4241–4245, 2000.
- Da Silva FL, Escribano-Bailón MT, Pérez Alonso JJ, Rivas-Gonzalo JC, Santos-Buelga C: Anthocyanin pigments in strawberries. *LWT - FoodSci Technol (Campinas)* 40:374–82, 2007.
- Damar I, Ekşi A: Antioxidant capacity and anthocyanin profile of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) juice. *Food Chemistry* 135:2910–2914, 2012.
- Dhar P, Bhardwaj U, Kumar A, Katiyar V: Cellulose nanocrystals: A potential nanofiller for food packaging applications. *ACS Symposium Series* 1162:197–239, 2014.
- Dincheva I, Badjakov I, Kondakova V, Dobson P, McDougall G, Stewart D: Identification of the phenolic components in Bulgarian raspberry cultivars by LC-ESI-MS. *International Journal of Agricultural Science and Research* 3:127-138, 2013.
- Dossett M, Lee J, Finn CE: Characterization of a novel anthocyanin profile in wild black raspberries mutants: an opportunity for studying the genetic control of pigment color. *Journal of Functional Foods* 3:207–14, 2011.

- Dugas Jr AJ, Castaneda-Acosta J, Bonin GC, Price KL, Fischer NH, Winston GW: Evaluation of the total peroxy radical scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships. *Journal Natural Products* 63:327–331, 2000.
- Dunkel M, Schmidt U, Struck S, Berger L, Gruening B, Hossbach J, Jaeger IS, Effmert U, Fehr C, Guntern O: Efficient synthesis of enantiomerically pure α -ionone from (r)- and (s)- α -damascone. *Helvetica Chimica Acta* 75:1023–1028, 1992.
- El Hadi MAM, Zhang FJ, Wu FF, Zhou CH, Tao J: Advances in fruit aroma volatile research. *Molecules* 18:8200-8229, 2013.
- Fathi M, Karim M, Ahmadi N: Nanostructures of cellulose for encapsulation of food ingredients. U *Biopolymer Nanostructures for Food Encapsulation Purposes*, Jafri, S, Ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2019.
- Fehr C, Guntern O: Efficient Synthesis of Enantiomerically Pure α -Ionone from (R)- and (S)- α -Damascone. *Helvetica Chimica Acta* 75:1023–1028, 1992.
- Ferrer A, Pal L, Hubbe M: Nanocellulose in packaging: Advances in barrier layer technologies. *Industrial crops and products* 95:574-582, 2017.
- Fortalezas S, Tavares L, Pimpao R, Tyagi M, Pontes V, Alves PM, McDougall G, Stewart D, Ferreira RB, Santos CN: Antioxidant properties and neuroprotective capacity of strawberry tree fruit (*Arbutus unedo*). *Nutrients* 2(2):214–29, 2010.
- Fortunati E, Peltzer M, Armentano I, Torre L, Jimenez A, Kenny JM: Effects of modified cellulose nanocrystals on the barrier and migration properties of PLA nanobiocomposites. *Carbohydrate Polymers* 90(2):948–956, 2012.
- Francis J: Food colorants: anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 28: 273–314, 1989.
- Galmarini MV, van Baren C, Zamora MC, Chirife J, Di Leo Lira P, Bandoni A: Impact of trehalose, sucrose and/or maltodextrin addition on aroma retention in freeze dried strawberry puree. *International Journal of Food Science and Technology* 46:1337–1345, 2011.
- Galmarini, MV, Zamora MC, Baby R, Chirife J, Mesina V: Aromatic profiles of spray-dried encapsulated orange flavors: Influence of matrix composition in the aroma retention evaluated by sensory analysis and electronic nose technique. *International Journal of Food Science and Technology* 43:1569–1576, 2008.
- Generalić, E. "Literatura." *Englesko-hrvatski kemijski rječnik i glosar*. 20 Oct. 2018. KTF-Split. 24 Aug. 2023. <<https://glossary.periodni.com>>.
- Geueke B, Groh K, Muncke J: Food packaging in the circular economy: Overview of chemical safety aspects for commonly used materials. *Journal of Cleaner Production* 193:491–505, 2018.
- Godshall MA: How carbohydrates influence food flavor. *Food Technology* 51:63–67, 1997.

- Gómez HC, Serpa A, Velásquez-Cock J, Gañán P, Castro C, Vélez L: Vegetable nanocellulose in food science: A review. *Food Hydrocolloids* 57:178–186, 2016.
- Goubet I, Le Quere LJ, Voilley JA: Retention of aroma compounds by carbohydrates: Influence of their physicochemical characteristics and their physical state, A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46:1981-1990, 1998.
- Grussu D, Stewart D, McDougall GJ, Berry polyphenols inhibit α -amylase in vitro: identifying active components in rowanberry and raspberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:2324-31, 2011.
- Gumrah Dumanli A: Nanocellulose and its composite for biomedical application. *Current Medical Chemistry* 23:999, 2016.
- Gunness P, Gidley MJ: Mechanisms underlying cholesterol-lowering properties of soluble dietary fibre polysaccharides. *Food and Function* 1:149-155, 2010.
- Guo Q, Ma Q, Xue Z, Gao X, Chen H: Studies on the binding characteristics of three polysaccharides with different molecular weight and flavonoids from corn silk (Maydis stigma). *Carbohydrate Polymers* 198:581–588, 2018.
- Halliwell B: Biochemistry of Oxidative Stress. *Biochemistry-chemical Society Transactions* 35(5):1147–1150, 2007.
- Hansson A, Andersson J, Leufven A: The effect of sugar and pectin on flavor release from soft drink-related a model system. *Food Chemistry* 72:363–368, 2001.
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ: Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13:572–84, 2002.
- Helkar PB, Sahoo, AK: Review: Food Industry by-products used as a functional food ingredients. *International Journal of Waste Resources* 6:100–248, 2016.
- Hemmati F, Jafari SM, Kashaninejad M, Motlagh MB: Synthesis and characterization of cellulose nanocrystals derived from walnut shell agricultural residues. *International Journal of Biological Macromolecules* 120:1216–1224, 2018.
- Heyang J, Fei X, Jiang C, Yaping Z, Lin H: Nanoencapsulation of lutein with hydroxypropylmethylcellulose phthalate by supercritical antisolvent. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 17:672–677, 2009.
- Hollman PCH, Arts ICW: Flavonols, flavones and flavanols-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:1081-1093, 2000.
- Homoki J R, Nemes A, Fazekas E, Gyemant G, Balogh P, Gal F, Al-Asri J, Mortier J, Wolber, G, Babinszky L, Remenyik J: Anthocyanin composition, antioxidant efficiency, and α -amylase inhibitor activity of different Hungarian sour cherry varieties (*Prunus cerasus* L.). *Food Chemistry* 194:222-229, 2016.
- Honkanen E, Pyysalo T, Hirvi T: The aroma of Finnish wild raspberries, *Rubus idaeus*, L. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* 171:180–182, 1980.

- Hospodarova V, Singovszka E, Stevulova N: Characterization of cellulosic fibers by FTIR spectroscopy for their further implementation to building materials. *American Journal of Analytical Chemistry* 9(6):303-310, 2018.
- Huq T, Frascini C, Khan A, Riedl B, Bouchard J, Lacroix M: Alginate based nanocomposite for microencapsulation of probiotic: Effect of cellulose nanocrystal (CNC) and lecithin. *Carbohydrate Polymers* 168:61–69, 2017.
- Ikan R: *Naturally Occurring Glycosides*, John Wiley: Chichester, UK; New York, NY, USA, 1999.
- Ivanova I, Iliev I, Haertle T, Chobert JM: *Food or Medicine? Future of Lactic Acid Bacteria*, Sofia University, Sofia, 2013.
- Jaeger SR, McRae JF, Bava CM, Beresford MK, Hunter D, Jia Y, Chheang SL, Jin D, Peng M, Gamble JC, Atkinson KR, Axten LG, Paisley AG, Tooman L, Pineau B, Rouse SA, Newcomb RD: A Mendelian Trait for Olfactory Sensitivity Affects Odor Experience and Food Selection. *Current Biology* 23:1601–1605, 2013.
- Jakobek L, Matic P, Ištuk J, Barron AR: Study of interactions between individual phenolics of aronia with barley beta-glucan. *Polish Journal of Food and Nutrition Science* 71:187–196, 2021.
- Jakobek L, Matic P, Kraljević S, Ukić S, Benšić M, Barron AR: Adsorption between quercetin derivatives and β -glucan studied with a novel approach to modeling adsorption isotherms. *Applied Sciences* 10(5):1637, 2020.
- Jakobek L, Matic P: Non-covalent dietary fiber-polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility. *Trends in Food Science and Technology* 83:235-247, 2019.
- Jakobek L, Seruga M, Novak I, Medvidovic-Kosanovic M: Flavonols, phenolic acids and antioxidant activity of some red fruits. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 103:369–78, 2007.
- Jiménez Saelices C, Capron I: Design of pickering micro-and nanoemulsions based on the structural characteristics of nanocelluloses. *Biomacromolecules* 19:460–469, 2018.
- Jonoobi M, Harun J, Mathew AP, Hussein MZB, Oksman K: Preparation of cellulose nanofibers with hydrophobic surface characteristics. *Cellulose* 17:299-307, 2010.
- Kassim A, Poette J, Paterson A, Zait D, McCallum S, Woodhead M, Smith K, Hackett C, Graham J, Environmental i seasonal influ-ences on red raspbobičasta anthocyanin antioxidant contents i identi-fication of quantitative traits loci (QTL). *Molecular Nutrition & Food Research* 53:625–34, 2009.
- Kaur C and Kapoor HC: Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health. *International Journal of Food Science & Technology* 36:703–725, 2001.
- Khalil HPSA, Davoudpour Y, Islam MN, Mustapha A, Sudesh K, Dungani R, Jawaid M: Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes; a review. *Carbohydrate Polymer* 99:649-665, 2014.

- Kilic A, Kollmannsberger H, Nitz S: Glycosidically Bound Volatiles and Flavor Precursors in *Laurus nobilis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:2231–2235, 2005.
- Kim CH, Maga JA: Chain length and functional group impact on retention during extrusion. In *Thermally Generated Flavors: Mallard, Microwave and Extrusion Processes*; Parliament, T.H. Morello, M.J., McGorin, R.J., Eds.; American Chemical Society: Washington DC, USA, 105–153, 1994.
- Kirakosyan A, Seymour E M, Llanes DEU, Kaufman PB, Bolling SF: Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products. *Food Chemistry* 115:20-25, 2009.
- Klemm D, Heublein B, Fink HP, Bohn A: Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 44(22):3358-2293, 2005.
- Koh J, Xu Z, Wicker L: Blueberry pectin and increased anthocyanins stability under in vitro digestion. *Food Chemistry* 302:125-343, 2020.
- Kondo T: Nematic ordered cellulose: Its structure and properties. U *Cellulose: Molecular and Structural Biology*, Springer: Cham, Switzerland, 285–305, 2007.
- Kopjar M, Vukoja J, Buljeta I, Ćorković I, Pichler A, Šimunović J: Formulation and Stability of Cellulose Particles Enriched with Phenolic Acids. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 73(4):322-331, 2023.
- Kopjar M, Buljeta I, Nosić M, Ivić I, Šimunović J, Pichler A: Encapsulation of Blackberry Phenolics and Volatiles Using Apple Fibers and Disaccharides. *Polymers* 14:2179, 2022.
- Kopjar M, Hribar J, Simčić M, Zlatić E, Tomaž P, Piližota V: Effect of trehalose addition on volatiles responsible for strawberry aroma. *Natural Product Communications* 8:1767–1770, 2013.
- Kopjar M, Piližota V, Hribar J, Simčić M, Zlatić E, Tiban NN: Influence of trehalose addition and storage conditions on the quality of strawberry cream filling, *Journal of Food Engineering* 87:341–350, 2008.
- Krešić G: *Trendovi u prehrani*, Fakultet za menadžment u turizmu i ugostiteljstvu, Opatija, 2012.
- Kumar A, Rao KM, Han SS: Application of xanthan gum as polysaccharide in tissue engineering: A review. *Carbohydrate Polymers* 180:128–144, 2018.
- Lachin T: Effect of antioxidant extract from cherries on diabetes. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery* 8:67–74, 2014.
- Larsen M, Poll L, Callesen O, Lewis M: Relations between the Content of Aroma Compounds and the Sensory Evaluation of 10 Raspberry Varieties (*Rubus idaeus* L). *Acta Agriculturae Scandinavica* 41:447–454, 1991.

- Le Bourvellec C, Bouchet B, Renard C: Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part III: Study on model polysaccharides. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects* 1725:10–18, 2005b.
- Le Bourvellec C, Guyot S, Renard C: Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material: Part I. Effect of some environmental parameters. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects* 1672:192–202, 2004.
- Le Bourvellec C, Renard C: Interactions between polyphenols and macromolecules: Quantification methods and mechanisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 52:213–248, 2012a.
- Le Bourvellec C, Renard CMGC: Non-covalent interactions between procyanidins and apple cell-wall material. Part II:Quantification and impact of cell-wall drying. *Biochimica et Biophysica Acta* 1725:1–9, 2005.
- Le Bourvellec C, Watrelot AA, Ginies C, Imberty A, Renard CMGC: Impact of processing on the non-covalent interactionsbetween procyanidins and cell-walls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60:9484–9494, 2012b.
- Levaj B, Dragović-Uzelac V, Delonga K, Kovacevic Ganic K, Banovic M, Bursac Kovacevic, D: Polyphenols and volatiles in fruits of two sour cherry cultivars, some berry fruits and their jams. *Food Technology and Biotechnology* 48(4):538-547, 2010.
- Liu D, Martinez-Sanz M, Lopez-Sanchez P, Gilbert EP, Gidley MJ: Adsorption behavior of polyphenols on cellulose is affected by processing history. *Food Hydrocolloids* 63:496–507, 2017.
- Liu R: Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science* 46(3):207–219, 2007.
- Liu S, Li X, Chen L, Li B, Li L, Zhu J: Tunable D-Limonene Permeability in Starch-Based Nanocomposite Films Reinforced by Cellulose Nanocrystals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66:979–987, 2018.
- Liu Y, Ying D, Sanguansri L, Augustin MA: Comparison of the adsorption behaviour of catechin onto cellulose and pectin. *Food Chemistry* 271:733–738, 2019.
- Liyana-Pathirana CM, Shahidi F: Importance of insoluble-boundphenolics to antioxidant properties of wheat. *Journal of Agricultural and FoodChemistry* 54(4):1256–1264, 2006.
- Llobera A, Canellas J: Antioxidant activity and sieatry fiber of Prensal Blanc white grape (*Vitis vinifera*) by products. *Interantional Journal of Food Science and Technology* 43:1953-1959, 2008.
- Lončarić A, Pichler A, Trtinjak I, Piližota V, Kopjar M: Phenolics and antioxidant activity of freeze-dried tart cherry puree with addition of disaccharides. *LWT* 73:391–396, 2016.
- Lončarić A: Utjecaj dodatka šećera i praha kore jabuka na udio polifenola i antioksidacijsku aktivnost kaša od jabuka. *Disertacija*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2014.

- López-Marcos MC, Bailina C, Viuda-Martos M, Pérez-Alvarez JA, Fernández-López J: Properties of dietary fibers from agroindustrial coproducts as source for fiber-enriched foods. *Food and Bioprocess Technology* 8:2400–2408, 2015.
- Määttä-Riihinen KR, Kamal-Eldin A, Torronen AR, Identification iquantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* i *Ru-bus* species (family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:6178–87, 2004.
- Madene A, Jacquot M, Scher J, Desobry S: Flavour encapsulation and controlled release-a review. *International Journal of Food Science & Technology* 41:1–21, 2006.
- Mamet T, Ge ZZ, Zhang Y, Li CM: Interactions between high galloilated persimmon tannins and pectins. *International Journal of Biological Macromolecules* 106:410–417, 2018.
- Manzocco L Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli MC, Lericri CR: Review of nonenzymatic browning i antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science and Technology* 11:340–346, 2001.
- Martens S, Mithöfer A: Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry* 66:2399–2407, 2005.
- Martin KR, Wooden A: Tart cherry juice induces differential dose-dependent effects on apoptosis, but not cellular proliferation, in MCF-7 human breast cancer cells. *Journal of Medicinal Food* 15:945–954, 2012.
- Mattila P, Hellström J, Törrönen R: Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:7193–7199, 2006.
- Mayta-Apaza, AC: Evaluation of The Impact of Tart Cherries Polyphenols on The Human Gut Microbiota and Phenolic Metabolites In Vitro and In Vivo. *Journal of nutritional biochemistry* 59:160-172, 2018.
- McDougall GJ, Shpiro F, Dobson P, Smith P, Blake A, Stewart D, Different polyphenolic components of soft fruits inhibit alpha-amylase and alpha-glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:2760–6, 2005.
- McGhie TK, Walton MC. The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding. *Molecular Nutrition & Food Research* 51(6):702–13, 2007.
- McRae MP, The Benefits of Dietary Fiber Intake on Reducing the Risk of Cancer: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Journal of Chiropractic Medicine* 17(2):90-96, 2018.
- Metzler BU, Mosenthin R: A Review of Interactions between Dietary Fiber and the Gastrointestinal Microbiota and Their Consequences on Intestinal Phosphorus Metabolism in Growing Pigs, Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. *Asian Australasian Association of Animal Production Societies* 21:603–15, 2008.
- Mirmiran P, Bahadoran Z, Khalili Moghadam S, Zadeh Vakili A, Azizi F, A Prospective Study of Different Types of Dietary Fiber and Risk of Cardiovascular Disease: Tehran Lipid and Glucose Study. *Nutrients* 8(11):686, 2016.

- Moon H, Lertpatipanpong P, Hong Y, Kim C, Baek SJ: Nano-encapsulated quercetin by soluble soybean polysaccharide/chitosan enhances anti-cancer, anti-inflammation, and anti-oxidant activities. *Journal of Functional Foods* 87:104–756, 2021.
- Moon RJ, Martini A, Nairn J, Simonsen J, Youngblood J: Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews* 40:3941–3994, 2011.
- Movasaghi Z, Rehman S, Rehman I: Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews* 43:134–179, 2008.
- Mu R, Hong X, Ni Y, Li Y, Pang J, Wang Q, Xiao J, Zheng Y: Recent trends and application of cellulose nanocrystals in food industry. *Trends in Food Science & Technology* 93:136–144, 2019.
- Mu RJ, Yuan Y, Wang L, Ni Y, Li M, Chen H: Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with konjac glucomannan hydrogel. *Food Hydrocolloids* 76:42–48, 2018.
- Mullen W, Lean ME, Crozier A, Rapid characterization of anthocyanins in red raspberry fruit by high-performance liquid chromatography coupled to single quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 966(1-2):63-70, 2002.
- Murray BS, Phisarnchananan N: Whey protein microgel particles as stabilizers of waxy corn starch + locust bean gum water-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids* 56:161–169, 2016.
- Mutilangi W, Pereyra R: Stabilizer system for food and beverage products. US Patent 2008/131061, filed April 17, 2008, and issued October 30, 2008.
- Myrie SB, Jones PJH: Functional foods and obesity, U: *Functional foods- concept to product*, Woodhead Publishing, Cambridge, 234–261, 2011.
- Nair SS, Zhu JY, Deng Y, Ragauskas AJ: High performance green barriers based on nanocellulose. *Sustainable Chemical Processes* 2(1):23, 2014.
- Nguyen TH, Nguyen TT, Xiaodi J, Guo M: Predicting wood color change. *BioResources* 13(3): 6250–6264, 2018.
- Nicoli MC, Calligaris S, Manzocco L: Effect of enzymatic and chemical oxidation on the antioxidant capacity of catechin model systems i apple derivats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:4576–4580, 2000.
- Nicoli MC, Anese M, Parpinel MT, Franceschi S, Lericri CR: Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. *Cancer Letters* 114:71- 74, 1997.
- Nilnakara S, Chiewchan N, Devahastin S, Production of antioxidant dietary fiber powder from cabbage outer leaves. *Food and Bioproducts Processing* 87:301–307, 2009.
- Normand MI, Moriana R, Ek M: The bark biorefinery: A side-stream of the forest industry converted into nanocomposites with high oxygen-barrier properties. *Cellulose* 21(6): 4583–4594, 2014.

- Nowicka P, Wojdyło A, Stability of phenolic compounds, antioxidant activity and colour through natural sweeteners addition during storage of sour cherry puree. *Food Chemistry* 196: 925–34, 2016.
- Padayachee A, Netzel G, Netzel M, Day L, Zabaras D, Mikkelsen D: Binding of polyphenols to plant cell wall analogues—Part 1: Anthocyanins. *Food Chemistry* 134:155–161, 2012a.
- Padayachee A, Netzel G, Netzel M, Day L, Zabaras D, Mikkelsen D: Binding of polyphenols to plant cell wall analogues—Part 2: Phenolic acids. *Food Chemistry* 135:2287–2292, 2012b.
- Pai V, Srinivasarao M, Khan SA: Evolution of microstructure and rheology in mixed polysaccharide systems. *Macromolecules* 35(5):1699–1707, 2002.
- Papoutsis K, Golding J, Vuong Q, Pristijono P, Stathopoulos C, Scarlett C, Bowyer M: Encapsulation of Citrus By-Product Extracts by Spray-Drying and Freeze-Drying Using Combinations of Maltodextrin with Soybean Protein and κ -Carrageenan. *Foods* 7:115, 2018.
- Park KS, Raspberry ketone increases both lipolysis and fatty acid oxidation in 3T3–L1 adipocytes. *Planta Medica* 76:1654–8, 2010.
- Park KS, Raspberry ketone, a naturally occurring phenolic compound, inhibits adipogenic and lipogenic gene expression in 3T3–L1 adipocytes. *Pharmaceutical Biology* 53:870–5, 2015.
- Patra F, Tomar SK i Arora S: Technological and functional applications of low-calorie sweeteners from lactic acid bacteria. *Journal of Food Science* 74(1):R16–R23, 2009.
- Paximada P, Koutinas AA, Scholten E, Mandala IG: Effect of bacterial cellulose addition on physical properties of WPI emulsions. Comparison with common thickeners. *Food Hydrocolloids* 54:245–254, 2016.
- Pellicer JA, Fortea MI, Trabal J, Rodríguez-López MI, Carazo-Díaz C, Gabaldón JA, Núñez-Delicado E: Stability of microencapsulated strawberry flavor by spray drying, freeze drying+ and fluid bed. *Powder Technology* 347:179–185, 2019.
- Pellicer JA, Fortea MI, Trabal J, Rodríguez-López MI, Carazo-Díaz C, Gabaldón JA, Núñez-Delicado E: Optimization of the microencapsulation of synthetic strawberry flavor with different blends of encapsulating agents using spray drying. *Powder Technology* 338: 591–598, 2018.
- Peterson MS, Johanson AH: *Enciklopedia of food science*, The Avi publishing company, Inc, Vestport, Conneticunt, 1978.
- Phan ADT, D'Arcy BR, Gidley MJ: Polyphenol–cellulose interactions: effects of pH, temperature and salt. *International Journal of Food Science and Technology* 51:203–211, 2016.

- Phan ADT, Flanagan BM, D'Arcy BR, Gidley MJ: Binding selectivity of dietary polyphenols to different plant cell wall components: Quantification and mechanism. *Food Chemistry* 233:216–227, 2017.
- Phan ADT, Netzel G, Wang D, Flanagan BM, D'Arcy BR, Gidley MJ (2015), Binding of dietary polyphenols to cellulose: Structural and nutritional aspects. *Food Chemistry* 171:388–396, 2015.
- Pichler A: Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2011.
- Poletto M, Pistor V, Zeni M, Zattera AJ: Crystalline properties and decomposition kinetics of cellulose fibers in wood pulp obtained by two pulping processes. *Polymer Degradation and Stability* 96(4):679-685, 2011.
- Poonam V, Kumar G, S Reddy LC, Jain R, K Sharma S, K Prasad A, i sur,,Chemical constituents of the genus *Prunus* and their medicinal properties. *Current Medicinal Chemistry* 18:3758–824, 2011.
- Popescu MC, Popescu CM, Lisa G, Sakata Z: Evaluation of morphological and chemical aspects of different wood species by spectroscopy and thermal methods. *Journal of Molecular Structure* 988(1-3):65-72, 2011.
- Post RE, Mainous AG, King DE, Simpson KN, Dietary Fiber for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of the American Board of Family Medicine* 25:16-23, 2012.
- Potter NN: *Food Science*, fourth Edition, AVI Publishing Company, Westport, Conn, (USA) 1986.
- Prior RL, Wu X, Schaich K: Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10):4290–4302, 2005.
- Quirós-Sauceda AE, Ayala-Zavala JF, Sáyago-Ayerdi SG, Vélez-de la Rocha R, JA Sañudo-Barajas, González-Aguilar GA: Added dietary fiber affects antioxidant capacity and phenolic compounds content extracted from tropical fruit. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 87:227 – 233, 2014a.
- Quirós-Sauceda AE, Palafox-Carlos H, Ayerdi- Sáyago SG, Ayaga Zavala JF, Bello Perez LA, Álavrez-Parrilla E, De La Rosa LA, González-Córdova AF, González-Aguilar GA: Dietary fibres and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. *Food and Function* 5:1063–1072, 2014b.
- Rao AV, Snyder DM, Raspberries and human health: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:3871–3883, 2010.
- Ravai M: Quality characteristics of raspberries and blackberries. *Cereal Foods World* 41:772–775, 1996.
- Razali NAM, Mohd Sohaimi R, Othman RNIR, Abdullah N, Demon SZN, Jasmani L, Yunus WMZW, Ya'acob WMHW, Salleh EM, Norizan MN, et al. Comparative Study on

- Extraction of Cellulose Fiber from Rice Straw Waste from Chemo-Mechanical and Pulping Method. *Polymers* 14(3):387, 2022.
- Rein MJ: Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. *Doktorska dizertacija*. Odjel za primjenjenu kemiju i mikrobiologiju, Kemija hrane, Sveučilište Helsinki, 2005.
- Renard CMGC, Baron A, Guyot S, Drilleau JF: Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: Quantification and some consequences. *International Journal of Biological Macromolecules* 29:115–125, 2001.
- Renard CMGC, Watrelot A, Le Bourvellec C: Interactions between polyphenols and polysaccharides: Mechanisms and consequences in food processing and digestion. *Trends in Food Science and Technology* 60:43–51, 2017.
- Rezaei A, Fathi M, Jafari SM: Nanoencapsulation of hydrophobic and low soluble food bioactive compounds within different nanocarriers. *Food Hydrocolloids* 88:146–162, 2019.
- Rice-Evans, CA, Miller NJ, Paganga G: Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 2(4):152–159, 1997.
- Robards K, Antolovich M: Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. *Analyst* 122:11R–34R, 1997.
- Robards K, Prenzel PD, Tucker G, Swatsitang P, Glover W: Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66:401–436, 1999.
- Robin F, Schuchmann HP, Palzer S: Dietary fiber in extruded cereals: Limitations and opportunities. *Trends in Food Science & Technology* 28(1):23–32, 2012.
- Robson AA: Food nanotechnology: Water is the key to lowering the energy density of processed foods. *Nutrition and Health* 20(3–4):231–236, 2011.
- Rosa MF, Medeiros ES, Malmonge JA, Gregorski KS, Wood DF, Mattoso LHC, Glenn G, Orts WJ, Imam SH: Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers* 81(1): 83–92, 2010.
- Rosenberg M, Kopelman IJ, Talmon Y: Factors affecting retention in spray drying microencapsulation in volatile materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38:1288–1294, 1990.
- Rowan DD: Volatile Metabolites. *Metabolites* 1:41–63, 2011.
- Sabou VR, O’Leary MF, Liu Y, Brown PN, Murch S and Bowtell JL: Review of Analytical Methods and Reporting of the Polyphenol Content of Tart Cherry Supplements in Human Supplementation Studies Investigating Health and Exercise Performance Effects: Recommendations for Good Practice. *Frontiers in Nutrition* 8:652–94, 2021.

- Saleh FA, El-Darra N, Raafat K: Hypoglycemic effects of *Prunus cerasus* L, pulp and seed extracts on Alloxan-Induced Diabetic Mice with histopathological evaluation. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 88:870–877, 2017.
- Saura-Calixto F: Antioxidant Dietary Fiber Product: A New Concept and a Potential Food Ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(10):4303–4306, 1998.
- Saura-Calixto F: Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: An essential physiological function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:43–49, 2011.
- Savić IM, Nikolić VD, Savić-Gajić I, Nikolić LB, Radovanović BC, Mladenović JD: Investigation of properties and structural characterization of the quercetin inclusion complex with (2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 82:383–394, 2015.
- Sáyago-Ayerdi SG, Arranz S, Serrano J, Goñi I, Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in Roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(19):7886–90, 2007.
- Schacht E, Bulcke AVD, Delaey B, Draye JP: Medicaments based on polymers composed of methacrylamide-modified gelatin. US Patent 6,458,386, filed June 3, 1998, and issued October 1, 2002.
- Secouard S, Malhiac C, Grisel M, Decroix B: Release of limonene from polysaccharide matrices: Viscosity and synergy effects. *Food Chemistry* 82:227–234, 2003.
- Serpa A, Velásquez-Cock J, Gañán P, Castr C, Vélez L, Zuluaga R: Vegetable nanocellulose in food science: A review. *Food Hydrocolloids* 57:178–186, 2016.
- Serradilla MJ, Hernández A, López-Corrales M, Ruiz-Moyano S, de Guía Córdoba M, Martín A: Composition of the Cherry (*Prunus avium* L, and *Prunus cerasus* L.; Rosaceae), U Nutritional Composition of Fruit Cultivars; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2016; pp, 127–147.
- Shahidi F, Zhong Y: Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods* 18:Part B, 757–781, 2015.
- Shapira-Zaltsberg G, Grynspan D, Quintana MV, Dominguez PC, Reddy D, Davila JH: MRI features of the placenta in fetuses with and without CNS abnormalities. *Clinical Radiology* 73, 2018.
- Sharma G, Sharma S, Kumar A, Al-Muhtaseb AH, Naushad M, Ghfar AA: Guar gum and its composites as potential materials for diverse applications: A review. *Carbohydrate Polymers* 199:534–545, 2018.
- Shi H, Noguchi N, Niki, E: Introducing natural antioxidants. U *Antioxidants in food*. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.), Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 147–158, 2001.

- Shutava TG, Lvov YM: (2012). Encapsulation of natural polyphenols with antioxidant properties in polyelectrolyte capsules and nanoparticles. *Natural Compounds As Inducers Of Cell Death* 1:215–235, 2012.
- Siep N, Roefs A, Roebroek A, Havermans R, Bonte ML, Jansen A: Hunger is the best spice: An fMRI study of the effects of attention, hunger and calorie content on food reward processing in the amygdala and orbitofrontal cortex. *Behavioural Brain Research*, 198(1):149–158, 2009.
- Simmonds MSJ, Preedy RV: *Nutritional composition of fruit cultivars*, Academic Press, 2015.
- Singleton VL, Rossi JA: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144–158, 1965.
- Siqueira G, Bras J, Dufresne A: Cellulosic bionanocomposites: A review of preparation, properties, and applications. *Polymers* 2:728–765, 2010.
- Slavin J: Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients* 5:1417–35, 2013.
- Snyder SM, Zhao B, Luo T, Kaiser C, Cavender G, Hamilton-Reeves J, Sullivan DK, Shay NF: Consumption of Quercetin and Quercetin-Containing Apple and Cherry Extracts Affects Blood Glucose Concentration, Hepatic Metabolism, and Gene Expression Patterns in Obese C57BL/6J High Fat-Fed Mice. *The Journal of Nutrition* 146:1001–1007, 2016.
- Stephen MA, Champ MMJ, Cloran SJ, Fleith M, Van Lieshout L, Mejbourn H, Burley JV: Dietary Fiber in Europe: current state of knowledge on definitions, sources, recommendations, intakes and relationships to health. *Nutrition Research Reviews* 30:149–190, 2017.
- Tang HR, Covington AD, Hancock RA: Structure-activity relationships in the hydrophobic interactions of polyphenols with cellulose and collagen. *Biopolymers* 70:403–413, 2003.
- Taylor AJ, Linforth RST: *Food Flavor Technology*, 2nd ed.; Blackwell Publishing: Oxford, UK, 2010.
- Terta M, Blekes G, Paraskevopoulou A: Retention of selected compounds by polysaccharide solution: A Thermodynamic and kinetic approach. *Food Hydrocolloids* 20:863–871, 2006.
- Tomás-Barberán FA, Clifford MN: Dietary hydroxybenzoic acid derivatives-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 80:1024-1032, 2000.
- Toydemir G, Capanoglu E, Gomez Roldan MV, de Vos, RCH, Boyacioglu D, Hall RD, Beekwilder J: Industrial processing effects on phenolic compounds in sour cherry (*Prunus cerasus* L.) fruit. *Food Research International* 53:218-225, 2013.
- Turbak AF, Kafrawy AE, Snyder FW, Auerbach AB: 1980. Solvent system for cellulose. US Patent 4,302,252, filed April 30, 1980, and issued November 24, 1981.
- Ullah H, Santos HA, Khan T: Applications of bacterial cellulose in food, cosmetics and drug delivery. *Cellulose* 23(4):2291-2314, 2016.

- Unno T, Yamamoto T, Nakakuki T: 2008. Food and drink containing nigerooligosaccharide alcohols. EP Patent 1,469,081, filed May 15, 1997, and issued October 20, 2004.
- Vaast P, Bertrand B, Perriot JJ, Guyot B, Génard M: Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86(2):197–204, 2006.
- Van Ruth SM, King C: Effect of starch and amylopectin concentrations on volatile flavour release from aqueous model food systems. *Flavour and Fragrance Journal* 18:407–416, 2003.
- Vashist A, Kaushik A, Vashist A, Bala J, Nikkhah-Moshaie R, Sagar V: Nanogels as potential drug nanocarriers for CNS drug delivery. *Drug Discovery Today* 23(7):1359–6446, 2018.
- Velderrain-Rodríguez GR, Palafox-Carlos H, Wall-Medrano A, Ayala-Zavala JF, Chen CY, Robles-Sánchez M Astiazaran-García H, Alvarez-Parrilla E, González-Aguilar GA: Phenolic compounds: their journey after intake. *Food & Function* 5:189–197, 2014.
- Vennat B, Bos MA, Pourrat A, Bastide P: Procyanidins from tormentil: fractionation and study of the anti-radical activity towards superoxide anion. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 17:1613–1615, 1994.
- Vergara-Valencia N, Granados-Perez E, Agama-Acevedo E, Tovar J, Ruales J, Bello-Perez LA: Fiber Concentrate from Mango Fruit: Characteristics, Associated Antioxidant Capacity and Application as a Bakery Product Ingredient. *LWT—Food Science and Technology* 40:722–729, 2007.
- Vitaglione P, Napolitano A, Fogliano V: Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends in Food Science and Technology* 19(9):451–463, 2008.
- Von Elbe H, Schwartz SJ : Colorants. U *Fennema's Food Chemistry*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1996.
- Vukoja J, Buljeta I, Pichler A, Šimunović J, Kopjar M: Formulation and Stability of Cellulose-Based Delivery Systems of Raspberry Phenolics. *Processes* 9:90, 2021.
- Wang Y, Liu J, Chen F, Zhao G: Effects of molecular structure of polyphenols on their noncovalent interactions with oat β -glucan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61(19):4533–4538, 2013.
- Waterman PG, Mole S: *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 73–99, 1994.
- Winter M: Odeur et constitution XIX, Sur des homologues et analogues de la p hydroxyphényl-1- butanone-3 (« cétone de framboise»). *HCA* 44:2110–2121, 1961.
- Wojdyło A, Figiel A, Lech K, Nowicka P, Oszmiański J: Effect of convective and vacuum-microwave drying on the bioactive compounds, colour and antioxidant activity of sour cherries. *Food Bioprocess Technology* 7:829–841, 2014a.

- Wojdyło A, Nowicka P, Laskowski P, Oszmiański J: Evaluation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) fruits for their polyphenol content, antioxidant properties, and nutritional components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62:12332–12345, 2014b.
- Wong DWS: Feruloyl esterase: A key enzyme in biomass degradation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 133(2):87–112, 2006.
- Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL: Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:4069–75, 2006.
- Wu Y, Chen ZX, Li X, Li M: Effect of tea polyphenols on the retrogradation of rice starch. *Food Research International* 42:221–225, 2009.
- Wu Z, Li H, Ming J, Zhao G: Optimization of adsorption of tea polyphenols into oat β -glucan using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:378–385, 2011.
- Xiao Z, Hou W, Kang Y, Niu Y, Kou X: Encapsulation and sustained release properties of watermelon flavor and its characteristic aroma compounds from γ -cyclodextrin inclusion complexes. *Food Hydrocolloids* 97:105202, 2019.
- Yang X, Bakaic E, Hoare T, Cranston ED: Injectable polysaccharide hydrogels reinforced with cellulose nanocrystals: Morphology, rheology, degradation, and cytotoxicity. *Biomacromolecules* 14(12):4447–4455, 2013.
- Young, IS, Woodside, JV: Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology* 54(3):176-86, 2001.
- Yu H, Yan C, Yao J: Fully biodegradable food packaging materials based on functionalized cellulose nanocrystals/poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) nanocomposites. *RSC Advances* 4(104):59792–59802, 2014.
- Zanchetta G, Rocchib E, Piazzab L: Seeing is believing: Coupling between liquid crystalline ordering and rheological behaviour in cellulose nanocrystals suspensions. *Chemical Engineering & Technology* 57:1933–1938, 2017.
- Zhang L, Hu Z, Yan L, Li R, Cao C, Xiaoding H: Preparation and Characterization of Tea Polyphenols/Starch Inclusion Complex. *Applied Mechanics and Materials* 432:413–417, 2013.
- Zhang Y, Neogi T, Chen C, Chaisson C, Hunter DJ, Choi HK: Cherry consumption and decreased risk of recurrent gout attacks. *Arthritis and Rheumatism* 64:4004-4011, 2012.
- Zhu J, Zhang D, Tang H, Zhao G: Structure relationship of non-covalent interactions between phenolic acids and arabinan-rich pectic polysaccharides from rapeseed meal. *International Journal of Biological Macromolecules* 120:2597-2603, 2018.
- Zlatić E, Pichler A, Lončarić, A, Vidrih R, Požrl T, Hribar J, Piližota V, Kopjar M: Volatile compounds of freeze-dried sour cherry puree affected by the addition of sugars. *International Journal of Food Properties* 20:S449-S456, 2017.

Zorić Z, Pedisic S, Kovacevic DB, Jezek, D, Dragovic-Uzelac V: Impact of packaging material and storage conditions on polyphenol stability, colour and sensory characteristics of freeze-dried sour cherry (*Prunus cerasus* var, Marasca). *Journal of Food Science and Technology* 53:1247-1258, 2016.

DO NOT COPY