

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Bora MANKOČ

**UPORABA HIDROKOLOOIDOV ZA IZBOLJŠANJE  
LASTNOSTI STEPENE SMETANE**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja Živilstvo

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Bora MANKOČ

**UPORABA HIDROKOLOIDOV ZA IZBOLJŠANJE LASTNOSTI STEPENE  
SMETANE**

MAGISTRSKO DELO  
Magistrski študij - 2. stopnja Živilstvo

**THE USE OF HYDROCOLLOIDS TO IMPROVE THE CHARACTERISTICS OF  
WHIPPED CREAM**

M. SC. THESIS  
Master Study Programmes: Field Food Science and Technology

Ljubljana, 2016

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študijskega programa 2. stopnje Živilstvo. Praktični del in fizikalno-kemijske analize so bile opravljene na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil in Katedri za biokemijo in kemijo živil, Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje je za mentorja magistrskega dela imenovala doc. dr. Tomaža Polaka, za somentorico doc. dr. Natašo Šegatin in recenzenta izr. prof. dr. Blaža Cigića.

Mentor: doc. dr. Tomaž Polak

Somentorica: doc. dr. Nataša Šegatin

Recenzent: izr. prof. dr. Blaž Cigić

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Bora Mankoč

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Du2
DK	UDK 637.148.2:641.514.8:664.026.747:543.04(043)=163.6
KG	mleko/ mlečni izdelki/ smetana/ stevanje/ stepena smetana/ aditivi/ hidrokoloidi/ karagenan/ fizikalne lastnosti/ tekstura/ povečanje prostornine smetane pri stevanju/ overrun/ stabilnost/ barva/ viskoznost/ dielektrična konstanta
AV	MANKOČ, Bora, dipl. inž. živ. in preh. (UN)
SA	POLAK, Tomaž (mentor)/ ŠEGATIN, Nataša (somentorica)/ CIGIĆ, Blaž (recenzent)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2016
IN	UPORABA HIDROKOLOIDOV ZA IZBOLJŠANJE LASTNOSTI STEPENE SMETANE
TD	Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja Živilstvo)
OP	XI, 72 str., 28 pregl., 21 sl., 78 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	V zadnjih letih se v nestepeno smetano oz. druge izdelke, ki so podvrženi tako razslojevanju kot nestabilnosti, dodajajo hidrokoloidi, s katerimi v industriji vse pogosteje stabilizirajo tovrstne izdelke. Namen naše naloge je bil ugotoviti, katera vrsta hidrokoloida, zlasti karagenana, je primernejša za stabilnost stepene smetane in v kolikšni koncentraciji. V ta namen smo v svežo smetano dodajali različna karagenana proizvajalca CEAMSA, Ceamlacta 2007 in Ceamlacta 2165 v koncentracijah po 10, 25 in 75 mg/250 ml. V poskusih smo uporabili smetani dveh različnih proizvajalcev (Ljubljanske mlekarne in Biotehniški center Naklo) in analizirali vpliv karagenana na fizikalne lastnosti kot so stabilnost, tekstura, barva, prevodnost in viskoznost ter primerjali čase stevanja. Poleg tega smo iz meritev gostot sveže in stepene smetane izračunali povečanje prostornine zaradi stevanja (overrun). Ugotovili smo, da se smetana Ljubljanskih mlekarn z dodanim karagenanom značilno razlikuje v izmerjenih fizikalnih lastnostih od smetane brez dodanega karagenana. Čas stevanja smetane se podaljša in overrun značilno zmanjša. Povečata pa se prevodnost in viskoznost ter izboljšata tekstura in stabilnost smetane. Manjši vpliv ima karagenan na barvo. Dodatno smo ugotovili, da se s povečanjem koncentracije fizikalne lastnosti linearno spreminja in da je vpliv odvisen od vrste karagenana. Drugačno obnašanje smo ugotovili pri smetani BCN pri kateri vpliva karagenana ni bilo zaznati (stabilnost, overrun) ali je bil manjši (tekstura).

**KEY WORDS DOCUMENTATION**

ND Du2  
DC UDC 637.148.2:641.514.8:664.026.747:543.04(043)=163.6  
CX dairy/ dairy products/ cream/ whipping/ whipped cream/ additives/ hydrocolloids/ carrageenan/ physical properties/ texture/ increase in cream volume due to whipping/ overrun/ stability/ colour/ viscosity/ dielectric constant  
AU MANKOČ, Bora, dipl. inž. živ. in preh. (UN)  
AA POLAK, Tomaž (supervisor)/ ŠEGATIN, Nataša (co-advisor)/ CIGIĆ, Blaž (reviewer)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology  
PY 2016  
TY THE USE OF HYDROCOLLOIDS TO IMPROVE THE CHARACTERISTICS OF WHIPPED CREAM  
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes: Field Food Science and Technology)  
NO XI, 72 p., 28 tab., 21 fig., 78 ref.  
LA sl  
AI sl/en  
AB In recent years the food industry has been increasingly adding hydrocolloids to whipped cream and other food products that are subjected to phase separation, to improve the stability of these products. The aim of our thesis was to determine which hydrocolloid, in particular carrageenan is more suitable to improve the stability of whipped cream and at what concentration. For this purpose we have added different carrageenans by CEAMSA, Ceamlacta 2007 and Ceamlacta 2165, at concentrations of 10, 25 in 75 mg/250 ml. In the experiment we have used two different creams, Ljubljanske mlekarne and Biotehniški center Naklo and have analyzed the impact of carrageenan on the physical properties such as stability, texture, colour, conductivity, viscosity and compared the whipping times. Moreover, we have calculated the overrun (increase in volume due to whipping). We have found that the cream of Ljubljanske mlekarne with added carrageenan significantly differs in the measured physical properties to the cream without carrageenan. The whipping time is prolonged and the overrun decreases, while conductivity and viscosity increases. Stability and texture are improved and the added carrageenan has no significant influence on colour. Furthermore, we have found that by increasing the concentration, the physical properties change in a linear way and the impact depends on the type of carrageenan. Different behaviour was found in cream BCN in which the influence of carrageenan was not detected (stability, overrun) or was minor (texture).

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORDS DOCUMENTATION .....</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>VIII</b>
<b>KAZALO SLIK .....</b>	<b>X</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....</b>	<b>XI</b>
<b>1       UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1   OPREDELITEV PROBLEMA .....	1
1.2   NAMEN DELA.....	1
1.3   DELOVNE HIPOTEZE .....	1
<b>2       PREGLED OBJAV .....</b>	<b>2</b>
2.1   HIDROKOLOIDI.....	2
<b>2.1.1 Klasifikacija .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1.2 Funkcionalne lastnosti.....</b>	<b>2</b>
2.1.2.1 Povečanje viskoznosti ali zgoščevanje .....	3
2.1.2.2 Želiranje.....	3
2.1.2.3 Zmanjšanje površinske napetosti ali emulgacija .....	4
2.1.2.4 Sposobnost tvorbe užitnih filmov in embalažnih materialov .....	4
<b>2.1.3 Regulativa hidrokoloidov.....</b>	<b>5</b>
2.2   KARAGENAN .....	6
<b>2.2.1 Proizvodni proces karagenana .....</b>	<b>6</b>
2.2.1.1 Proizvodnja karagenana z ekstrakcijo .....	6
2.2.1.2 Proizvodni proces delno rafiniranega karagenana,PES .....	7
<b>2.2.2 Kemijska struktura karagenana .....</b>	<b>8</b>
<b>2.2.3 Regulativa karagenana .....</b>	<b>9</b>
<b>2.2.4 Varnost karagenana .....</b>	<b>9</b>
<b>2.2.5 Biološka aktivnost karagenana .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2.6 Uporaba karagenana.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.7 Funkcionalne lastnosti karagenana .....</b>	<b>12</b>
2.2.7.1 Topnost .....	12
2.2.7.2 Reološke lastnosti raztopin karagenana.....	13
2.2.7.3 Želirne lastnosti .....	13
2.2.7.4 Stabilnost v kislem .....	13
2.2.7.5 Interakcija s proteini .....	13
2.3 SMETANA.....	14
<b>2.3.1 Proces stevanja .....</b>	<b>14</b>
2.3.1.1 Oblikovanje strukture smetane pri stevanju - delna koalescencija maščobnih kapljic .....	15
<b>2.3.2 Kakovostni parametri stepene smetane.....</b>	<b>16</b>
2.3.2.1 Čas stevanja .....	16

2.3.2.2	Overrun – merilo za povečanje prostornine smetane pri stejanju.....	17
2.3.2.3	Tekstura .....	17
2.3.2.4	Stabilnost .....	18
2.3.2.5	Ostwaldovo zorenje .....	18
2.3.2.6	Sinereza .....	18
2.3.2.7	Koalescenca zračnih mehurčkov .....	19
<b>2.3.3</b>	<b>Dejavniki, ki določajo funkcionalne lastnosti stepene smetane.....</b>	<b>19</b>
2.3.3.1	Vsebnost maščobe .....	19
2.3.3.2	Temperatura.....	20
2.3.3.3	Homogenizacija .....	20
2.3.3.4	Toplotna obdelava .....	20
2.3.3.5	Prisotnost stabilizatorjev in emulgatorjev .....	21
<b>3</b>	<b>MATERIAL IN METODE .....</b>	<b>22</b>
3.1	MATERIAL .....	22
<b>3.1.1</b>	<b>Smetane .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Karagenani.....</b>	<b>22</b>
3.2	METODE DELA .....	23
<b>3.2.1</b>	<b>Tehnološka priprava karagenana v smetani.....</b>	<b>23</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Stepanje smetane .....</b>	<b>25</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Določitev časa stejanja smetane v poskusih .....</b>	<b>26</b>
3.2.3.1	Merjenje električne prevodnosti kot določitev pravilnega časa stejanja smetane v predposkusih.....	26
<b>3.2.4</b>	<b>Določanje gostote sveže in stepene smetane .....</b>	<b>26</b>
<b>3.2.5</b>	<b>Izračun relativnega povečanja prostornine smetane zaradi stejanja - overrun .....</b>	<b>27</b>
3.2.6	Merjenje specifične prevodnosti sveže in stepene smetane.....	27
3.2.7	Merjenje tekture s povratno ekstruzijo .....	27
3.2.8	Merjenje absorbance v NIR (Near infrared) območju .....	28
3.2.9	Merjenje stabilnosti.....	28
3.2.10	Instrumentalno merjenje barve .....	29
3.2.11	Določanje viskoznosti sveže smetane .....	29
3.2.12	Določanje dielektrične konstante .....	30
3.2.13	Določanje sulfatnih skupin v karagenanu s turbidimetrično metodo .....	30
3.2.14	Statistična analiza .....	32
<b>4</b>	<b>REZULTATI.....</b>	<b>33</b>
4.1	KARAKTERIZACIJA KARAGENANA .....	33
<b>4.1.1</b>	<b>Vsebnost sulfata .....</b>	<b>33</b>
4.2	REZULTATI SVEŽE IN STEPENE SMETANE LJUBLJANSKIH MLEKARN .....	34
<b>4.2.1</b>	<b>Prevodnost sveže in stepene smetane Ljubljanskih mlekarn .....</b>	<b>34</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Čas stejanja smetane Ljubljanskih mlekarn.....</b>	<b>35</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Instrumentalne meritve tekture smetane Ljubljanskih mlekarn.....</b>	<b>35</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Instrumentalne meritve absorbance NIR smetane Ljubljanskih mlekarn.....</b>	<b>37</b>

<b>4.2.5</b>	<b>Gostota sveže in stepene smetane Ljubljanskih mlekarn .....</b>	<b>38</b>
<b>4.2.6</b>	<b>Povečanje prostornine smetane Ljubljanskih mlekarn pri stepanju (overrun).....</b>	<b>39</b>
<b>4.2.7</b>	<b>Stabilnost stepene smetane Ljubljanskih mlekarn.....</b>	<b>40</b>
<b>4.2.8</b>	<b>Barva stepene smetane Ljubljanskih mlekarn .....</b>	<b>41</b>
<b>4.2.9</b>	<b>Viskoznost smetane Ljubljanskih mlekarn.....</b>	<b>42</b>
<b>4.2.10</b>	<b>Dielektrična konstanta in faktor dielektrične izgube.....</b>	<b>43</b>
<b>4.3</b>	<b>REZULTATI SVEŽE IN STEPENE SMETANE BCN .....</b>	<b>46</b>
<b>4.3.1</b>	<b>Prevodnost sveže in stepene smetane BCN .....</b>	<b>46</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Čas stepanja smetane BCN.....</b>	<b>47</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Instrumentalne meritve tekture smetane BCN .....</b>	<b>47</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Instrumentalne meritve absorbance NIR smetane BCN .....</b>	<b>48</b>
<b>4.3.5</b>	<b>Gostota sveže in stepene smetane BCN .....</b>	<b>49</b>
<b>4.3.6</b>	<b>Povečanje prostornine smetane BCN pri stepanju (overrun) .....</b>	<b>49</b>
<b>4.3.7</b>	<b>Stabilnost stepene smetane BCN.....</b>	<b>49</b>
<b>4.3.8</b>	<b>Barva stepene smetane BCN.....</b>	<b>50</b>
<b>4.3.9</b>	<b>Viskoznost smetane BCN.....</b>	<b>51</b>
<b>4.4</b>	<b>VIRI VARIABILNOSTI IN NJIHOV VPLIV NA FIZIKALNE PARAMETRE SMETANE LJUBLJANSKIH MLEKARN IN BCN .....</b>	<b>52</b>
<b>4.5</b>	<b>REZULTATI ANALIZ STEPENIH SMETAN V PREDPOSKUSIH .....</b>	<b>53</b>
<b>4.6</b>	<b>REZULTATI ANALIZ TRGOVSKIH SMETAN IN SMETAN, KI SMO JIH UPORABILI V POSKUSIH BREZ DODANEGA KARAGENANA .....</b>	<b>54</b>
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA.....</b>	<b>55</b>
<b>6</b>	<b>SKLEPI .....</b>	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>POVZETEK.....</b>	<b>66</b>
<b>8</b>	<b>VIRI .....</b>	<b>67</b>
<b>ZAHVALA .....</b>		<b>1</b>

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Delitev hidrokoloidov glede na izvor (Khandal in sod., 2013) .....	2
Preglednica 2: Deleži želirnih sredstev v različnih živilskih izdelkih (Saha in Bhattacharya, 2010) .....	4
Preglednica 3: Dovoljena vsebnost hidrokoloidov v živilih (Pravilnik o aditivih za živila, 2010) .....	5
Preglednica 4: Mlečni izdelki z dodanim karagenanom in drugimi hidrokoloidi (lastni podatki) .....	12
Preglednica 5: Standardne raztopine za določanje sulfata (VI).....	31
Preglednica 6: Vsebnost sulfata v karagenanu CEAMLA 2165 in 2007 .....	33
Preglednica 7: Predvidevanja o pomenu rezultatov vsebnosti sulfata v karagenanu .....	34
Preglednica 8: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na prevodnost smetane pred stejanjem in prevodnost stepene smetane Ljubljanskih mlekarn.....	35
Preglednica 9: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na čas stejanja smetane Ljubljanskih mlekarn .....	35
Preglednica 10: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na parametre tekture smetane Ljubljanskih mlekarn .....	37
Preglednica 11: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na absorbanco NIR pri 850, 930 in 950 nm stepene smetane Ljubljanskih mlekarn .....	38
Preglednica 12: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na gostoto sveže in stepene smetane Ljubljanskih mlekarn .....	38
Preglednica 13: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na overrun stepene smetane Ljubljanskih mlekarn .....	39
Preglednica 14: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na stabilnost stepene smetane Ljubljanskih mlekarn prvi in drugi dan .....	41
Preglednica 15: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na parametre barve stepene smetane Ljubljanskih mlekarn .....	42
Preglednica 16: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na viskoznost smetane Ljubljanskih mlekarn .....	42
Preglednica 17: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na dielektrično konstanto in faktor dielektrične izgube smetane Ljubljanskih mlekarn .....	44
Preglednica 18: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na prevodnost smetane pred stejanjem in prevodnost stepene smetane proizvajalca BCN .....	46

Preglednica 19: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na čas stepanja smetane BCN .....	47
Preglednica 20: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na parametre teksture (čvrstost, konsistenco, kohezivnost in indeks viskoznosti) smetane BCN.....	48
Preglednica 21: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na absorbanco NIR pri 850, 930 in 950 nm stepene smetane BCN .....	48
Preglednica 22: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na gostoto sveže in stepene smetaneBCN .....	49
Preglednica 23: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na overrun smetane proizvajalca BCN.....	49
Preglednica 24: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na stabilnost smetane prvi in drugi dan proizvajalca BCN.....	50
Preglednica 25: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na parametre barve smetane proizvajalca BCN.....	51
Preglednica 26: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na viskoznost smetane BCN .....	51
Preglednica 27: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na fizikalne parametre smetan .....	52
Preglednica 28: Rezultati analiz trgovskih smetan in smetan, ki smo jih uporabili v poskusih .....	54

## KAZALO SLIK

Slika 1: Proizvodna procesa za karagenan in predelano morsko algo Evheuma (Blakemore in Harpell, 2010) .....	8
Slika 2: Ponavljača se disaharidna struktura $\kappa$ -karagenana (Bardajee in sod., 2011) .....	8
Slika 3: Ponavljača se disaharidna struktura $\iota$ -karagenana (Bardajee in sod., 2011) .....	9
Slika 4: Ponavljača se disaharidna struktura $\lambda$ -karagenana (Bardajee in sod., 2011) .....	9
Slika 5: Strukturna zgradba stabiliziranega zračnega mehurčka v stepeni smetani (Goff, 2016b) .....	16
Slika 6: Spremembe kakovostnih parametrov med stevanjem smetane (Vermeir, 2011) .....	16
Slika 7: Kanali (Plateujeve meje) v stiku s tekočo fazo (Heuser in sod., 2008).....	18
Slika 8: Vsebnost maščobe in vpliv na čas stevanja (●), togost (○) in overrun (◀) stepene smetane (Smiddy in sod., 2009).....	19
Slika 9: Prevodnost v odvisnosti od časa stevanja .....	26
Slika 10: Test povratne ekstruzije na stepeni smetani proizvajalca Ljubljanskih mlekarn brez dodanega karagenana .....	28
Slika 11: NIR spekter smetane trgovske znamke Hofer.....	28
Slika 12: Fotografija sistema za merjenje viskoznosti .....	30
Slika 13: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti sulfata (VI).....	32
Slika 14: Overrun v odvisnosti od časa stevanja smetane Ljubljanskih mlekarn.....	40
Slika 15: Vpliv koncentracije karagenana na viskoznost smetane proizvajalca LM .....	43
Slika 16: Dielektrična konstanta in faktor izgube smetane Ljubljanskih mlekarn brez in z dodanim karagenanom .....	45
Slika 17: Primerjava med overrunom in absorbcojo NIR smetane LM .....	57
Slika 18: Trend krivulj kakovostnih parametrov stepene smetane z dodatkom Ceamlacta 2165.....	60
Slika 19: Trend krivulj kakovostnih parametrov stepene smetane z dodatkom Ceamlacta 2007.....	61
Slika 20: Overrun trgovskih smetan in smetan, ki smo jih uporabili v poskusih v odvisnosti od časa stevanja .....	62
Slika 21: Prevodnosti stepenih smetan trgovskih znamk in smetan, ki smo jih uporabili v poskusih v odvisnosti od prevodnosti smetan pred stevanjem.....	63

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

A	absorbanca
ADI	sprejemljiv dnevni vnos (angl. Acceptable Daily Intake)
c <sub>1</sub>	centrifugiranje 1
c <sub>2</sub>	centrifugiranje 2
CMV	citomegalovirus
č	čvrstost
EFSA	evropska agencija za varnost hrane (angl. European Food Safety Agency)
FAO	organizacija Združenih Narodov za prehrano in kmetijstvo (angl. Food and Agriculture Organization of the United Nations)
FDA	ameriška zvezna uprava za hrano in zdravila (angl. Food and Drug Administration)
HSV	virusa herpesa simpleksa (angl. Herpes Simplex Virus)
HTST	kratkotrajna pasterizacija (angl. High Temperature Short Time)
iv	indeks viskoznosti
JECFA	odbor za prehrano in kmetijstvo (angl. FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)
k	konsistenco
kh	kohezivnost
NIR	odboj bližnje infrardeče svetlobe (angl. Near Infrared Radiation)
or	overrun
O/V	olje v vodi
PES	predelana morska alga Evheuma (angl. Processed Eucheuma Seaweed)
t	čas
UHT	pasterizacija pri ultra visoki temperaturi (angl. Ultra-High-Temperature Processing)
WHO	svetovna zdravstvena organizacija (angl. World Health Organization)
ε'	dielektrična konstanta
ε''	faktor dielektrične izgube
η	viskoznost
ρ <sub>sv</sub>	gostota sveže smetane
ρ <sub>st</sub>	gostota stepene smetane
σ <sub>1</sub>	prevodnost smetane pred stevanjem
σ <sub>2</sub>	prevodnost stepene smetane

## 1 UVOD

### 1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Smetana za stevanje je običajno kupljena z namenom ustvarjanja pene, ki se uporablja kot desertni nadev ali polnilo. Potrošnik od te vrste smetane pričakuje stabilno emulzijo z razumnim rokom uporabe in smetano, ki se enostavno stepe v stabilno peno. Vendar v kulinariki in konditorstvu obstaja problem nestabilnosti zračnih emulzij in tako tudi stepene smetane. V zadnjih letih se za povečanje stabilnosti pene uporabljajo nekateri stabilizatorji in emulgatorji. Dodajajo se že v nestepeno smetano oz. druge izdelke, ki so podvrženi tako razslojevanju kot nestabilnosti zračne emulzije. Rešitev v živilstvu lahko predstavljajo hidrokoloidi, s katerimi v industriji vse pogosteje stabilizirajo tovrstne izdelke, tudi smetano. Hidrokoloidi stabilnost enostavno izboljšajo s povečanjem viskoznosti in s spodbujanjem delne koalescence maščob. S proučevanjem dodatka različnih hidrokoloidov/karagenanov želimo doseči optimalen dodatek posameznega aditiva.

### 1.2 NAMEN DELA

Naša naloga je ugotoviti, katera vrsta karagenana in kakšna koncentracija je najprimernejša za stabilnost stepene smetane. V ta namen smo v svežo smetano dodajali različne vrste karagenanov z različno koncentracijo.

### 1.3 DELOVNE HIPOTEZE

Hipoteza 1: Predvidevamo, da bodo različni karagenani značilno vplivali na izmerjene fizikalne lastnosti kot so stabilnost, viskoznost, tekstura in barva stepene smetane.

Hipoteza 2: Pričakujemo razlike v izmerjenih fizikalnih lastnostih kot posledico tako vrste dodanega karagenana kot tudi koncentracije.

Hipoteza 3: Pričakujemo tudi, da se bo čas stevanja smetane z dodanim karagenanom podaljšal in overrun zmanjšal.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 HIDROKOLOIDI

Potrošniki nenehno čutijo potrebo po živilih z izboljšano teksturo, okusom in drugimi senzoričnimi lastnostmi. Trenutno je s strani zdravstveno osveščenih potrošnikov vse večje povpraševanje po zdravih in naravnih živilskih izdelkih. Ta trend je tudi postal eden izmed dejavnikov, ki je pospešil razvoj trga s hidrokolofov (Li in Nie, 2016).

Beseda 'hidrokoloid' izvira iz grških besed *hydro* 'voda' in *kolla* 'lepilo' (Wüstenberg, 2015). Hidrokolofovi ali gumiji so velika skupina dolgoverižnih polimerov, ki jih karakterizira njihova sposobnost formiranja viskoznih disperzij in/ali gelov v vodi. Pri tem prisotnost velikega števila hidroksilnih skupin močno poveča afiniteto za vezavo vode. Disperzije, ki jih tvorijo imajo lastnosti koloidov. Glede na ti dve lastnosti so ustrezno imenovani 'hidrofilni koloidi' ali 'hidrokolofovi' (Li in Nie, 2016; Milani in Maleki, 2012). Uporaba hidrokolofov sega še v čase starega Egipta, ko so smolo iz rastline rodu *Acanthus* uporabili kot lepilno sredstvo pri zavijanju mumij. Hidrokolofovi so tudi že več tisočletij del človeške prehrane. Gumi iz zrn rožičevca je na primer bil znan kot kruh Svetega Janeza ("Saint John's bread") in je po tem imenu še danes znan v nekaterih evropskih državah (Hoefler, 2004).

#### 2.1.1 Klasifikacija

Na podlagi njihovega izvora komercialno pomembne hidrokoloide delimo v naslednje kategorije, prikazane v preglednici 1 (Khanda in sod., 2013):

Preglednica 1: Delitev hidrokolofov glede na izvor (Khanda in sod., 2013)

izvor	hidrokoloid
botanični	
• drevesa	celuloza E 460
• smole drevesnic	arabika gumi E 414, karaja gumi E 416
• rastline	škrob E 1400-1450, pektin E 440, celuloza E 460
• zrna	guar gumi E 412, gumi iz zrn rožičevca E 410, tara gumi E 417
alge	
• rdeče morske alge	agar E 406, karagenan E 407
• rjave morske alge	alginat E 401-404
mikrobiološki	ksantan E 415, dekstran, gelanski gumi E 418
živalski	želatin E 441, kazeinat E 469, hitosan, proteini sirotke

#### 2.1.2 Funkcionalne lastnosti

Hidrokolofovi se dodajajo v živilske izdelke z namenom izboljšanja kakovosti in podaljšanja obstojnosti. V živilih imajo širok spekter uporabe. V juhah, omakah, solatnih

in drugih prelivih služijo kot zgoščevalno sredstvo; v marmeladah, žezejih, pudingih, rekonstruiranih živilih pa kot želirno sredstvo (Saha in Bhattacharya, 2010). Poleg tega so v mlečnih izdelkih prisotni kot emulgatorji, mesna industrija pa z nekaterimi hidrokoloidi nadomešča maščobo v izdelkih z zmanjšano vsebnostjo maščobe (Li in Nie, 2016).

Njihova funkcionalnost je povezana s sposobnostjo modifikacije reoloških značilnosti živil kot sta viskoznost in tekstura. Sprememba tekture in/ali viskoznosti pa vpliva na senzorične lastnosti živila, zato dodajanje hidrokoloidov omogoča doseganje želenih lastnosti določenega izdelka (Milani in Maleki, 2012).

Med funkcionalne lastnosti hidrokoloidov sodijo povečanje viskoznosti ali zgoščevanje, želiranje, zmanjševanje površinske napetosti ali emulgacija in sposobnost tvorbe užitnih filmov in embalažnih materialov.

#### 2.1.2.1 Povečanje viskoznosti ali zgoščevanje

Ključna lastnost hidrokoloidov kot emulgirnih in stabilizacijskih sredstev je zgoščevanje ali povečanje viskoznosti (Li in Nie, 2016). Proses zgoščevanja vključuje nespecifično vozlanje konformacijsko neurejenih polimernih verig. Pri tem je bistvena interakcija polimer-topilo. Učinek zgoščevanja je odvisen od vrste hidrokoloida, njegove koncentracije in same lastnosti živila, kot je npr. vrednost pH in temperatura. V razredčenih raztopinah se lahko posamezne molekule prosto gibajo in zato ne kažejo lastnosti zgoščene raztopine. V koncentriranih sistemih pa take molekule pridejo v stik druga z drugo, gibanje posledično postane omejeno. Prehod prosto gibajočih se molekul v zapleteno omrežje je proces zgoščevanja. Na viskoznost polimernih raztopin ima največji vpliv masa polimera. Poleg mase vplivajo še hidrodinamična velikost polimerne molekule v raztopini, ki je odvisna od molekulske strukture. Linearne, negibljive molekule imajo večjo hidrodinamično velikost v primerjavi z razvejanimi in gibljivimi molekulami enake molekulske mase in zato povzročijo večjo viskoznost. Kečap je primer živilskega izdelka, v katerega najpogosteje dodajajo hidrokoloide z namenom povečanja viskoznosti (Milani in Maleki, 2012; Hoefler, 2004).

#### 2.1.2.2 Želiranje

Gel lahko opredelimo kot vmesno obliko trdne snovi in tekočine z lastnostmi mehanske togosti. Tvorba gela vključuje povezovanje naključnih dispergiranih polimernih segmentov na tak način, da tvorijo tridimensionalno mrežo, ki vsebuje topilo v vmesnih prostorih. Povezane regije so znane kot 'junction zones', ki jo tvorita dve ali več polimernih verig. Na razporeditev povezovalnih regij vplivajo različni parametri: pH, temperatura, prisotnost ionov in sama struktura hidrokoloida. Pogosti hidrokoloidi, ki se uporabljajo v namene želiranja, so alginat, pektin, karagenan, želatina in agar (Saha in Bhattacharya, 2010). V preglednici 2 so podani deleži želirnih sredstev v različnih živilskih izdelkih.

Preglednica 2: Deleži želirnih sredstev v različnih živilskih izdelkih (Saha in Bhattacharya, 2010)

<b>hidrokoloid</b>	<b>delež (%), w/w</b>
agar	1-2
alginat	1-2
karagenan	0,5-3
pektin	0,1-4
želatina	1-5

### 2.1.2.3 Zmanjšanje površinske napetosti ali emulgacija

Hidrokoloid se lahko obnaša kot emulgator ali/in stabilizator. Emulgator je površinsko aktivna snov, ki se adsorbira na medfazno površino olje/voda (O/V), ki je nastala med pripravo emulzije. Funkcionalnost hidrokoloidov v emulzijah se kaže v preprečevanju združevanja dispergiranih delcev, zakasnjenemobarjanju, zmanjšanjem izločanju maščobe ali olja in koalescenci maščobnih kapljic, ter zakasnjeni sinerezi. Glede na to, da so polisaharidi hidrofilni in večina hidrokoloidov ni površinsko aktivnih, pa se primarno ne uporablajo kot emulgirna sredstva. Gumi Arabika je edini hidrokoloid, ki se splošno uporablja kot emulgator in izboljša stabilnost emulzij O/V. Kot glavna emulgirna sredstva se uporablajo proteini, predvsem mlečnega in živalskega izvora (Phillips in Williams, 2009; Milani in Maleki, 2012).

### 2.1.2.4 Sposobnost tvorbe užitnih filmov in embalažnih materialov

V zadnjih letih so užitni materiali in filmi v industriji pritegnili veliko pozornosti, saj so v primerjavi s sintetičnimi materiali užitni. Ta prednost se v industriji predvsem kaže v zmanjšanju nezaželenih odpadkov in onesnaževanju.

V živilih se lahko hidrokoloidi dodajajo kot nosilci naravnih ali kemijskih protimikrobnih snovi in antioksidantov, encimov ali drugih snovi kot so probiotiki, minerali in vitamini. S tem se izboljšata rok uporabe in funkcionalnost izdelka. Dobro delujejo tudi kot sredstva za zadrževanje vlage v živilu. V obliki filmov ali premazov pa preprečijo površinsko dehidracijo in kvarjenje (Bourtoom, 2008; Shit in Shah, 2014). Najbolj znan primer užitnega embalažnega materiala je ovitek hrenovk in klobas, ki ga med kuhanjem in pred zaužitjem ne odstranimo (Skurtys in sod., 2010).

Kljub velikim prednostim uporabe užitnih filmov in materialov, pa so njihove mehanske lastnosti in propustnost na splošno slabši od sintetičnih filmov in materialov. Za razvoj novih materialov in metod za tvorbo filmov ter izboljšanje mehanskih lastnosti bodo potrebne obsežne raziskave (Bourtoom, 2008).

### 2.1.3 Regulativa hidrokolojov

Hidrokoloide se obravnava in regulira kot živilske aditive ali kot sestavine v živilu. Evropska komisija je leta 1995 v skladu z Direktivo 95/2/EU o aditivih v živilih, razen barvil in sladil, prvič odobrila živilske hidrokoloide in avtorizira številne aditive iz skupin hidrokolojov (Phillips in Williams, 2009).

V Sloveniji je minister za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano v soglasju z ministrom za zdravje izdal Pravilnik o aditivih za živila (2010). V pravilniku je določena največja dovoljena vsebnost aditiva za vrsto živil, nekateri hidrokoloji se lahko dodajajo po načelu *quantum satis* (po potrebi) ali pa je predpisana največja dovoljena vsebnost. V preglednici 3 so prikazane dovoljene vsebnosti hidrokolojov v različnih živilih.

Preglednica 3: Dovoljena vsebnost hidrokolojov v živilih (Pravilnik o aditivih za živila, 2010)

<b>vrsta živila</b>	<b>aditiv – specifično ime</b>	<b>največja dovoljena vsebnost</b>
kakavovi in čokoladni izdelki, kot so definirani v predpisu o kakovosti kakavovih in čokoladnih izdelkih	E 414 gumi arabika E 440 pektini	samo kot sredstva za glaziranje <i>quantum satis</i>
ekstra džem in ekstra želes, kot so definirani v predpisu o kakovosti sadnih džemov, želesjev, marmelad in sladkane kostanjeve kaše	E 440 pektini E 401 natrijev alginat E 402 kalijev alginat E 403 amonijev alginat E 404 kalcijev alginat E 406 agar E 407 karagenan E 410 gumi iz zrn rožičevca E 412 guar gumi E 415 ksantan gumi E 418 gelanski gumi	<i>quantum satis</i> 10 g/kg (posamezno ali v kombinaciji)
delno dehidrirano in dehidrirano mleko, kot definirano v predpisu o dehidriranem konzerviranem mleku	E 407 karagenan	<i>quantum satis</i>
<b>navadna pasterizirana smetana</b>	E 401 natrijev alginat E 402 kalijev alginat <b>E 407 karagenan</b> E 466 natrijeva karboksimetil celuloza	<i>quantum satis</i>
sadni kompot	E 440 pektini	<i>quantum satis</i> (samo za kompot iz sadja, razen iz jabolk)
Ananasovi in pasjonkini sadni sokovi in nektarji	E 440 pektini	3g/l
zorjen sir v lističih in riban sir	E 460 glukonodeltalakton celuloze	<i>quantum satis</i>
pivo	E 414 gumi arabika	<i>quantum satis</i>

## 2.2 KARAGENAN

Rdeče morske alge ljudje že stoletja obirajo in uporabljajo v prehranske namene, tako v Evropi kot tudi na dalnjem vzhodu (Blakemore in Harpell, 2010). Najpogosteje rastejo ob obalah severne Amerike in Evrope ter na zahodno pacifiških obalah Koreje in Japonske (Milani in Maleki, 2012).

Karagenani so strukturni polisaharidi, ki se nahajajo v celičnih stenah rdečih alg (Rhodophyceae). Z ekstrakcijo jih pridobivajo iz vrst: *Chondrus crispus*, *Euchema cottoni*, *Euchema spinosum*, *Gigartina skottsbergii* in *Iradaea laminarioides*, vendar se vrsti *Euchema cottoni* in *Euchema spinosum* največ uporabljata za industrijsko pridobivanje karagenana (Milani in Maleki, 2012; Philips in Williams, 2009). Živilska industrija predstavlja 70-80 % celotne svetovne proizvodnje (45 000 ton letno), približno 45 % gre v mlečno in 30 % v mesno industrijo. Vrednost celotnega trga karagenanov znaša približno 300.000.000 ameriških dolarjev. Poleg živilske industrije karagenan uporabljajo tudi v farmacevtski, kozmetični in tekstilni industriji (Carvalho in sod., 2009).

V živilskih izdelkih karagenan zagotavlja funkcionalne lastnosti kot so želiranje, zgoščevanje in stabilizacija. Poleg izboljšane tekture, karagenan služi tudi kot dober vir prehranske vlaknine, saj se v človeškem telesu ne prebavi (Blakemore in Harpell, 2010).

### 2.2.1 Proizvodni proces karagenana

Za pridobivanje karagenana z ekstracijo in delno rafiniranega karagenana (znanega tudi kot predelana morska alga Evheuma, PES) se uporabljata različna proizvodna procesa. Primarna razlika med procesoma je v raztopljanju karagenana. Pri pridobivanju karagenana z ekstrakcijo raztopijo karagenan in odstranijo trdne ostanke, medtem ko pri procesiranju PES karagenan ostane v celuloznem matriksu (Blakemore in Harpell, 2010). Procesa sta prikazana na sliki 1.

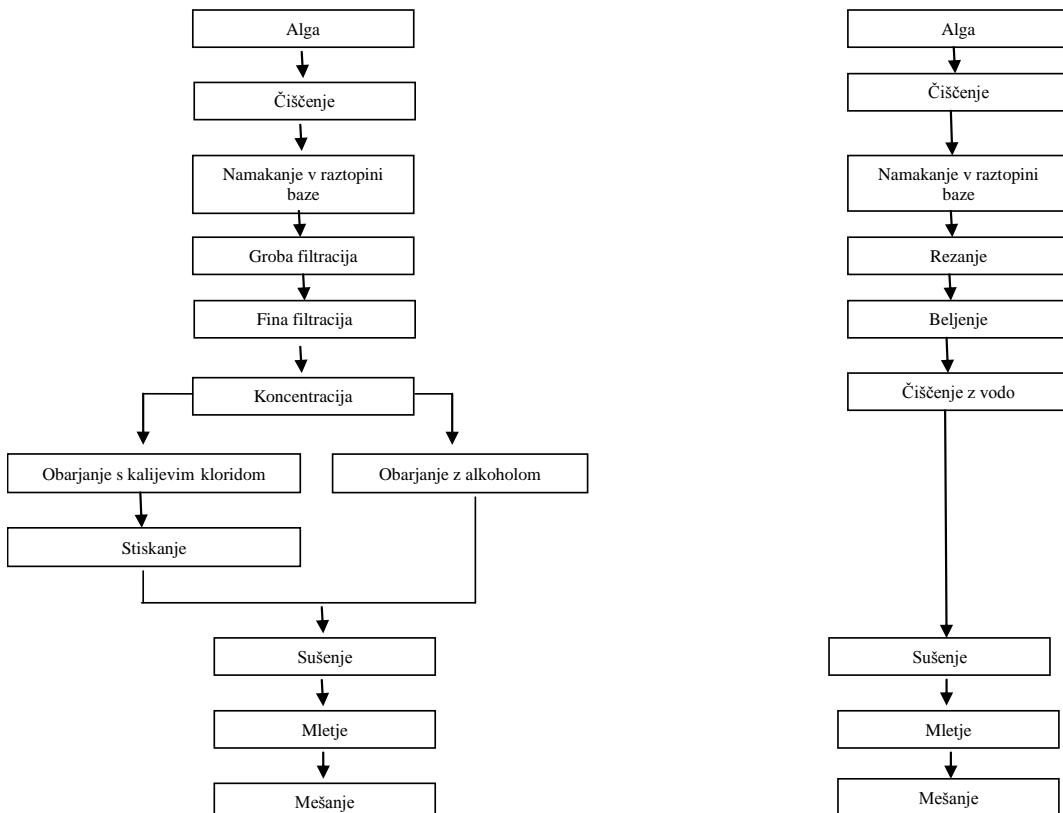
#### 2.2.1.1 Proizvodnja karagenana z ekstrakcijo

Proces se začne s preverjanjem kakovosti rdečih alg in možnega izkoristka, hkrati poteka tudi načrtovanje postopka v skladu z želenimi funkcionalnimi lastnostmi karagenana. Nato z alg očistijo pesek in kamenje, sledi sušenje, da se prepreči mikrobnost. V naslednjem koraku sušene alge namakajo v raztopini izbrane baze. Z omenjenim postopkom alge nabreknejo in proces ekstrakcije karagenana je olajšan. Vrsto baze izberemo, glede na to, v obliki katere soli želimo karagenan izolirati. Vrsta soli (natrijeva, kalijeva, kalcijeva) karagenana pomembno vpliva na disperzijske, hidratacijske, zgoščevalne in želirne lastnosti. V alkalnem mediju poteka dehidracija galaktoze v anhidro obliko, kar modificira glavno verigo polisaharida. Nastanek anhidridnega mostička v galaktozi povzroči, da polimer ohranja stalno konfiguracijo, kar vpliva na močnejše povezovanje med verigami

polimerov. Posledica tega so trdnejši in stabilnejši geli. Po ekstrakciji in modifikaciji strukture, razredčene ekstrakte karagenana filtrirajo s centrifugiranjem pri visokih hitrostih in nato koncentrirajo z vrsto različnih metod. Koncentrirane raztopine oborijo z izopropil alkoholom ali kalijevim kloridom in nastalo vlaknato maso stisnejo, da se odstranijo še zadnje nečistoče in raztopino nazadnje posušijo (Philips in Williams, 2009). Končne produkte izdelajo z mešanjem enega ali več ekstraktov, da zagotovijo enako kvaliteto in lastnosti, ki so potrebne za funkcionalnost v izbranih izdelkih ter ustrezajo potrošnikovim željam (Blakemore in Harpell, 2010).

#### 2.2.1.2 Proizvodni proces delno rafiniranega karagenana,PES

Predelano morsko algo Evheuma predelujojo direktno z alkalno modifikacijo, ko je karagenan še znotraj celulognega matriksa. Ta postopek je bolj ekonomičen, saj sta izpuščena procesa ekstrakcije in ponovnega koncentriranja ekstrahiranega karagenana. Primerjava med obema postopkoma je vidna na sliki 1. Oba postopka se začneta s selekcijo alg in čiščenjem. V koraku modifikacije se alga namaka v raztopini kalijevega hidroksida *in situ*. Pri takem postopku je ključno, da so kalijevi kationi v prebitku, saj le-ti preprečujejo, da bi se karagenan raztopil. To dosežejo s kalijevim hidroksidom, v nekaterih primerih tudi s kombinacijo natrijevega hidroksida/kalijevim kloridom. Sledita rezanje in beljenje za povečano intenziteto barve končnega praška. Po čiščenju, so koraki sušenja, mletja in mešanja enaki kot pri postopku ekstrakcije karagenana. Mikrobiološke zahteve so enake tako za karagenan kot za PES (Blakemore in Harpell, 2010).

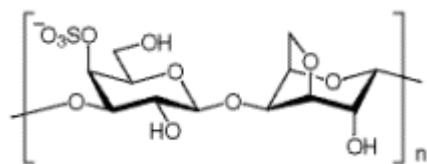


Slika 1: Proizvodna procesa za karagenan in predelano morsko algo Evheuma (Blakemore in Harpell, 2010)

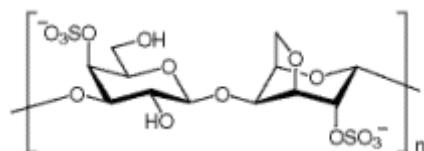
### 2.2.2 Kemijska struktura karagenana

Splošna struktura karagenana vsebuje ponavljajoče se  $\alpha$ -(1,3)- in  $\beta$ -(1,4)- glikozidne vezi, ki povezujejo enote D-galaktoze in 3,6-anhidro-D-galaktoze. Odvisno od stopnje in mesta sulfatne substitucije in prisotnosti 3,6-anhidro-D-galaktoze, ločimo različne tipe karagenanov. Med najbolj uporabljeni sodijo kappa ( $\kappa$ ), iota ( $\iota$ ) in lambda ( $\lambda$ ) karagenan (Patel, 2014).

Kappa karagenan (slika 2) je sestavljen iz ponavljajočih se disaharidnih enot  $\beta$ -(1,3)-D-galaktoze-4-sulfata in  $\alpha$ -(1,4)-3,6-anhidro-D-galaktoze in ima eno sulfatno skupino na posamezni disaharidni enoti (Yuguchi in sod., 2002).

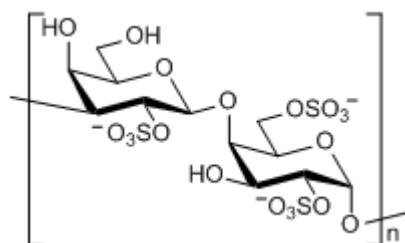
Slika 2: Ponavljajoča se disaharidna struktura  $\kappa$ -karagenana (Bardajee in sod., 2011)

Iota karagenan (Slika 3) je sestavljen iz ponavljajočih se disaharidnih enot  $\beta$ -(1,3)-D-galaktoze-4-sulfata in  $\alpha$ -(1,4)-3,6-anhidro-D-galaktoze-2-sulfata in ima dve sulfatni skupini na posamezni disaharidni enoti (Yuguchi in sod., 2002).



Slika 3: Ponavljajoča se disaharidna struktura  $\iota$ -karagenana (Bardajee in sod., 2011)

Lambda karagenan (Slika 4) je sestavljen iz ponavljajočih se disaharidnih enot  $\beta$ -(1,3)-D-galaktoze-2-sulfata in  $\alpha$ -(1,4)-D-galaktoze-2,6-disulfata in ne vsebuje 3,6-anhidro-D-galaktoze ter ima 3 sulfatne skupine na posamezni disaharidni enoti (Yuguchi in sod., 2002).



Slika 4: Ponavljajoča se disaharidna struktura  $\lambda$ -karagenana (Bardajee in sod., 2011)

### 2.2.3 Regulativa karagenana

Za karagenan in PES je po zbirki standardov Codex Alimentarius, ki ga pripravljata FAO in WHO, določen skupen sprejemljiv dnevni vnos (ADI - Acceptable Daily Intake) kot „neopredeljeno“. Na evropski ravni je v prvi prilogi Evropskega parlamenta in Evropskega sveta Direktive 95/2/EC o aditivih za živila, uporaba obeh karagenanov v številnih kategorijah živil dovoljena po načelu *quantum satis* – po potrebi oz. količina, ki je potrebna za dosego dane tehnološke koristi (Cargill, 2016). Živila, ki ga vsebujejo, ga morajo v okviru navedbe sestavin tudi označiti (NIJZ, 2016). Karagenan je označen kot E 407, PES pa kot E 407a (McHugh, 2003).

### 2.2.4 Varnost karagenana

Karagenan in PES imata dolgo zgodovino uporabe in se globalno uporablja kot aditiv v živilih. Karagenan, ki se uporablja v živilskih izdelkih, ima povprečno molekulsko maso večjo od 100 000 Da in se v človeškem telesu ne razgradi in ne absorbira. Kot vlaknina pozitivno učinkuje na prebavo (Wüstenberg, 2015; Cohen in Ito, 2002).

Kljub uradnemu dovoljenju za uporabo v prehrani, v zadnjih 50 letih intenzivno raziskujejo možna zdravstvena tveganja zaradi karagenana, ki ga ljudje v živilih zaužijejo. Polemike in razprave o vplivu karagenana na človeško zdravje se periodično pojavljajo v akademski literaturi in medijih. Regulativni organi in neodvisni znanstveni svetovalni odbori vztrajajo pri stališču, da je karagenan varen za prehrano ljudi. Karagenan je odobren s strani FDA (Food and Drug Administration) v Združenih državah Amerike, Evropskega parlamenta in Sveta in JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Vendar so v nekaterih državah sprejeli varnostne ukrepe in omejili vrsto živil v katerih je uporaba karagenana dovoljena. Karagenana ni dovoljeno dodajati v mlečne formule za dojenčke v Evropi, medtem ko je v ZDA uporaba dovoljena (Burges Watson, 2007).

Znanstveni odbor za prehrano Evropske komisije je nedavno uvedel mejo med molekulsko maso visoko molekularnega in nizko molekularnega karagenana, ki je strožja v primerjavi s tisto v ZDA. Hkrati pa Znanstveni odbor za prehrano priznava: 'da ni dokazov, da bi bili izpostavljeni karagenanu z nizko molekulsko maso'. Ta previdnostni pristop v Evropi je potreben zaradi morebitnih negativnih odzivov javnosti in vlad, kar se navadno ne ujema s praksami drugod. Ta primer ponazarja regulacijo karagenana, ki ni mednarodno enoten in polemiko o uporabi karagenana, ki še ni bila rešena v zadovoljstvo vseh (Burges Watson, 2007).

Ugotovljeno je bilo, da naj bi bila toksičnost karagenana odvisna od molekulske mase. Karagenan se lahko pojavi v več oblikah, od nizko molekularnega ali razgrajenega do visoko molekularnega ali nerazgrajenega. USAN (US Adopted Names Council) definira razgrajen karagenan kot poligenan s povprečno molekulsko maso od 10 000-20 000 Da, ki je pridobljen s kislo hidrolizo in ne z alkalno. Poligenan se v živilih ne uporablja. Raziskave na živalih so pokazale, da je bil poligenan v visokih koncentracijah, v nasprotju s karagenanom, povezan z vnetnimi in proliferativnimi lezijami gastrointestinalnega trakta, vključno s tumorji (Prajapati in sod., 2014). Dolgoročni biološki testi na glodalcih so pokazali, da karagenan ni rakotvoren oz. za njegovo rakotvornost ni verodostojnih dokazov. Pomanjkanje dokazov za karcinogeno, genotoksično in tumorsko delovanje podpira nadaljnji sprejemljiv dnevni vnos (ADI) karagenana kot „neopredeljeno“ (Cohen in Ito, 2002). Evropska agencija za varnost hrane (EFSA), ki je nasledila Znanstveni odbor za hrano, namerava karagenan glede varnosti presojati do konca leta 2016. Do takrat v EU velja, da na podlagi obstoječih dokazov ne predstavlja tveganja za zdravje ljudi (NIJZ, 2016).

## 2.2.5 Biološka aktivnost karagenana

Raziskovalci pripisujejo karagenanu tudi vrsto pozitivnih učinkov na zdravje: antikoagulantske, antitrombotske, protivirusne in antitumorne učinke. Antikoagulantsko in antitrombotsko delovanje vključuje mehanizem zaviranja aktivnosti trombina (Pangestuti in Kim, 2014).

Karagenan je selektivni inhibitor več virusov z ovojnico, vključno s človeškimi patogeni kot so humaniimunodeficientni virus (HIV), herpes (HSV), citomegalovirus (CMV), rinoavirus in drugi. Protivirusno deluje predvsem s preprečevanjem vezave ali vstopa virusa v celice. Karagenani lahko tudi inhibirajo sintezo virusnih proteinov znotraj celice (Necas in Bartosikova, 2013). Številne študije poročajo, da imajo karagenani antiproliferativno aktivnost v rakavih celicah *in vitro* kot tudi inhibitorno delovanje na rast tumorja *in vivo* (Haijin in sod., 2003). Souza in sod. (2007) so v svoji raziskavi pokazali tudi antioksidativno delovanje kappa, iota in lambda karagenana *in vitro*. Vsi so zavirali nastanek hidroksilnih radikalov.

### 2.2.6 Uporaba karagenana

Poleg celuloze in škroba je karagenan eden najbolj razširjenih polisaharidov v naravi, čeprav ga vsebujejo samo rdeče alge. Večkrat ga najdemo v predelanih živilih in kozmetičnih izdelkih kot želirno, zgoščevalno in stabilizacijsko sredstvo. Kot aditiv se uporablja v mlečnih in mesnih izdelkih, pijačah, začimbah, dresingih in v hrani za hišne živali (Prajapati in sod., 2014). Predvsem se karagenan uporablja v mlečnih izdelkih, kjer je dodan v zelo majhnih količinah (0,01-0,05 %). Kappa karagenan dodan skuti (0,01-0,04 %) uspešno preprečuje separacijo sirotke (McHugh, 2003). V koncentraciji 0,03 % prepreči separacijo maščobnih kapljic v čokoladnem mleku in stabilizira suspenzijo kakavovih delcev. Ravno tako v svežih sirih preprečuje sinerezo (Belitz in sod., 1999). Karagenan najdemo še v številnih mlečnih izdelkih: sladoledih, stepeni smetani, zamrznjenih desertih, kremah, pudingih in jogurtih, kjer ohranja njihovo teksturo (Prajapati in sod., 2014). Preglednica 4 prikazuje uporabo karagenana in drugih hidrokoloidov v mlečnih izdelkih (slovenski in tuji), ki jih najdemo pri nas v trgovini.

Druga skupina živil, v katere se karagenan pogosto dodaja, so mesni izdelki. V predelanih mesnih izdelkih izboljša čvrstost in barvo mesa ter zmanjša izgube vode med kuhanjem, tako da ostane meso sočno. Uporaben je tudi kot vezivno sredstvo v rekonstruiranih mesnih izdelkih kot so zvitki in klobase (Menon, 2011). Danes se ga pogosto dodaja tudi kot nadomestek maščobe v mesnih izdelkih z nizko vsebnostjo maščobe (Fischer, 2009). Poleg konvencionalne rabe karagenana v zadnjih letih narašča uporaba karagenanov oblik užitnih materialov in filmov na različnih področjih živilske industrije; npr. v mesni industriji za preprečevanje površinske dehidracije svežega in zamrznjenega mesa (Moraes in sod., 2012). V minimalno predelani zelenjavi in sadju je karagenan nosilec funkcionalnih sestavin za izboljšanje kakovosti in roka uporabe. Na karagenan vezane funkcionalne sestavine vključujejo protimikrobne snovi, antioksidante, ojačevalce teksture in nutracevtike za izboljšanje funkcionalnosti svežega narezanega sadja in zmanjšanja izgub vlage, oksidacije in dezintegracije (Dhall, 2013; Lacroix in Tien, 2008).

Preglednica 4: Mlečni izdelki z dodanim karagenanom in drugimi hidrokoloidi (lastni podatki)

<b>izdelek</b>	<b>karagenan E407</b>	<b>vloga</b>	<b>drugi hidrokoloidi</b>	<b>vloga</b>
krem sladoled Planica	da	stabilizator	gumi iz zrn rožičevca E410 guar gumi E412	stabilizator stabilizator
puding Mercator okus čokolada s smetano	da	gostilo	ne	/
mousse čokolada Dukat	da	gostilo	ne	/
mlečni desert + čokolada Monte maxi	da	gostilo	gumi iz zrn rožičevca E410	gostilo
Mu Cuisine alpska smetana stepena	da	gostilo	ne	/
Mu mlečni namaz z zelišči	ne	/	guar gumi E412 modificiran škrob	stabilizator gostilo
Mercator Lumpi sirni namaz s smetano	da	stabilizator	guar gumi E412 gumi iz zrn rožičevca E410 modificiran škrob E1401 želatina E441	stabilizator stabilizator gostilo stabilizator
Rauch kavni napitek z mlekom	ne	/	celuloza E460 gumi celuloza E466	stabilizator stabilizator
čokoladno mleko Ljubljanske mlekarne	da	stabilizator	guar gumi E412 modificiran škrob E1401	stabilizator gostilo

## 2.2.7 Funkcionalne lastnosti karagenana

Za različne tipe karagenanov je značilna različna kemijska struktura, lastnosti in uporabnost. Glede na izvor in stopnjo sulfatne substitucije, je bilo do zdaj identificiranih sedem različnih karagenanov (Janaswamy in Chandrasekaran, 2001). Komercialno zanimivi karagenani pa so predvsem  $\kappa$ ,  $\iota$  in  $\lambda$  karagenan. Njihova uporabnost je povezana s sposobnostjo zgoščevanja, želiranja. Razlike med njimi so v topnosti, hidrataciji, želirnih lastnostih, kislinski stabilnosti in interakciji s proteinimi (FAO, 2016).

### 2.2.7.1 Topnost

Vsi karagenani so topni v vroči vodi ( $> 60^{\circ}\text{C}$ ) in netopni v večini organskih topil. Na topnost karagenana v vodi vplivajo številni dejavniki, najpomembnejši so struktura karagenana in vrsta kationa ob sulfatni skupini, prisotnost drugih soli ali neionskih topljencev, temperatura in pH (CpKelco, 2001).

Samo  $\lambda$ -karagenan je topen v mrzli vodi,  $\kappa$ -in  $\iota$ -karagenan sta topna v mrzli vodi le v obliki natrijevih soli. Vsi karagenani so ravno tako topni v vročem mleku, vendar je le  $\lambda$ -karagenan topen tudi v mrzlem mleku. Razlog za to je veliko število sulfatnih skupin, ki  $\lambda$ -karagenanu omogočajo dobro topnost pri različnih pogojih.  $\kappa$ -karagenan vsebuje manj sulfatnih skupin in 3,6-anhidro-D-galaktozo (slika 2) in je zato tudi manj hidrofilen

(Blakemore in Harpell, 2010; Patel, 2014). Na topnost  $\kappa$ -karagenana najbolj vpliva prisotnost drugih topljencev. Drugi prisotni topljenci tekmujejo s karagenanom za molekule vode in tako zmanjšajo hidratacijo in topnost karagenana. Pri tem so anorganske soli najbolj učinkovite, zlasti kadar je prisoten kalijev kation. 1,5 do 2 % kalijevega klorida pri sobni temperaturi prepreči raztopljanje  $\kappa$ -karagenana. Podoben vpliv ima tudi natrijev klorid, vendar mora biti koncentracija 4 do 4,6 % (CpKelco, 2001).

#### 2.2.7.2 Reološke lastnosti raztopin karagenana

Hidratacija karagenana se v vodnem mediju začne že pri temperaturah temperaturah 40-60 °C. Ko se molekule hidratirajo, se poveča viskoznost raztopine, saj se zaradi vezave vode molekulam karagenana poveča volumen, večje, nabrekle molekule nudijo večji odpor na pretok. Nadaljnje segrevanje do 75-80°C povzroči znižanje viskoznosti. Viskoznost se ponovno poveča med ohlajanjem, čemur sledi želiranje pri temperaturah pod 40-50 °C. Temperature hidratacije in želiranja so zelo odvisne od vrste soli karagenana ali dodatka soli v raztopino. Na primer, 4 % natrijevega klorida v mesni slanici lahko popolnoma prepreči raztopljanje karagenana (Blakemore in Harpell, 2010).

#### 2.2.7.3 Želirne lastnosti

Kapa ( $\kappa$ ) karagenan v prisotnosti kalijevih soli tvori močan in krhek gel. Gel je rahlo motne barve, z dodatkom sladkorjev pa postane brezbarven. Geli  $\kappa$ -karagenana so slabo stabilni pri večkratnem zmrzovanju in tajanju, opazna je tudi sinereza. Sinereza je pojav izločanja tekočine iz gela.  $\iota$ -karagenan ob prisotnosti kalcijevih soli tvori elastične brezbarvne gele z dobro stabilnostjo, kljub večkratnemu zmrzovanju in tajanju. Tvorba gela je odvisna od ionske moči: večja ionska moč spodbuja nastanek 'junction zones' in s tem tvorbo gela. Za ta gel sinereza ni značilna.  $\lambda$ -karagenan ne tvori gela, vendar zelo viskozne raztopine. V svoji strukturi nima 3,6-anhidro vezi (slika 4), ki je potrebna za nastanek dvojne vijačnice.  $\lambda$ -karagenan se uporablja kot sredstvo, ki preprečuje okvaro tkiv pri zamrzovanju in v kombinaciji z gumijem iz zrn rožičevca lahko izboljša stabilnost zamrznjenih izdelkov pri večkratnem zmrzovanju in tajanju (FAO, 2016; Izydorczyk in sod., 2005; Patel, 2014).

#### 2.2.7.4 Stabilnost v kislem

Pri pH pod 5,5 raztopine karagenana začnejo izgubljati viskoznost in sposobnost želiranja, vendar tehnološke lastnosti ohranijo do pH 3,5. V kislem hidrolizira 3,6-anhidrogalaktozna vez. Stopnja hidrolize je višja pri povišanih temperaturah. Karagenan se v kisle izdelke dodaja zadnji trenutek, s tem se delno prepreči razgradnjo anhidro strukture (Blakemore in Harpell, 2010).

#### 2.2.7.5 Interakcija s proteini

Interakcija med karagenanom in mlečnimi proteini se že dolgo izkorišča za stabilizacijo mlečnih izdelkov (Puvanenthiran in sod., 2003). Najbolj znane interakcije so med karagenanom in kazeinom. Specifične interakcije s  $\kappa$ -kazeinom so značilne za pH nad

izoelektrično točko proteina, pri nižjih pH pa se nespecifično poveže s protoniranimi amino skupinami  $\alpha$  in  $\beta$ -kazeinov. Specifične interakcije s kazeinom se v komercialne namene večkrat izkoriščajo, saj omogočajo delovanje karagenana, ne da bi pretirano vplival na strukturo kazeinskih micel in mleka kot celote. Specifično interakcijo pripisujemo elektrostatični privlačnosti med negativno nabito sulfatno skupino karagenana in pozitivno nabito regijo v peptidni verigi  $\kappa$ -kazeina (Mohos, 2010). Zaradi sposobnosti karagenana, da se veže z mlečnimi beljakovinami, dosegamo ustrezne funkcionalne lastnosti karagenana pri želiranju mleka že pri dodatku malih količin aditiva (0,03 %  $\kappa$ -karagenan in 0,05 %  $\iota$ -karagenan) z namenom želiranja mleka (Arltoft in sod., 2007).

## 2.3 SMETANA

Smetana je plast mlečne mašcobe, ki se naravno nabere na površini mleka s počasnim kopičenjem emulgiranih maščobnih kapljic. Odstranijo jo lahko s posnemanjem s površine mleka ali s centrifugiranjem mleka v ločevalcu za smetano (Steles, 2014). Smetana je poleg mlečne mašcobe (30-35 %), sestavljena tudi iz proteinov (2 %) kazeina in globularnih proteinov sirotke, sladkorjev (2,7 %) in nekaterih mineralov, predvsem kalija 0,86 % in kalcija 0,58 % ter približno 65 % vode (The Dairy Council, 2016).

Stepena smetana se pogosto uporablja v živilstvu, posebej v slaščičarstvu kot okusen dodatek sladicam, pecivu in sladoledu, v trgovini pa jo najdemo tudi kot komercialen zamrznjen izdelek (Chiralt in sod., 2001).

Tradicionalna stepena smetana je disperzija zračnih mehurčkov stabilizirana s togo mrežo delno koalescentnih maščobnih kapljic (Allen in sod., 2008). Koalescenza je ireverzibilno združevanje kapljic v večje kapljice zaradi poškodovanega medfaznega filma (Teskač in Gašperlin, 2009). Brez dodanih aditivov mora smetana vsebovati vsaj 30 % mašcobe, da se lahko uspešno stepa v peno in ohrani svojo strukturo (Smith, 2000b). S pravnega vidika se definicija smetane za stevanje glede na predpisano vsebnost mašcobe razlikuje od države do države. Po slovenskem Pravilniku o kakovosti mleka, mlečnih izdelkov, sirih in čistih cepiv (1993), je vsebnost mašcobe v smetani za stevanje prepuščena proizvajalcem, ne sme pa biti manjša od 10 %, v Belgiji je določena minimalna vsebnost 40 % in v Veliki Britaniji 35 % (Vermeir, 2011).

### 2.3.1 Proces stepanja

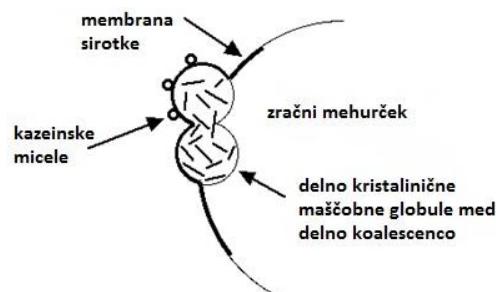
Stepanje je proces, pri katerem v smetano vnašamo zrak. Rezultat stevanja je čvrsta pena zračnih mehurčkov povprečnega premera 0,15 mm (Deosarkar in sod., 2016). V svoji študiji van Aken razlikuje tri faze stevanja. V prvi fazi se zaradi velike količine vnesenega zraka prostornina hitro povečuje. Vtepeni zrak je sprva v obliki velikih zračnih mehurčkov, ki pa s stevanjem postajajo manjši (van Aken, 2001). Zračni mehurčki so stabilizirani s

proteini v sirotki. Čvrstost sметane in stabilnost je v tej fazи še majhna. V drugi fazi ostaja prostornina konstantna in se ne povečuje več. Zračni mehurčki so majhni in obdani z maščobnimi kapljicami (slika 5) (van Aken, 2001). Visoka gostota zračnih mehurčkov obdanih z maščobnimi kapljicami prepreči nadaljnji vnos zraka. Rezultat je zmanjšanje velikosti mehurčkov vse dokler ni dosežena maksimalna čvrstost pene. Med zlivanjem zračnih mehurčkov se maščobne kapljice na medfazni površini zrak-sirotka stiskajo in delno zlivajo v skupke (Vermeir, 2011). Mreža delno koalescentnih maščobnih kapljic stabilizira smetano (Hotrum in sod., 2005). Nadaljnje stepanje vodi do tretje faze, v kateri se čvrstost smetane še povečuje, zmanjšuje pa se izločanje sirotke. Zdi se, da je to povezano z nadalnjim združevanjem maščobnih kapljic. Z nadaljevanjem stepanja pa so skupki maščobnih kapljic vedno večji, vse dokler ne preidejo v kontinuirano fazo, ko se izloči maslo. Od te točke nadaljnje stepanje povzroči hitro destabilizacijo zračnih mehurčkov in zmanjšanje prostornine (van Aken, 2001).

#### 2.3.1.1 Oblikovanje strukture smetane pri stepanju - delna koalescencija maščobnih kapljic

Delna koalescencija je kot koalescencija irreverzibilen pojav, pri katerem pride do delnega združevanja maščobnih kapljic zaradi delno pretrganega medfaznega filma (slika 5). Skupke maščobnih kapljic drži kombinacija maščobnih kristalov in maščobe v tekoči obliki in je zato odvisna od temperature. Ko se kristali maščobe začnejo taliti, se tudi strukture skupkov podrejo. Do združevanja maščobnih kapljic pride v strižnem polju kot je npr. med stepanjem. Struktura delne koalescence maščob prevladuje v zračnih mlečnih emulzijah (Goff, 2016a).

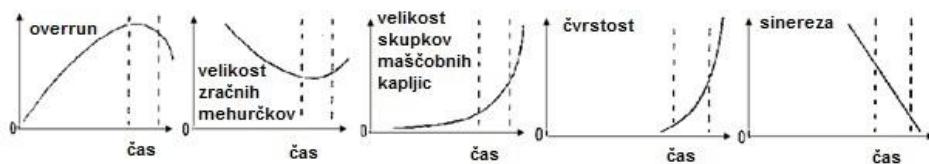
Med procesom stepanja se smetana iz viskozne tekočine pretvori v viskoelastično snov. Nastanek strukture, ki je značilna za smetano, temelji na delni koalescenci maščob. V začetni fazи stepanja so zračni mehurčki stabilizirani z  $\beta$ -kazeinom in proteini sirotke, maščoba le malo pripomore k stabilizaciji. Nadaljnje stepanje povzroči adsorpcijo maščobe na zračne mehurčke, ko se membrana maščobne kapljice združi z medfaznim prostorom zrak-voda. Ko maščobna kapljica delno vstopi v zračni mehurček se membrana sirotke, ki je prej na tem mestu obdajala mehurček, prekine in  $\beta$ -kazein in proteini sirotke ostanejo na zunanji površini maščobne kapljice (slika 5). V končni fazи se smetana stabilizira z zamreženjem maščobnih kapljic okrog posameznih zračnih mehurčkov (Goff, 2001). Ko se maščoba delno zlige z zračnim mehurčkom, povzroči povezovanje enega zračnega mehurčka stabiliziranega z maščobo z drugim, kar imenujemo delna koalescencija maščobne strukture. Posledica nastanka delno koalescentne maščobne strukture je trda struktura in gladek ter suh izgled smetane. Voda, lakoza in proteini so ujeti v prostoru med zračnimi mehurčki stabiliziranimi z maščobo (slika 5). Vsebnost maščobe v kristalinični obliki je ključnega pomena, da lahko maščobne kapljice z delno koalescenco zgradijo tridimensionalno strukturo in se ne zligejo v celoti v večje in večje kapljice, ki ne gradijo primerne strukture. Kristali maščob znotraj kapljice omogočajo medsebojno povezovanje kapljic v verige in skupke, vendar pri tem še vedno ohranjajo svoje lastnosti (Goff, 2016b).



Slika 5: Strukturna zgradba stabiliziranega zračnega mehurčka v stepeni smetani (Goff, 2016b)

### 2.3.2 Kakovostni parametri stepene smetane

Parametri za določanje kakovosti stepene smetane v industriji so čas stepanja, povečana prostornina ali ti. overrun, tekstura in stabilnost (Bruhn C. in Bruhn J., 1988). Pregled sprememb nekaterih parametrov, kot so overrun, velikost zračnih mehurčkov, velikost skupkov maščobnih kapljic, čvrstost in sinereza, je podan na sliki 6.



Slika 6: Spremembe kakovostnih parametrov med stepanjem smetane (Vermeir, 2011)

#### 2.3.2.1 Čas stepanja

Na čas stepanja vplivajo različni dejavniki kot so sestava smetane (vsebnost maščobe in proteinov), toplotna obdelava smetane in morebitno dodana vrsta ter koncentracija emulgatorja ali stabilizatorja. V največji meri pa na čas vplivata vsebnost maščobe in proteinov. Manjša vsebnost proteinov in večja vsebnost maščobe skrajša čas stepanja (Smiddy in sod., 2009). Dodatek emulgatorjev kot sta npr. Tween ali monogliceridov, ravno tako skrajšajo čas stepanja, dodatek stabilizatorjev pa ima nasproten učinek (Everett, 2007).

Čas stepanja je odvisen od tega, kako hitro se lahko zgradi delno koalescentna mreža maščobnih kapljic. Krajši čas dosežemo s stepanjem pri visokih hitrostih (visoka hitrost vrtenja metlice za sneg) (Hotrum in sod., 2005). Čas stepanja je definiran kot čas, potreben za dosego končne točke v procesu stepanja. Za končno točko se najpogosteje uporablja točka, kjer se doseže maksimalna prostornina in je točka največje togosti. Točki nista enakovredni, saj se maksimalna togost pojavi po točki maksimalnega volumna in ko je prostornina že začela upadati (Smiddy in sod., 2009).

V raziskavi, ki jo je vodil van Aken (2001), je končno točko stepanja določil z vrhom moči, ki je bila potrebna za stepanje (meril je električni tok motorja), ker se ujemala z maksimalno togostjo. Van Lent in sod. (2008) pa so določili čas stepanja vizualno, dokler ni bil dosežen maksimalni overrun.

### 2.3.2.2 Overrun – merilo za povečanje prostornine smetane pri stepanju

Pri stepanju se prostornina smetane poveča. Na hitro lahko rečemo, da se prostornina smetane poveča zaradi vezanega zraka. Če želimo biti natančnejši pa povečanje prostornine pri stepanju zajema vse spremembe prostornine zaradi reorganizacije vseh komponent smetane in prostornino vezanega zraka. Overrun, merilo za povečanje prostornine smetane pri stepanju, podajamo relativno kot razmerje razlike prostornin stepene in nestepene smetane in prostornine nestepene smetane ( $(V_{\text{stepena smetana}} - V_{\text{nestepena smetana}})/V_{\text{nestepena smetana}}$ ) ter v odstotkih (%). Overrun lahko izračunamo iz gostot smetane pred in po stepanju po enačbi 1 (Smiddy in sod., 2009).

$$\text{Overrun} = \frac{\rho_{\text{nestepene smetane}} - \rho_{\text{stepene smetane}}}{\rho_{\text{stepene smetane}}} \times 100 \% \quad \dots (1)$$

Birkett (1983) je opazil, da maksimalna prostornina stepene smetanesovпадa z maksimalno stabilnostjo in togostjo pene. V tej točki so bili vsi zračni mehurčki inkapsulirani v koalescentne maščobne kapljice, ki so se adsorbirale v medfazni prostor zrak/serum.

Količina vezanega zraka se s časom stepanja povečuje vse dokler se ne začnejo maščobne globule združevati in se pena sesede (Jakubczyk in Niranjan, 2006). Na prostornino vezanega zraka vpliva tudi dodajanje stabilizatorjev, ki količino zraka v stepeni smetani zmanjšujejo. Kljub temu pa dodatek stabilizatorjev, zaradi interakcij s proteini v smetani, poveča viskoznost stepene smetane in zmanjša sinerezo (Everett, 2007; Vermeir, 2011).

### 2.3.2.3 Tekstura

Proces stepanja pretvori tekočo emulzijo v zračno viskoelastično trdno snov. Viskoelastično obnašanje se lahko analizira z merjenjem reoloških lastnosti kot sta elastični modul ( $G'$ ) in viskozni modul ( $G''$ ). Oba modula se povečata s povečanim vnosom zraka. Prav tako so parametri tekture viskoznost, kohezivnost, čvrstost in konsistenza (Vermeir, 2011; Zhao in sod., 2009). Viskoznost predstavlja upor tekočine na pretok; kohezivnost moč medmolekulskih vezi, ki sestavljajo snov; čvrstost, silo, ki je potrebna za dosežek deformacije (N) (O'Callaghan in Guinee, 2004), konsistenza pa je povezana z viskoznostjo snovi (Björn in sod., 2012).

### 2.3.2.4 Stabilnost

Kot vsaka emulzija, je tudi pena termodinamsko nestabilna. Opazne spremembe se kažejo v porazdelitvi velikosti zračnih mehurčkov ali v spremembni prostorske ureditve mehurčkov skozi časovno obdobje. Povečanje povezanosti maščobnih kapljic zaradi koalescence je eden glavnih dejavnikov za strjevanje sметane. Kot posledica se zaznana tekstura, občutek v ustih in okus sladic na osnovi smetane skozi čas spremenijo (Piazza in sod., 2009).

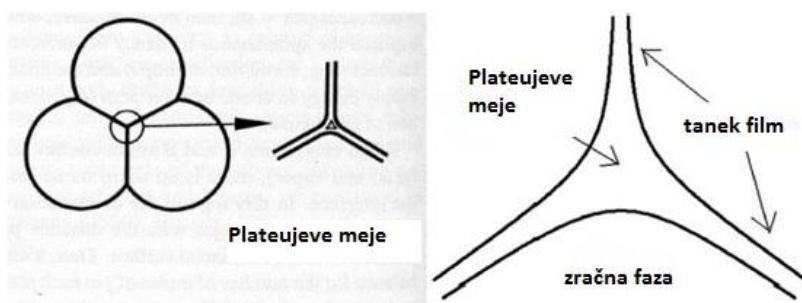
Na destabilizacijo stepene smetane vplivajo trije različni procesi: Ostwaldovo zorenje, sinereza in koalescencija zračnih mehurčkov (Gravier in sod., 2006).

### 2.3.2.5 Ostwaldovo zorenje

Ostwaldovo zorenje je proces, pri katerem večji zračni mehurčki rastejo na račun manjših mehurčkov. Gonilna sila Ostwaldovega zorenja je razlika v kapilarnem tlaku med mehurčki različnih velikosti. Rezultat tega je sprememba v porazdelitvi velikosti mehurčkov (Dutta in sod., 2004). Nastali pojav se upočasni, kadar so zračni mehurčki enako veliki, česar pa z uporabo navadne kuhinjske opreme žal ne moremo doseči. Druga možnost je povečanje viskoznosti tekoče faze s hidrokoloidi ali s povečanjem moči medfazne plasti okrog zračnih mehurčkov s površinsko aktivnimi proteinimi. Plast delno kristaliziranih maščobnih kapljic, ki so v fazi delne koalescence prisotni v medfaznem prostoru zrak-voda okrog zračnih mehurčkov, se je izkazala za najučinkovitejšo metodo (Vermeir, 2011).

### 2.3.2.6 Sinereza

Zaradi razlike v tlaku med notranjostjo mehurčka in tekočo fazo, se pojavi sinereza. Tlak v notranjosti tekoče faze je bistveno manjši kot v zračnih mehurčkih, zato se tekočina izlije v Plateujeve meje (Plateau borders, slika 7). To so kanali med mehurčki. Ko tekočina doseže Plateujevo mejo, postane pretok, zaradi sile gravitacije, bolj izrazit. Pretok je mogoče upočasnit s povečanjem viskoznosti, npr. z dodajanjem raznih gumijev ali z vzdrževanjem nizkih temperatur (Vermeir, 2011).



Slika 7: Kanali (Plateujeve meje) v stiku s tekočo fazo (Heuser in sod., 2008)

### 2.3.2.7 Koalescenza zračnih mehurčkov

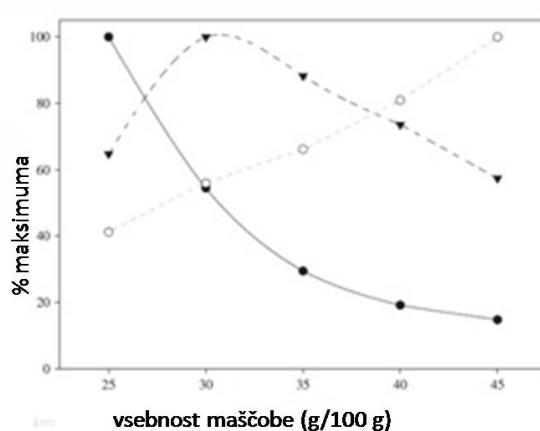
Koalescenza zračnih mehurčkov je pojav, pri katerem se pretrga tanka plast tekočine, ki ločuje dva sosednja mehurčka (Carrier in Colin, 2003). Proses se začne z nastankom vrzeli v medfaznem filmu med mehurčkoma. Ko vrzel doseže neko kritično velikost, začne vrzel rasti in mehurčka se zaradi medfazne napetosti združita. Nastane nov, večji mehurček z zmanjšano površino. Velika razlika v gostoti med tekočino in plinom povzroči tok vode skozi mrežo Plateaujevih mej. Ko se količina vode na fazni meji znatno zmanjša, se opna mehurčka pretrga in pena se počasi začne sesedati. Adsorpcija trdnih koloidnih delcev v medfazni prostor mehurček/voda bi lahko podaljšala obstojnost pen do nekaj tednov in celo mesecev. Koloidni delci imajo zmožnost formiranja toge plasti, ki zagotavlja mehansko odpornost proti Ostwaldovemu zorenju in koalescenci. Z drugimi besedami, mehurčki bi se začeli obnašati kot trdne sfere, zaradi močne togosti trdnih plasti, ki bi pokrivale njihove medfazne prostore (Gravier in sod., 2006).

### 2.3.3 Dejavniki, ki določajo funkcionalne lastnosti stepene smetane

Med dejavnike, ki vplivajo na funkcionalne lastnosti smetane, štejemo vsebnost maščobe, temperaturo, homogenizacijo, toplotno obdelavo smetane in prisotnost stabilizatorjev ter emulgatorjev (Bazmi in Relkin, 2009).

#### 2.3.3.1 Vsebnost maščobe

Da se tvori stabilna mreža zračnih mehurčkov, stepena smetana ne bi smela vsebovati manj kot 30 % maščobe. Večja vsebnost maščobe skrajša čas stevanja, povzroči večjo čvrstost in manjšo sinerezco. Z večanjem vsebnosti maščob (nad 38 %) pa na čvrstost ne vplivamo bistveno, zmanjšamo pa overrun. Smetana z manjšo vsebnostjo maščobe, pod 30 %, je karakterizirana z dolgim časom stevanja in s povečano stopnjo sinerezze (Vermeir, 2011).



Slika 8: Vsebnost maščobe in vpliv na čas stevanja (●), togost (○) in overrun (◀) stepene smetane (Smiddy in sod., 2009) Opomba: Vrednosti so izražene v procentih maksimalne vrednosti

### 2.3.3.2 Temperatura

Temperatura močno vpliva na proces stevanja, saj je učinkovitost stevanja odvisna tudi od prisotnosti določenega deleža maščob v trdnem agregatnem stanju (Wijnen, 1997). Maščobne kapljice v trdem stanju igrajo ključen pomen pri procesu delne koalescence in vplivajo na čvrstost smetane. Mlečna maščoba je mešanica različnih triacilglicerolov (okoli 98 %) z različnimi tališči (od – 40 °C do 40 °C). Na splošno pa naj bi se maščoba strdila pri 5 °C in začela taliti pri temperaturah pod 37 °C (Vermeir, 2011). Pred stevanjem je zato priporočljivo sметano hladiti (Bruhn C. in Bruhn J., 1988). Ihara in sod. (2010) so v svoji raziskavi prikazali vpliv temperature (5 do 15 °C) na stevanje in reološke lastnosti stepene smetane. Pokazali so, da se je z višanjem temperature čas stevanja, overrun in premer zračnih mehurčkov zmanjšal, nasprotno pa se je stopnja združevanja maščobnih kapljic povečala. Rezultati so pokazali, da je izdelava stepene smetane pri temperaturnem območju 7,5 do 12,5 °C najbolj ugodna za izdelavo smetane z dobro teksturo.

### 2.3.3.3 Homogenizacija

Homogenizacija povzroči nastanek manjših in bolj stabilnih maščobnih kapljic, ki so stabilizirane z vmesno fazo adsorbiranih proteinov. Novo nastala plast prepreči flokulacijo in koalesenco kapljic, s čimer se zmanjša možnost fazne separacije. Razlog za to je sekundarna membrana, ki vzpostavi tako imenovano za-kalcij-občutljivo regijo kazeina. S tem se poveča reaktivnost maščobnih kapljic. Nastala struktura pene je stabilizirana s kazeinom na površini maščobnih kapljic preko kalcijevih mostičkov (Hoffman, 2011). Homogenizacija povzroči tudi povečano število dispergiranih faz in zmanjšanje velikostne porazdelitve kapljic in njihovo povprečno razdaljo. Med njimi se poveča odpornost in kapljice se težje premikajo, kar povzroči večjo navidezno viskoznost. Poleg tega zmanjšanje velikosti kapljic omogoči povečano vsebnost adsorbiranih proteinov, kar vodi do večje viskoznosti (Long in sod., 2012). S homogenizacijo naj bi se tudi čas stevanja podaljšal (Smiddy in sod., 2009).

### 2.3.3.4 Toplotna obdelava

Temperatura procesiranja vpliva na potek stevanja in značilnosti stepene smetane. V preteklosti je bila smetana pasterizirana po metodi HTST pri 74°C 18 sekund. Danes se smetana večkrat procesira po metodi UHT pri 138 °C 4 sekunde (Bruhn C. in Bruhn J., 1988). Postopek UHT je priljubljen v industriji, saj podaljša obstojnost smetane, vendar negativno vpliva na stabilnost pene. Smetana obdelana s postopkom UHT ima večje maščobne kapljice v primerjavi s pasterizirano smetano. Ravno tako se pri sterilizirani smetani mreža proteinov v serumski fazi hitreje podre med skladiščenjem (Smith in sod., 2000a). Povišane temperature procesiranja (nad 70 °C) povzročijo denaturacijo  $\beta$ -laktoglobulina. Denaturiran  $\beta$ -laktoglobulin lahko tvori komplekse s kappa kazeinom in  $\alpha$ -laktoalbuminom, katerih rezultat je povečana viskoznost serumske faze (Smith in sod.,

2000b). Čas stevanja sterilizirane smetane je daljši v primerjavi s pasterizirano ali surovo, ravno tako je overrun manjši (Bruhn C. in Bruhn J., 1988; Smith in sod., 2000a).

#### 2.3.3.5 Prisotnost stabilizatorjev in emulgatorjev

Razlog za dodajanje emulgatorjev je v izboljšanju stabilnosti in delne koalescence maščobnih kapljic. Poseben pomen imajo pri izboljšanju lastnosti stevanja, zlasti skrajšanje časa stevanja. Emulgatorji, ki se običajno dodajajo v ta namen so mono- in digliceridi. Glavni namen dodajanja stabilizatorjev pa je v zmanjšanju obsega separacije maščobnih kapljic med skladiščenjem in v izboljšanju togosti in stabilnosti smetane. Zato se jih dodaja v izdelke s podaljšano obstojnostjo, kot so sterilizirani ali UHT toplotno obdelani izdelki in smetani, ki se slabše stepa, kot je smetana z zmanjšano vsebnostjo maščobe. Stabilizatorji pozitivno vplivajo na podaljšanje stabilnosti in togosti smetane s povečanjem viskoznosti serumske faze mleka, ki je analogen načinu, s katerim visoka vsebnost beljakovin izboljša togost stepene smetane. Najpogosteje uporabljeni stabilizatorji so polisaharidi: karagenani, alginati in škrobi. Negativen vpliv dodajanja stabilizatorjev pa se kaže v podaljšanju časa stevanja in zmanjšanem overrunu (Smiddy in sod., 2009).

### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 MATERIAL

##### 3.1.1 Smetane

Smetane, ki smo jih uporabili v našem poskusu:

- Mu Cuisine sladka smetana (Ljubljanske mlekarne), visoko pasterizirana smetana s 35 % mlečne maščobe in brez dodanih hidrokoloidov.
- Smetana za stevanje iz Biotehniškega centra Naklo s spremenljivo vsebnostjo maščobe (>35 %) in brez dodanih hidrokoloidov.
- Mu Cuisine alpska smetana za stevanje (Ljubljanske mlekarne) s 33 % mlečne maščobe in dodanim stabilizatorjem E407.
- Smetana za stevanje Zelene doline (Mlekarna Celeia) segreta na ultra visoki temperaturi s 35 % mlečne maščobe in dodanim gostilom karagenanom.
- Smetana za stevanje Pomurske mlekarne segreta po postopku UHT, homogenizirana in z vsebnostjo 33 % mlečne maščobe, z dodanim stabilizatorjem (karagenan).
- Rastlinska krema za stevanje Mercator na osnovi rastlinskih maščob (palmina mast cca 30 %) iz z dodanimi stabilizatorji E 420, E460 (i), E 466 in emulgatorji E 472e, E 322, E 372b.
- Sladka smetana Mercator s 35 % mlečne maščobe, pasterizirana. Uporaba stabilizatorja ni podana.
- Smetana Milfina (Hofer) segreta po postopku UHT, homogenizirana in s 30 % mlečne maščobe in dodanim stabilizatorjem (karagenan).

##### 3.1.2 Karagenani

Za izboljšanje lastnosti stepene smetane, smo raziskali vpliv dveh različnih karagenanov, ki sta bila kot vzorca poslana iz podjetja CEAMSA.

- Ceamlacta 2165
  - Mešanica karagenana E407 in glukoze za standardizacijo funkcionalnih lastnosti
  - Razvit posebej za uporabo v zgoščenem mleku in tvorbo viskoznih vodnih raztopin
  - Topen v mrzli vodi in toplem mleku
  - Netopen v rastlinskih oljih in organskih topilih
  - Do želiranja pride, ko se raztopina ohladi
  - Stabilen v nevtralnem in alkalnem mediju
  - Tipično doziranje med 0,2-1,0 %
  - Brez vonja in okusa

- Ceamlacta 2007

- Mešanica karagenana E407, kalijevega klorida E508 in glukoze za standardizacijo
- Standardiziran za stabilizacijo suspendiranih kakavovih delcev
- Razvit posebej za uporabo v čokoladnem mleku
- Dispergira se v mrzli vodi, popolnoma topen pri temperaturah nad 70 °C
- Netopen v rastlinskih oljih in organskih topilih
- Do želiranja pride, ko se raztopina ohladi
- Stabilen v nevtralnem in alkalnem mediju
- Tipično doziranje med 0,01-0,03 %
- Brez vonja in okusa

Karagenani, ki smo jih uporabili v predposkusih pa so Ceamgel 3900 (mešanica karagenana E407 in KCl, razvit za uporabo v mesnih izdelkih), Ceamvis 3383 (mešanica karagenana E407 in dekstroze, razvit za uporabo v vodi) in Aroma E 407a (Cargill).

### 3.2 METODE DELA

Zaradi same narave dela, je bila naloga izvedena v večjem številu poskusov. V prvem delu se je bilo potrebno seznaniti z lastnostmi samih hidrokoloidov in njihovimi vplivi na lastnosti mlečnih izdelkov (smetano).

#### 3.2.1 Tehnološka priprava karagenana v smetani

- Poskus 1

Vzorec smo pripravili tako, da smo 1 g karagenana E407a (AROMA) prenesli v 54 g mleka. Karagenan se je raztopil po stresanju na stresalniku (IKA HS 260 basic) 30 min na 210 rpm. Nato smo s pipeto prenesli 1 ml raztopine karagenana v mleku v 250 g sladke smetane (Ljubljanske mlekarne) in počasi premešali, da se smetana ne bi stepla.

- Poskus 2

V 50 ml sladke smetane (Ljubljanske mlekarne) smo dodali 0,2 wt/vol % (0,1 g) karagenana E407a (AROMA) in vzorec segrevali na električnem grelniku (IKA WERKE, RCT basic, Nemčija) 10 min pri 85 °C in 500 rpm.

- Poskus 3

Pripravili smo 1 % in 10 % vodne raztopino karagenana E407a (AROMA). Prva raztopina je bila pripravljena tako, da smo v 90 g destilirane vode dodali 10 g karagenana, v drugo raztopino pa 1 g karagenana v 99 g destilirane vode. Obe raztopini smo z žličko dobro premešali, kasneje pa prestavili na mešalnik (hitrost 4,5) dokler se karagenan ni raztopil. Nato smo s pipeto prenesli po 1 ml 1 % ali 10 % v 50 ml sladke smetane (Ljubljanske

mlekarne) ter segrevali na električnem grelniku (IKA WERKE, RCT basic, Nemčija) 10 min pri 85 °C in 500 rpm.

- Poskus 4

Pripravili smo 10 % vodno raztopino karagenana Ceamigel 3900 (CEAMSA) in Ceamilacta 2165 (CEAMSA) tako, da smo v 9 g destilirane vode dodali po 1 g karagenana. Raztopino smo dobro premešali z žličko in kasneje tudi razpršili z mešalnikom pri hitrosti 4,5 dokler se karagenan (na videzno) ni raztopil. 0,1 g raztopine smo nato prenesli v 50 ml sladke smetane (Ljubljanske mlekarne), da smo pripravili 0,2 % raztopino karagenana v smetani. Sledilo je segrevanje na električnem grelniku (IKA WERKE, RCT basic, Nemčija) 10 min pri 85 °C in 500 rpm.

- Poskus 5

V poskusu smo uporabili štiri različne karagenane CEAMSA, in sicer Ceamgel 3900, Ceamvis 3383, Ceamlacta 2165 in Ceamlacta 2007. Vzorec smo pripravili tako, da smo v 245 g smetane za stevanje (BCN) dodali po 0,1 % karagenana (0,245 g). Sledilo je segrevanje na električnem grelniku (IKA WERKE, RCT basic, Nemčija) pri 400 rpm do dosežene temperature vzorca 85 °C in dodatno še 10 min segrevali pri omenjeni temperaturi. Vzorce smo pred začetkom analiz pustili v hladilniku (4 °C) 24 ur.

- Poskus 6

Tokrat smo uporabili tri različne karagenane CEAMSA, Ceamgel 3900, Ceamvis 3383 in Ceamlacta 2007. Karagenana Ceamgel 3900 in Ceamvis 3383 smo pripravili s koncentracijo 0,05 % tako, da smo v 245 g smetane za stevanje (BCN) dodali 0,1225 g Ceamgel 3900 ali Ceamvis 3383. Karagenan Ceamlacta 2007 pa smo pripravili s koncentracijo 0,1 % (0,245 g v 245 g smetane). Nadaljnja priprava vzorca je bila enaka kot pri poskusu 5.

- Poskus 7

Omejili smo se na uporabo dveh različnih karagenanov CEAMSA, Ceamlacta 2165 in Ceamlacta 2007. Pripravili smo vzorce v dveh različnih koncentracijah, Ceamlacta 2165 v 0,05 % in Ceamlacta 2007 v 0,02 % in 0,05 %. Zatehtan karagenan smo dodali v 245 g smetane za stevanje (BCN). Nadaljnja priprava vzorca je bila enaka kot pri poskusu 5.

- Poskus 8

Uporabili smo karagenan Ceamlacta 2007 (CEAMSA). Omenjeni karagenan smo pripravili v dveh različnih koncentracijah, in sicer 2,5 mg/250 ml in 25 mg/250 ml. Vzorca sta bila

pripravljena tako, da smo sprva v 50 ml smetane za stevanje (BCN) dodali 2,5 mg oz. 25 mg karagenana in vzorec dobro dispergirali z ultraturaksom (ULTRA-TURRAX T25, IKA-Labortechnik, Nemčija) pri  $9500\text{ min}^{-1}$  30 s. Nato smo v čašo dodali še 200 ml smetane in vse skupaj segrevali na električnem grelniku (IKA WERKE, RCT basic, Nemčija) pri 420 rpm, da je vzorec dosegel  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  in segrevali še 10 min. Vzorca smo pred začetkom analiz pustili v hladilniku ( $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 24 ur.

- Poskus 9

Za poskus smo uporabili karagenana Ceamlacta 2007 in Ceamlacta 2165 (CEAMSA). Karagenane smo dodajali v smetano za stevanje (BCN) v koncentracijah 10 mg/250 ml, 25 mg/250 ml in 75 mg/250 ml. Vzorce smo pripravili tako, da smo 250 ml smetane med mešanjem pri 420 rpm segrevali na električnem grelniku (IKA WERKE, RCT basic, Nemčija) do temperature  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  in nato postopoma dodajali karagenan. Vzorec smo pustili segrevati še dodatnih 10 min pri enaki temperaturi. Pred začetkom analiz smo vzorce pustili v hladilniku ( $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 24 ur.

- Poskus 10

Za poskus smo uporabili enaka karagenana in enak postopek priprave kot pri poskusu 9, le da smo namesto smetane BCN uporabili sladko smetano Mu Cuisine Ljubljanskih mlekar.

- Poskus 11

Za poskus smo uporabili karagenana Ceamlacta 2007 in Ceamlacta 2165 (CEAMSA). V 100 ml čašo smo nalili 50 ml mleka in med mešanjem z ultraturaksom pri  $9500\text{ min}^{-1}$  (ULTRA-TURRAX T25, IKA-Labortechnik, Nemčija) postopoma dodajali karagenan. Karagenan smo dodajali v koncentracijah 10 mg/250 ml, 25mg/250 ml in 75 mg/250 ml. Vzorec se je pod ultraturaksom mešal 30 s. Nato smo vsebino med stalnim mešanjem segrevali na električnem grelniku (IKA WERKE, RCT basic, Nemčija) do temperature  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da se je karagenan raztopil. Ko je temperatura dosegla  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , smo vsebino vmešali v 250 ml Mu Cuisine sladke smetane (Ljubljanske mlekarne) in ponovno segrevali do temperature  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vzorec smo pred začetkom analiz pustili v hladilniku 24 ur.

### 3.2.2 Stevanje smetane

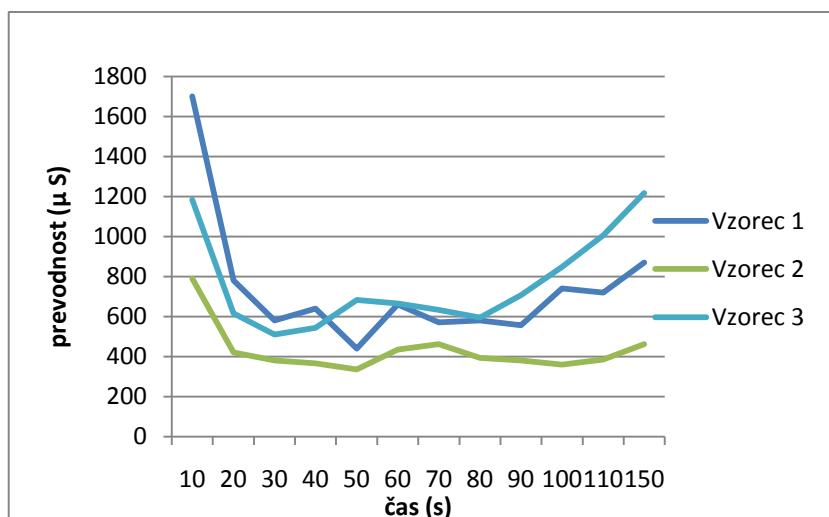
Pred pričetkom stevanja smo temperaturo smetane (brez in z dodatkom karagenana) v hladilni kopeli (Aquatherm 192995) uravnali na  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Sledilo je stevanje v kuhinjskem mešalniku MUM 4 (BOSCH) pri hitrosti 6.

### 3.2.3 Določitev časa stepanja sметane v poskusih

Čas stepanja smetane smo določili vizualno, na osnovi ocenjene prostornine in tekture smetane.

#### 3.2.3.1 Merjenje električne prevodnosti kot določitev pravilnega časa stepanja smetane v predposkusih

Da bi lahko objektivno določili, kdaj je smetana stepena, smo v predposkusih uporabili merjenje električne prevodnosti. Predpostavili smo, da se bo prevodnost smetane zmanjševala s časom stepanja oz. količino vezanega zraka. Prevodnost smo izmerili vsakih 15 s, do takrat ko je struktura stepene smetane že vidno razpadala. Iz rezultatov meritev smetane za stepanja Ljubljanskih mlekar v treh ponovitvah smo dobili krivuljo v obliki črke U. Sklepali smo, da je smetana stepena, ko je prevodnost najnižja. To je med točko, ko krivulja doseže dno in točko, ko se začne spet dvigati (slika 9). Zaradi neizrazitega temena krivulje in zahteve, da za merjenje prevodnosti stevanje prekinemo, se je določanje električne prevodnosti z omenjenim instrumentom pokazalo kot neprimerno.



Slika 9: Prevodnost v odvisnosti od časa stepanja

### 3.2.4 Določanje gostote sveže in stepene smetane

Gostoto sveže smetane smo določili tako, da smo stehtali prazno 30 ml merilno bučko in merilno bučko napolnjeno do oznake s smetano. Iz razlike mas smo izračunali maso 30 ml smetane. Iz prostornine ( $V$ ) in mase smetane ( $m$ ) smo nato po enačbi 2 izračunali gostote sveže smetane.

$$\rho = \frac{m}{V} \quad \dots(2)$$

Gostoto stepene smetane smo določili po enakem postopku kot pri sveži smetani, le da smo namesto merilne bučke uporabili lonček za merjenje NIR absorbance. Prostornino pa smo določili s tehtanjem vode v lončku.

### **3.2.5 Izračun relativnega povečanja prostornine smetane zaradi stevanja - overrun**

Iz gostote stepene in nestepene smetane smo z enačbo 1 izračunali overrun.

### **3.2.6 Merjenje specifične prevodnosti sveže in stepene smetane**

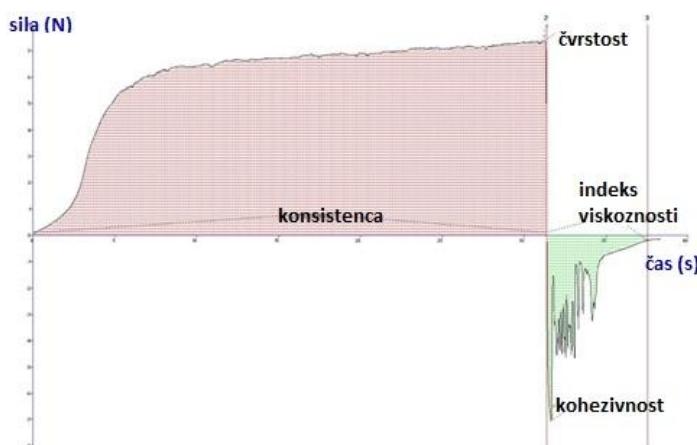
Specifično prevodnost sveže in stepene smetane smo izmerili z instrumentom za merjenje prevodnosti Radiometer CDM230 Conductivity Meter (Radiometer Analytical, Francija) in s štiri-polno platinizirano celico z vgrajenim temperaturnim senzorjem Conductivity Cell CDC866T. Kalibracijo celice smo izvedli pri 25,0°C in s koncentracijo raztopine kalijevega klorida 0,010 D s specifično prevodnostjo  $1,409 \text{ mS cm}^{-1}$ . Vrednost konstante celice, ki smo jo vpisali v instrument, je bila  $1,0152 \text{ cm}^{-1}$ . Pred pričetkom merjenja je bila smetana ohlajena na 10 °C v hladilni kopeli (Aquaterm 192995). Vsak vzorec je bil izmerjen v šestih ponovitvah.

### **3.2.7 Merjenje teksture s povratno ekstruzijo**

Teksturo smetane smo merili z aparatom Texture Analyser TA.XTplus (Stable Micro systems, VB) z nastavkom A/BE –d45; back extrusion RIG 45 mm DISC. Vsak vzorec je bil izmerjen v dveh paralelkah. Kompresijsko-ekstruzijski test smo izvedli z naslednjimi parametri:

- Pred-testna hitrost: 5 mm/s
- Testna hitrost: 1 mm/s
- Hitrost po izvedenem testu: 10 mm/s
- Globina merjenja: 30 mm

Lonček je bil napolnjen z vzorcem do 35 mm.

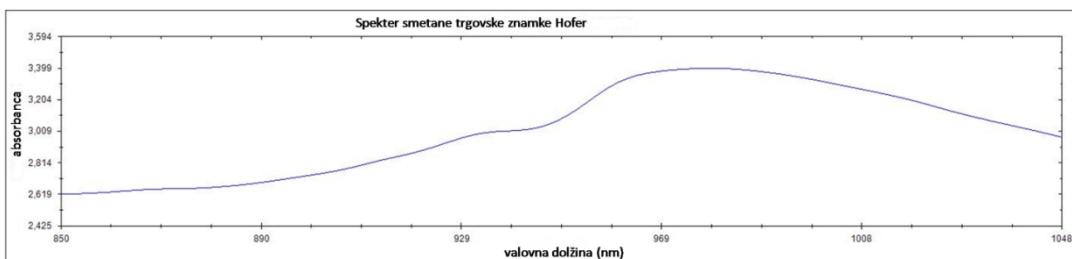


Slika 10: Test povratne ekstruzije na stepeni smetani proizvajalca Ljubljanskih mlekarn brez dodanega karagenana

### 3.2.8 Merjenje absorbance v NIR (Near infrared) območju

Absorbanco smo merili z instrumentom za analizo in kontrolo mesa in mesnih izdelkov FoodScan Lab (FOSS, Slovenija). Absorbanca vzorcev je bila izmerjena v NIR (Near infrared) območju pri:

- 850 nm
- 930 nm
- 970 nm



Slika 11: NIR spekter smetane trgovske znamke Hofer

### 3.2.9 Merjenje stabilnosti

Stabilnost stepene smetane smo določili prvi in drugi dan. Vzorce stepenih smetan, ki so bili namenjeni za meritev stabilnosti drugi dan, smo hranili 24 ur v hladilniku ( $4^{\circ}\text{C}$ ).

Stabilnost smo izmerili s centrifugiranjem vzorcev na centrifuggi Eppendorf 5810 (Eppendorf, Nemčija) pri  $300 \times g$  5 min. Vsak vzorec je bil izmerjen v dveh paralelkah. Stabilnost oz. nestabilnost je bila izmerjena z izločeno tekočino (ml) iz vzorca po centrifugiranju 30 ml stepene smetane.

### 3.2.10 Instrumentalno merjenje barve

Za merjenje barve smo uporabili kromometer Minolta CR-400 (Konica Minolta, Slovenija). Barva je bila izmerjena po sistemu CIE (Commision Internationale l'Eclairage) in  $L^*$ ,  $a^*$  in  $b^*$  načinu določanja barve. Pri tem vrednost  $L^*$  določa svetlost vzorca (višje so vrednosti, svetlejši je vzorec), vrednosti  $a^*$  in  $b^*$  pa barvni odtenek. Uporabljeni kromometer ima premer odprtine oz. merilne površine 8 mm. Istemu vzorcu smo barvne koordinate  $L^*$ ,  $a^*$  in  $b^*$  izmerili 4-krat.

### 3.2.11 Določanje viskoznosti sveže smetane

Za določanje viskoznosti smo uporabili kapilarni viskozimeter z visečim nivojem po Ubbelodheju (SCHOTT) in termostatsko kopel CT 52 (SCHOTT) priključeno na termostat CK 300 (SCHOTT). Merjenje viskoznosti sveže smetane z dodatkom karagenana je bilo izvedeno na viskozimetru številka 530-23, viskoznost sveže smetane brez dodanega karagenana pa na viskozimetru številka 501-11. Viskozimeter smo polnili z ročno brizgo s prostornino 20 ml in v viskozimeter vnašali približno 15 ml vzorca. Za dvig tekočine v kapilari smo uporabili ročno zračno črpalko in pretočni čas merili z digitalno štoparico. Viskozimeta smo kalibrirali tako, da smo merili pretočni čas 40 % raztopine saharoze (501-11) in 60 % raztopine saharoze (530-23) pri 10 °C. Iz znanih vrednosti gostote in viskoznosti 40 % in 60 % raztopine saharoze pri omenjeni temperaturi smo po enačbi (3) določili viskoznost preiskovanim vzorcem (Mathlouthi in Reiser, 1995).

Preiskovanim vzorcem smetan smo izmerili pretočni čas pri temperaturi 10 °C. Za vsak vzorec smo izmerili vsaj 5 meritev. Viskoznost smo izračunali po enačbi (3).

$$\eta_0 = \left( \frac{t \times d}{t_0 \times d_0} \right) \dots (3)$$

$\eta_0$ = viskoznost 40 % (9,166 cP) oz. 60 % (110, 9 cP) raztopine saharoze (odvisno od uporabljenega viskozimetra)

$t$ = pretočni čas sveže smetane z in brez dodanega karagenana

$t_0$ = pretočni čas 40 % (124 s) oz. 60 % (234 s) raztopine saharoze (odvisno od uporabljenega viskozimetra)

$d$ = gostota sveže smetane z in brez dodanega karagenana

$d_0$ = gostota 40 % (1,180 g/ml) oz. 60 % (1,291 g/ml) raztopine saharoze (odvisno od uporabljenega viskozimetra)



Slika 12: Fotografija sistema za merjenje viskoznosti

### 3.2.12 Določanje dielektrične konstante

Dielektrično konstanto smo določali z merilnim sistemom proizvajalca Agilent Technologies. Merilni sistem vključuje merilno sondo (Model No. 85070E) s pripadajočo merilno opremo (ang. dielectric probe kit), povezano z visokofrekvenčnim (9 kHz-8,5 GHz) analizatorjem omrežja (model E5071C, ENA Series, Agilent Technologies, California, USA), podprtga z uporabo programskega paketa 85070E (integriran Hewlett Packard osebni računalnik). Vse nastavitev in krmljenje za izvajanje meritev smo izvedli preko delovnega programa 85070E, vključno s programom za termostatiranje.

Merilni sistem smo kalibrirali z zrakom, kratkim stikom in destilirano vodo pri 25 °C. Za termostatiranje vode in kasneje tudi smetan smo uporabili termostatsko kopel (Fluke 7320), platinasti uporovni termometer (Fluke 5627A) z merilnim območjem od -200 °C do 420 °C in digitalni termometer (Fluke 1502A) z natančnostjo  $\pm 0,006$  °C. Analizo smo izvedli, ko je digitalni termometer vsaj 15 minut kazal konstantno temperaturo. S pomočjo analizatorja omrežja smo izmerili dielektrični spekter destilirane vode in smetan v območju od 200 MHz do 8,5 GHz pri 25 °C. Izvedli smo tri paralelne meritve za vsak vzorec. Za izračun dielektričnih lastnosti smo uporabili povprečje teh meritov.

### 3.2.13 Določanje sulfatnih skupin v karagenanu s turbidimetrično metodo

Vsebnost sulfatnih skupin v karagenanu smo določili s turbidimetrično metodo. Metoda temelji na hidrolizi sulfatnih skupin karagenana v močno kislem in naobarjanju sulfatnih ionov z barijevimi ioni. Kristali barijevega sulfata se izločijo v koloidni oblikih in povzročijo motnost raztopine.

Reagent z barijevimi ioni smo pripravili tako, da smo v 200 ml vode ( $65^{\circ}\text{C}$ ) raztopili 0,60 g želatine (Merck, 1.04078) in raztopino shranili pri  $4^{\circ}\text{C}$ . Naslednji dan smo raztopini dodali 2,0 g  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Alkaloid Skopje).

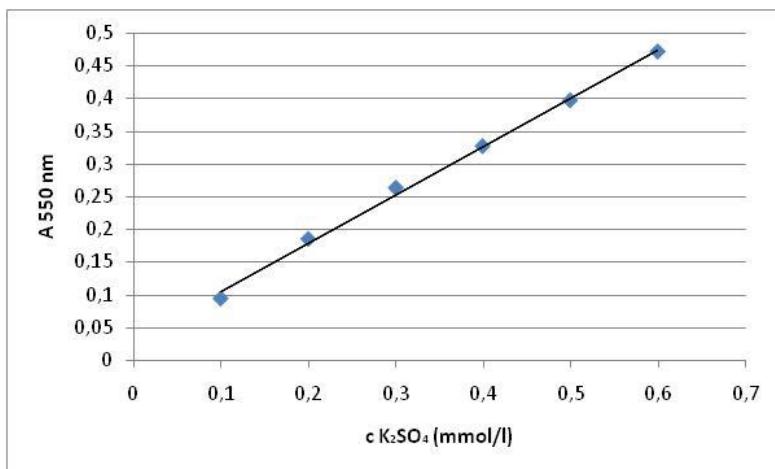
Priprava in merjenje vzorca: Za hidrolizo sulfatnih skupin v karagenanu smo 20 mg karagenana dodali 0,5 ml 2M HCl in zaprto segrevali 2 uri pri  $100^{\circ}\text{C}$ . Ko se je raztopina ohladila, smo z avtomatsko pipeto dodali 9,5 ml vode ( $5,0 + 4,5$  ml). V 50 ml merilno bučko smo nato nalili približno 20 ml vode in dodali 0,5 ml 2M HCl ter 2 ml raztopine s hidroliziranim vzorcem Ceamlacta 2165 ali Ceamlacta 2007. Vse skupaj smo premešali in dodali 1 ml reagenta z barijevimi ioni, ponovno premešali in takoj razredčili do oznake. Vzporedno smo pripravili tudi slepi vzorec, tako da smo v 50 ml merilno bučko razredčili 1 ml reagenta z barijevo soljo in 0,6 ml 2M HCl. Po 30 min smo izmerili absorbanco pri 550 nm v 1 cm kivetah.

Priprava umeritvene krivulje: 87,0 mg kalijevega sulfata (Merck, 1.05153) smo raztopili v 100,0 ml merilni bučki, koncentracija standardne raztopine je bila 4,99 mmol/l. V 50 ml merilno bučko smo dodali približno 15 ml vode, standardno raztopino kalijevega sulfata (preglednica 5), 0,6 ml 2 M HCl, vse skupaj premešali in dodali še 1,0 ml reagenta z barijevimi ioni, ponovno premešali in takoj razredčili do oznake. Po 30 min smo izmerili absorbanco pri 550 nm v 1 cm kivetah. Umeritvena krivulja je na sliki 13. Za izračun vsebnosti sulfata v karagenanu smo uporabili enačbo  $A(550\text{ nm}) = 771,56 \text{ c}(\text{SO}_4^{2-}) + 0,017$ ,  $r^2=0,9942$ , pri čemer  $c(\text{SO}_4^{2-})$  pomeni množinsko koncentracijo sulfata v 50,0 ml merilni bučki.

Preglednica 5: Standardne raztopine za določanje sulfata (VI)

Oznaka	V ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) (ml)	c( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) (mmol/l)	Paralelke, A pri 550nm		Povprečje $A_{550}$
			prva	druga	
UK1	1	0,0999	0,094355	0,094639	0,094497
UK2	2	0,200	0,1869	0,18381	0,185355
UK3	3	0,300	0,26586	0,26034	0,26310
UK4	4	0,399	0,32672	0,32659	0,326655
UK5	5	0,499	0,40784	0,3848	0,396320
UK6	6	0,599	0,47225	0,46922	0,470735

Legenda: UK - Umeritvena krivulja



Slika 13: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti sulfata (VI)

### 3.2.14 Statistična analiza

V poskusu smo zbrane podatke pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Osnovne statistične parametre smo izračunali s postopkom MEANS, s postopkom UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve (SAS Software, 1990). Rezultate poskusa smo analizirali po metodi najmanjših kvadratov s postopkom GLM (*General Linear Model*).

Za analizo vpliva vrste in koncentracije karagenana na fizikalne parametre smo uporabili statistični model, v katerega smo vključili fiksna vpliva vrste karagenana K ( $i = 2, C2007$  in  $C2165$ ), koncentracije C ( $j = 4, 0, 10, 25$  in  $75 \text{ mg}/250 \text{ ml smetane}$ ) in njune interakcije  $K^*C_{ij}$  s pripadajočo slučajno napako  $e_{ijk}$ : model 1:  $y_{ijk} = \mu + K_i + C_j + K^*C_{ij} + e_{ijk}$ .

Povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo Duncanovega testa in primerjane pri 5 % tveganju.

## 4 REZULTATI

V nadaljevanju so podani rezultati karakterizacije karagenana in analiz smetan pridobljenih s fizikalnimi metodami in pripadajočo statistično analizo ter komentarji. Dobljeni rezultati prikazujejo vpliv dveh različnih karagenanov na lastnosti smetane proizvajalcev; Ljubljanske mlekarne in Biotehniški center Naklo (v nadaljevanju BCN). Predstavljena je tudi primerjava med obema smetanama z viri variabilnosti ter njihovim vplivom na fizikalne parametre. Za vsako izmed smetan smo opravili poskus v vsaj dveh paralelkah.

### 4.1 KARAKTERIZACIJA KARAGENANA

#### 4.1.1 Vsebnost sulfata

S turbidimetrično metodo smo želeli karakterizirati karagenana Ceamlacta 2165 in 2007 glejena vsebnost sulfata. Iz preglednice 6 je razvidno, da karagenan Ceamlacta 2165 povprečno vsebuje 1,58 mmol sulfata, karagenan Ceamlacta 2007 pa 1,63 mmol/g.

Karakterizirali smo tudi vsebnost sulfata v karagenanih, ki smo jih uporabili v predposkusih. Primerljivo vsebnost sulfata kot karagenana Ceamlacta 2165 in Ceamlacta 2007 ima karagenan Aroma E 407a, ki vsebuje 1,52 mmol/g. Karagenan Ceamigel 3900 vsebuje manj sulfata (1,38 mmol/g) kot karagenana Ceamlacta 2165 in Ceamlacta 2007, Ceamvis 3383 pa več (2,19 mmol/g).

Preglednica 6: Vsebnost sulfata v karagenanu CEAMLECTA 2165 in 2007

Komercialna oznaka	Zatehta (mg)	Paralelke, A pri 550nm			Povprečje A <sub>550</sub>	c(sulfat)		Vsebnost sulfata v karagenanu (mmol/g)
		prva	druga	tretja		mmol/l	Pos. meritve	
CEAMLECTA 2165	20,82	0,110	0,113	0,111	0,122	0,122	1,47	
CEAMLECTA 2165	20,75	0,115	0,117	0,116	0,128	0,128	1,55	
CEAMLECTA 2165	20,66	0,116	0,116	0,118	0,129	0,129	1,57	1,58 ± 0,07
CEAMLECTA 2165	20,82	0,198			0,235	0,235	1,61	
CEAMLECTA 2165	20,75	0,206			0,246	0,246	1,69	
CEAMLECTA 2165	20,66	0,192			0,227	0,227	1,57	
CEAMLECTA 2007	20,26	0,221	0,226		0,268	0,268	1,65	
CEAMLECTA 2007	20,42	0,222	0,219		0,263	0,263	1,61	1,63 ± 0,02
CEAMLECTA 2007	20,75	0,226	0,228		0,272	0,272	1,64	

Legenda: c(sulfat) - koncentracija sulfata v 50 ml merilni bučki ; A<sub>550</sub>: Absorbanca pri 550 nm

S podatki o vsebnosti sulfatnih skupin nismo prišli do pomembnejših informacij, kljub temu pa smo jih poskušali ovrednotiti. Preglednica 7 prikazuje rezultate izračunov molskih mas različnih možnosti, ki imajo na galaktozo, kot monomerne enoto karagenana, vezano različno število sulfatnih skupin. Pri izračunu smo upoštevali tudi, da je molska masa monomerne enote galaktoze 162 g/mol in da je spremembra molske mase, zaradi vezave sulfatne skupine in ob nastanku natrijeve soli, 102 g/mol. V preglednico smo dodali še podobne izračune za tri znane in komercialno dostopne oblike karagenanov. Ugotovimo lahko, da je pri obeh uporabljenih karagenanah v povprečju vezana ena sulfatna skupina na

tri enote galaktoze. Tako povprečje pa je lahko rezultat zelo različne sestave saharida: sulfatne skupine so lahko enakomerno porazdeljene v verigi polisaharida, lahko imamo področja, kjer je sulfatna skupina zelo pogosto vezana, morda celo podobno kot pri kappa-karagenanu in področja galaktana, kjer sulfatne skupine niso prisotne. Poleg omenjenih oblik pa so v našem vzorcu lahko še druge oblike poli ali oligo saharidov, sladkorjev in soli, kar smo navedli tudi pri komercialnem opisu obeh pripravkov v poglavju Material in metode.

Preglednica 7: Predvidevanja o pomenu rezultatov vsebnosti sulfata v karagenanu

Razmerje galaktoznih enot in sulfatnih skupin	Število enot galaktoze na 1 –SO <sub>4</sub> Na	M (g/mol)	Vsebnost sulfata v karagenanu (mmol/g)
1:1	1	264	3,79
2:1	2	426	2,35
3:1	3	588	1,70
4:1	4	750	1,33
5:1	5	912	1,10
λ-carrageenan sigma 22049(2:1)	1,88	407	2,46
ι -carrageenan sigma C1138(1:1)	0,94	509	3,93
κ-carrageenan sigma 22048(2:3)	0,67	629	4,77

## 4.2 REZULTATI SVEŽE IN STEPENE SMETANE LJUBLJANSKIH MLEKARN

### 4.2.1 Prevodnost sveže in stepene sметane Ljubljanskih mlekarn

Preglednica 8 prikazuje vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na prevodnost smetane Ljubljanskih mlekarn pred stevanjem in prevodnost stepene smetane.

Iz preglednice je razvidno, da se prevodnost pred stevanjem statistično značilno ( $p<0,001$ ) spreminja z vrsto in koncentracijo dodanega karagenana. Dodatek 10 mg karagenana C2007 značilno zniža prevodnost smetane, pri tej koncentraciji je prevodnost smetane najnižja (2129 µS). Povečanje koncentracije na 25 in 75 mg/250 ml povzroči značilno povečanje prevodnosti, vendar ostaja nižja od prevodnosti kontrolnega vzorca. Podoben trend opazimo pri dodatku karagenana C2165, prevodnost se značilno zniža pri vseh koncentracijah, vendar med njimi ni statistično značilnih razlik. Karagenana se v prevodnosti med sabo značilno ločita, pri 10 in 25 mg/250 ml je bolj prevoden karagenan 2165, pri 75 mg pa karagenan 2007.

Nasprotno pa se prevodnost stepene smetane ob dodatku karagenana statistično značilno ( $p<0,001$ ) spreminja le s koncentracijo dodanega karagenana. Vpliv vrste karagenana ni značilen ( $p=0,796$ ). Pri dodatku 10 mg/250 ml karagenana 2007 ostane prevodnost statistično značilno enaka kot pri smetani brez dodanega karagenana, ob dodatku 25 in 75 mg pa se značilno poveča. Značilne razlike v prevodnosti med koncentracijama ni. Pri karagenanu C2165 pa se prevodnost značilno poveča že pri 10 mg/250 ml in ostane enaka

tudi pri 25 mg/250 ml. Značilna razlika je ponovno pri dodatku 75 mg, kjer je prevodnost tudi največja (550 µS).

Preglednica 8: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na prevodnost smetane pred stejanjem in prevodnost stepene smetane Ljubljanskih mlekarn

<b>parameter</b>	<b>karagenan</b>	<b>Dodatek karagenana v mg/250 ml smetane</b>				<b>SE</b>	<b>p vrednost</b>
		<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>75</b>		
prevodnost pred stepanjem (µS/cm)	C2007	2215 <sup>a</sup>	2129 <sup>dB</sup>	2155 <sup>cB</sup>	2195 <sup>bA</sup>	1,3	$p_K < 0,001$
	C2165	2215 <sup>a</sup>	2164 <sup>bA</sup>	2165 <sup>bA</sup>	2166 <sup>bB</sup>		$p_C < 0,001$
prevodnost stepene (µS/cm)	C2007	411 <sup>b</sup>	461 <sup>ba</sup>	513 <sup>a</sup>	530 <sup>a</sup>	51,1	$p_K = 0,796$
	C2165	411 <sup>c</sup>	481 <sup>b</sup>	488 <sup>b</sup>	550 <sup>a</sup>		$p_C < 0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

#### 4.2.2 Čas stejanja smetane Ljubljanskih mlekarn

Čas stejanja smo določili vizualno. Iz preglednice 9 je razvidno, da se čas stejanja smetane statistično značilno ( $p < 0,001$ ) spreminja z vrsto in koncentracijo dodanega karagenana. Pri dodatku obeh karagenanov se čas stejanja značilno podaljša z večanjem koncentracije. Značilne razlike v vrsti karagenana so pri koncentracijah 10 in 25 mg/250 ml, kjer se hitreje stepe smetana z dodanim karagenanom C2007, pri koncentraciji 75 mg pa smetana z dodanim karagenanom C2165.

Preglednica 9: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na čas stejanja smetane Ljubljanskih mlekarn

<b>Parameter</b>	<b>karagenan</b>	<b>Dodatek karagenana v mg/250 ml smetane</b>				<b>SE</b>	<b>p vrednost</b>
		<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>75</b>		
čas stejanja (s)	C2007	124 <sup>d</sup>	127 <sup>cB</sup>	141 <sup>BB</sup>	242 <sup>aA</sup>	0	$p_K < 0,001$
	C2165	124 <sup>d</sup>	150 <sup>cA</sup>	196 <sup>bA</sup>	228 <sup>ab</sup>		$p_C < 0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

#### 4.2.3 Instrumentalne meritve tekture smetane Ljubljanskih mlekarn

Na splošno lahko rečemo, da dodatek karagenana statistično značilno vpliva na parametre tekture kot so čvrstost, konsistenza, kohezivnost in indeks viskoznosti. Omenjeni parametri se statistično značilno ( $p < 0,001$ ) spreminjajo z vrsto in koncentracijo dodanega karagenana. Iz preglednice 10 je razvidno, da je čvrstost (sila, ki je potrebna za dosežek deformacije) z dodatkom karagenana C2007 pri vseh koncentracijah značilno manjša od

čvrstosti kontrolnega vzorca (3,01 N), najmanjša je pri koncentraciji 75 mg/250 ml (2,83 N).

Drugačne rezultate pa opazimo pri dodatku karagenana C2165. Pri koncentraciji 10 mg/250 ml se čvrstost neznačilno poveča ter se začne značilno povečevati pri koncentraciji 25 in 75 mg/250 ml. Pri koncentraciji 75 mg/250 ml je čvrstost smetane največja (5,38 N).

Tako kot pri parametru čvrstosti, se konsistenco, odvisno od vrste dodanega karagenana, zmanjša ali poveča. Dodatek karagenana C2007 v koncentraciji 10 in 75 mg/250 ml značilno zmanjša vrednost konsistence kontrolnega vzorca (70,09 Ns). Najmanjša je pri koncentraciji 75 mg/250 ml (48,74 Ns). Dodatek 25 mg karagenana pa statistično značilno ne vpliva na konsistenco smetane. Pri dodajanju karagenana C216 se konsistenco smetane z večanjem količine karagenana linearno značilno povečuje.

Dodatek 10 mg karagenana C2007 povzroči v vseh koncentracijah značilno zmanjšanje kohezivnosti (moč notranjih vezi, ki sestavljajo snov) smetane in ostane enaka, kljub povečanju koncentracije karagenana na 25 in 75 mg/250 ml. Dodatek 10 mg karagenana C2165 še ne vpliva na kohezivnost. Vpliv je opazen pri koncentracijah 25 in 75 mg/250 ml, kjer vrednosti kohezivnosti značilno naraščajo spovečanjem koncentracije dodanega karagenana.

Na instrumentalno izmerjen indeks viskoznosti ima dodatek karagenana statistično značilen vpliv pri skoraj vseh koncentracijah. Karagenan C2007 povzroči znižanje indeksa viskoznosti v primerjavi s kontrolnim vzorcem (6,51 Ns) in je najnižji pri koncentraciji 75 mg/250 ml (4,22 Ns). Dodatek 10 mg karagenana C2165 še nima vpliva na indeks viskoznosti, značilen vpliv je viden pri večjih koncentracijah (25 in 75 mg/250 ml), kjer je indeks viskoznosti največji pri koncentraciji 75 mg/250 ml (12,45 Ns).

Preglednica 10: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na parametre tekture smetane Ljubljanskih mlekarn

Parameter	karagenan	Dodatek karagenana v mg/250 ml smetane				SE	<i>p</i> vrednost
		0	10	25	75		
čvrstost (N)	C2007	3,01 <sup>a</sup>	2,90 <sup>bab</sup>	2,93 <sup>bab</sup>	2,83 <sup>bbB</sup>	7,76	$p_K < 0,001$
	C2165	3,01 <sup>c</sup>	3,06 <sup>cA</sup>	4,19 <sup>bA</sup>	5,38 <sup>aA</sup>		$p_C < 0,001$
konsistencija (Ns)	C2007	70,09 <sup>a</sup>	66,14 <sup>bbB</sup>	72,25 <sup>B</sup>	48,74 <sup>cB</sup>	272,7	$p_K < 0,001$
	C2165	70,09 <sup>d</sup>	75,00 <sup>cA</sup>	95,57 <sup>bA</sup>	128,17 <sup>aA</sup>		$p_C < 0,001$
kohezivnost (N)	C2007	3,27 <sup>b</sup>	3,03 <sup>aA</sup>	2,99 <sup>aA</sup>	3,05 <sup>aA</sup>	11,1	$p_K < 0,001$
	C2165	3,27 <sup>a</sup>	3,29 <sup>aB</sup>	4,61 <sup>bb</sup>	5,76 <sup>cB</sup>		$p_C < 0,001$
indeks viskoznosti (Ns)	C2007	6,51 <sup>d</sup>	6,03 <sup>baA</sup>	6,25 <sup>cA</sup>	4,22 <sup>aA</sup>	23,4	$p_K < 0,001$
	C2165	6,51 <sup>a</sup>	6,87 <sup>aB</sup>	9,19 <sup>bb</sup>	12,45 <sup>cB</sup>		$p_C < 0,001$
							$p_{K \times C} < 0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

#### 4.2.4 Instrumentalne meritve absorbance NIR smetane Ljubljanskih mlekarn

Preglednica 11 prikazuje vpliv vrste in koncentracije karagenana na vrednosti NIR pri 850, 930 in 950 nm. Absorbance v NIR delu spektra se statistično značilno ( $p < 0,001$ ) spreminjajo z vrsto in koncentracijo dodanega karagenana.

Vrednost absorbance NIR se pri 850 nm, pri dodatku 10 mg karagenana C2007, značilno poveča. Povečanje koncentracije na 25 in 75 mg/250 ml pa povzroči značilno zmanjšanje vrednosti (2,535 in 2,490), ki so manjše od vrednosti absorbance kontrolnega vzorca (2,571). Pri dodatku 10 mg karagenana C2165 pa se vrednost absorbance pri 850 nm značilno zmanjša (2,523), vendar se pri povečanju koncentracije na 25 in 75 mg/250 ml vrednosti začnejo povečevati (2,621 in 2,675). Karagenan C2165 pri koncentracijah 25 in 75 mg/250 ml značilno poveča vrednosti absorbance NIR, karagenan 2007 pa pri omenjenih koncentracijah vrednosti značilno zmanjša. Nasproten vpliv opazimo pri koncentraciji 10 mg/250 ml. Karagenan C2007 značilno poveča vrednost absorbance, karagenan C2165 pa značilno zmanjša. Enak vzorec obnašanja opazimo tudi za izmerjene vrednosti NIR pri 930 in 970 nm.

Preglednica 11: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na absorbenco NIR pri 850, 930 in 950 nm stepene smetane Ljubljanskih mlekarn

Dodatek karagenana v mg/250 ml smetane						
Parameter	karagenan	0	10	25	75	SE p vrednost
NIR 850 nm	C2007	2,571 <sup>b</sup>	2,580 <sup>aA</sup>	2,535 <sup>cB</sup>	2,490 <sup>dB</sup>	0 $p_K < 0,001$
	C2165	2,571 <sup>c</sup>	2,523 <sup>dB</sup>	2,621 <sup>bA</sup>	2,675 <sup>aA</sup>	$p_C < 0,001$ $p_{K \times C} < 0,001$
NIR 930 nm	C2007	2,863 <sup>b</sup>	2,876 <sup>aA</sup>	2,801 <sup>cB</sup>	2,773 <sup>dB</sup>	0 $p_K < 0,001$
	C2165	2,863 <sup>c</sup>	2,81 <sup>dB</sup>	2,947 <sup>bA</sup>	3,050 <sup>aA</sup>	$p_C < 0,001$ $p_{K \times C} < 0,001$
NIR 970 nm	C2007	3,273 <sup>b</sup>	3,282 <sup>aA</sup>	3,212 <sup>cB</sup>	3,181 <sup>dB</sup>	0 $p_K < 0,001$
	C2165	3,273 <sup>c</sup>	3,222 <sup>dB</sup>	3,396 <sup>bA</sup>	3,577 <sup>aA</sup>	$p_C < 0,001$ $p_{K \times C} < 0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

#### 4.2.5 Gostota sveže in stepene smetane Ljubljanskih mlekarn

Preglednica 12 prikazuje vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na gostoto sveže in stepene smetane, ki se statistično značilno z vrsto in koncentracijo karagenana spreminja. Gostota nestepene smetane se ob dodatku karagenana značilno poveča in se linearno povečuje z višanjem koncentracije dodanega karagenana. Kljub temu, da imata oba karagenana enak učinek, se med sabo značilno razlikujeta. Karagenan C2165 ima pri koncentracijah 10 in 25 mg/250 ml značilno večji vpliv na gostoto sveže smetane kot karagenan C2007.

Gostota stepene smetane se pri povečanju koncentracije dodanega karagenana, za razliko od gostote nestepene smetane, ne povečuje linearno. Pri dodatku karagenana C2007 se gostota najbolj poveča pri koncentraciji 25 mg/250 ml (0,444 g/ml) in je pri koncentraciji 10 mg (0,345 g/ml) celo nižja od gostote kontrolnega vzorca (0,346 g/ml). Podobno nihanje opazimo pridodatku karagenana C2165, kjer se s povečanjem koncentracije iz 10 na 25 mg/250 ml gostota zmanjša, pri 75 mg/250 ml pa je največja (0,411 g/ml).

Preglednica 12: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na gostoto sveže in stepene smetane Ljubljanskih mlekarn

Dodatek karagenana v mg/250 ml smetane						
Parameter	karagenan	0	10	25	75	SE p vrednost
gostota sveže (g/ml)	C2007	0,974 <sup>d</sup>	0,976 <sup>cB</sup>	0,981 <sup>bB</sup>	1,012 <sup>a</sup>	0 $p_K < 0,001$
	C2165	0,974 <sup>d</sup>	0,979 <sup>cA</sup>	0,996 <sup>bA</sup>	1,012 <sup>a</sup>	$p_C < 0,001$ $p_{K \times C} < 0,001$
gostota stepene (g/ml)	C2007	0,346 <sup>c</sup>	0,345 <sup>dB</sup>	0,444 <sup>aA</sup>	0,407 <sup>bB</sup>	0 $p_K < 0,001$
	C2165	0,346 <sup>d</sup>	0,391 <sup>bA</sup>	0,365 <sup>cB</sup>	0,411 <sup>aA</sup>	$p_C < 0,001$ $p_{K \times C} < 0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

#### 4.2.6 Povečanje prostornine smetane Ljubljanskih mlekarn pri stejanju (overrun)

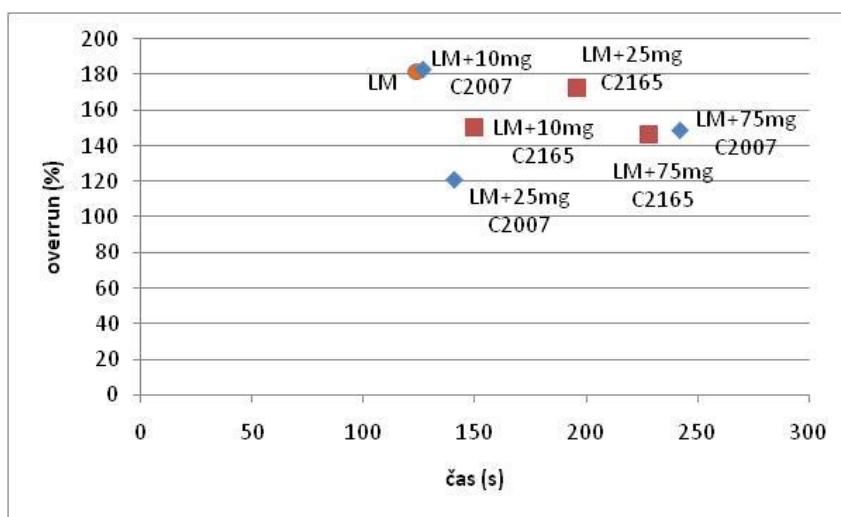
Iz preglednice 13 je razvidno, da vrsta in koncentracija karagenana značilno vpliva na povečanje prostornine pri stejanju ( $p<0,001$ ). Dodatek 10 mg karagenana C2007 še ne vpliva na overrun smetane, pri povečanju koncentracije na 25 in 75 mg/250 ml pa se overrun značilno zmanjša (121 in 149 %) in je manjši od vrednosti overruna kontrolne smetane (182 %). Nasprotno pa je pri dodatku karagenana C2165 overrun značilno manjši od kontrolnega vzorca pri vseh koncentracijah. Najmanjša vrednost overruna je dosežena pri koncentraciji 75 mg/250 ml (146 %), največja pa pri koncentraciji 25 mg/250 ml (173 %) in ne pri 10 mg/250 ml, kot bi lahko pričakovali. Pri obeh karagenanih ne opazimo linearnega zmanjševanja oz. povečevanja glede na koncentracijo, ampak nihanje v vrednostih. Kljub temu je razvidno, da se pri dodatku obeh karagenanov (izjema je dodatek 10 mg C2007) volumen ali količina vtepenega zraka smetane značilno zmanjša.

Preglednica 13: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na overrun stepene smetane Ljubljanskih mlekarn

Parameter	karagenan	Dodatek karagenana v mg/250 ml smetane				SE	$p$ vrednost
		0	10	25	75		
overrun (%)	C2007	182 <sup>b</sup>	183 <sup>aA</sup>	121 <sup>dB</sup>	149 <sup>cA</sup>	1,4	$p_K<0,001$
	C2165	182 <sup>a</sup>	150 <sup>cB</sup>	173 <sup>bA</sup>	146 <sup>dB</sup>		$p_C<0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

Slika 14 prikazuje overrun v odvisnosti od časa stejanja smetane Ljubljanskih mlekarn. Iz slike 14 je razvidno, da se overrun z dodatkom karagenana zmanjša in čas stejanja podaljša. Dodatek 75 mg/250 ml karagenana C2007 in C2165 povzroči največje podaljšanje časa stejanja in nižji overrun v primerjavi s smetano brez dodanega karagenana. Najnižji overrun povzroči dodatek 25 mg/250 ml karagenana C2007, ki pa v primerjavi s kontrolnim vzorcem, ne podaljša veliko časa stejanja.



Slika 14: Overrun v odvisnosti od časa stepanja smetane Ljubljanskih mlekarn

#### 4.2.7 Stabilnost stepene smetane Ljubljanskih mlekarn

Preglednica 14 prikazuje vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na stabilnost smetane prvi in drugi dan. Stabilnost smetane izmerjene prvi dan se spreminja z vrsto in koncentracijo karagenana ( $p<0,001$ ). Iz preglednice je opaziti, da je smetana z dodatkom karagenana C2165 bolj stabilna v primerjavi z dodatkom karagenana C2007, saj je sinereza manjša. Stabilnost smetane se z dodatkom karagenana C2165 linearno veča zvečanjem koncentracije. Podoben vpliv opazimo tudi pri smetani z dodanim karagenanom C2007, kjer se pri dodatku 10 mg stabilnost značilno poveča, vendar ostane enaka pri koncentraciji 25 mg/250 ml. Ponovno se stabilnost značilno poveča pri koncentraciji 75 mg/250 ml.

Stabilnost smetane, izmerjene po 24 urah v hladilniku pri  $4^{\circ}\text{C}$ , se ravno tako med karagenanoma in koncentracijami značilno razlikuje ( $p<0,001$ ). Enako kot pri stabilnosti izmerjeni prvi dan, je stabilnost smetane drugi dan pri dodatku karagenana C2165 večja kot pri smetani z dodanim karagenana C2007. Ravno tako je opaziti linearno povečanje stabilnosti z naraščajočo koncentracijo, predvsem za karagenan C2165. Dodatek 10 in 25 mg karagenana C2007 stabilnost smetane značilno izboljšav primerjavi s kontrolnim vzorcem. Nadaljnje dodajanje ne vpliva več značilno na stabilnost.

Preglednica 14: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na stabilnost stepene smetane Ljubljanskih mlekarne prvi in drugi dan

<b>Parameter</b>	<b>karagenan</b>	<b>Dodatek karagenana v mg/250 ml smetane</b>					<i>p</i> vrednost
		<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>75</b>	<b>SE</b>	
centrifugiranje 1 (ml/30 ml)	C2007	4,60 <sup>a</sup>	4,50 <sup>bA</sup>	4,50 <sup>bA</sup>	4,30 <sup>cA</sup>	0,019	$p_K < 0,001$
	C2165	4,60 <sup>a</sup>	4,20 <sup>bB</sup>	3,35 <sup>cB</sup>	2,70 <sup>dB</sup>		$p_C < 0,001$
centrifugiranje 2 (ml/30 ml)	C2007	4,55 <sup>a</sup>	4,45 <sup>bA</sup>	3,95 <sup>cA</sup>	4,00 <sup>cA</sup>	0,047	$p_K < 0,001$
	C2165	4,55 <sup>a</sup>	3,95 <sup>bB</sup>	3,00 <sup>cB</sup>	2,35 <sup>dB</sup>		$p_C < 0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

#### 4.2.8 Barva stepene smetane Ljubljanskih mlekarne

Preglednica 15 prikazuje rezultate instrumentalnih meritve barve s kromometrom za stepene smetane z in brez dodatka karagenanov C2007 in C2165. Meritve so bile opravljene pri sobni temperaturi.

Parameter L\* se ob dodatku karagenana C2007 pri koncentracijah 10, 25 in 75 mg/250 ml statistično značilno ne spremeni. Dodatek 10 mg karagenana C2165 ravno tako ne povzroči značilne spremembe. Značilen vpliv karagenana ( $p < 0,001$ ) se pojavi pri koncentraciji 25 in 75 mg/250 ml in povzroči znižanje vrednosti parametra L\*.

Vrednost parametra a\* je pri smetani brez dodanega karagenana -1,72 in se zaradi dodatka karagenana C2007 značilno ( $p < 0,001$ ) poveča pri vseh koncentracijah. Največje povečanje je opazno pri koncentraciji 25 mg/250 ml (-1,45), medtem ko dodatek 10 ali 75 mg ne vpliva značilno na razlike v vrednosti a\*. Pri dodatku 10 mg karagenana C2165 se vrednost a\* značilno še ne spremeni v primerjavi s kontrolo, pri dodatku na 25 mg in 75 mg pa se značilno poveča, največja je pri dodatku 25 mg (-1,42). Karagenana se med seboj značilno razlikujeta le pri dodatku 10 mg, pri kateri ima karagenan C2007 značilen vpliv na parameter a\*.

Parameter b\* se s koncentracijo in vrsto karagenana značilno spreminja ( $p < 0,001$ ), posamezen vpliv koncentracije in vrste karagenana pa ni več značilen ( $p < 0,077$  in  $p < 0,0061$ ). Pri dodatku 10 in 75 mg karagenanov C2007 in C2165 se parameter b\* značilno poveča v primerjavi s parametrom b\* kontrolne smetane. Karagenana se značilno razlikujeta le pri dodatku 25 mg, pri čemer ima karagenan C2165 večji vpliv na parameter b\*.

Preglednica 15: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na parametre barve stepene smetane Ljubljanskih mlekarn

Dodatek karagenana v mg/250 ml sметane							
Parameter	karagenan	0	10	25	75	SE	p vrednost
L*	C2007	90,81 <sup>aA</sup>	90,59 <sup>ab</sup>	90,58 <sup>ab</sup>	90,42 <sup>ab</sup>	0,31	$p_K < 0,001$
	C2165	90,81 <sup>bA</sup>	90,86 <sup>ba</sup>	91,49 <sup>aA</sup>	91,56 <sup>aA</sup>		$p_C < 0,001$
a*	C2007	-1,72 <sup>cA</sup>	-1,56 <sup>ba</sup>	-1,45 <sup>aA</sup>	-1,60 <sup>ba</sup>	0,03	$p_K < 0,001$
	C2165	-1,72 <sup>c</sup>	-1,70 <sup>cB</sup>	-1,42 <sup>a</sup>	-1,64 <sup>b</sup>		$p_C < 0,001$
b*	C2007	7,98 <sup>ba</sup>	8,43 <sup>ab</sup>	7,84 <sup>ba</sup>	8,71 <sup>aA</sup>	0,18	$p_K = 0,077$
	C2165	7,98 <sup>ba</sup>	8,66 <sup>aA</sup>	8,11 <sup>ba</sup>	8,61 <sup>aA</sup>		$p_C = 0,061$
							$p_{K \times C} < 0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

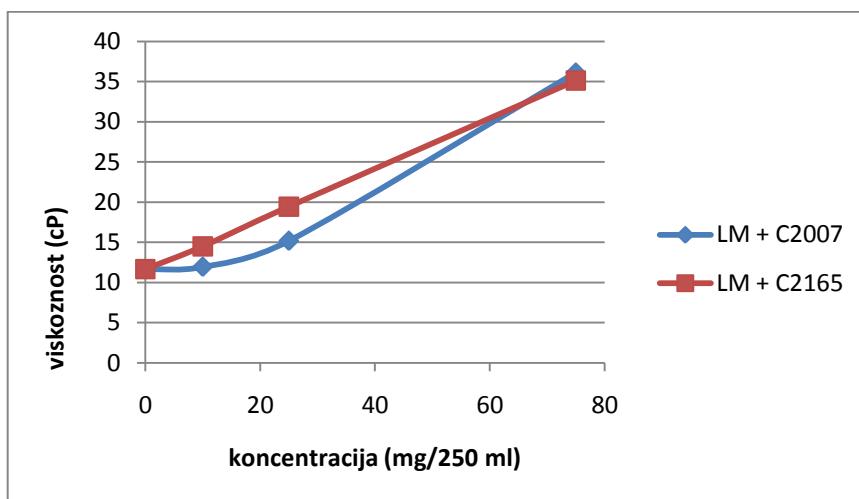
#### 4.2.9 Viskoznost smetane Ljubljanskih mlekarn

Preglednica 16 prikazuje vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na viskoznost sveže smetane. Iz preglednice je razvidno, da dodatek 10 mg karagenana C2007 statistično še ne vpliva na viskoznost smetane. Vpliv je značilen pri koncentraciji 25 in 75 mg/250 ml, pri čemer se viskoznost smetane značilno poveča in je največja pri koncentraciji 75 mg/250 ml. Pri smetani z dodanim karagenanom C2165 pa se viskoznost značilno poveča že ob dodatku 10 mg in se linearno povečuje z dodatkom 25 in 75 mg (slika 15). Opaziti je tudi značilno razliko med obema karagenanoma. Pri koncentracijah 10 in 25 mg/250 ml karagenan C2165 značilno bolj poveča viskoznost smetane kot karagenan C2007. Kljub temu, da se karagenana pri koncentraciji 75 mg/250 ml značilno ne ločita, lahko sklepamo, da je karagenan C2165 učinkovitejši kot karagenan C2007.

Preglednica 16: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na viskoznost smetane Ljubljanskih mlekarn

Dodatek karagenana v mg/250 ml smetane							
Parameter	karagenan	0	10	25	75	SE	p vrednost
Viskoznost (cP)	C2007	11,66 <sup>cA</sup>	11,95 <sup>cb</sup>	15,18 <sup>bb</sup>	36,10 <sup>aA</sup>	1,35	$p_K < 0,001$
	C2165	11,66 <sup>dA</sup>	14,49 <sup>cA</sup>	19,44 <sup>ba</sup>	35,12 <sup>aA</sup>		$p_C < 0,001$
							$p_{K \times C} < 0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)



Slika 15: Vpliv koncentracije karagenana na viskoznost smetane proizvajalca LM

#### 4.2.10 Dielektrična konstanta in faktor dielektrične izgube

Preglednica 17 prikazuje vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na dielektrično konstanto in faktor dielektrične izgube pri 200 MHz, 955 MHz, 2,46 GHz in 6,91 GHz.

Iz preglednice je razvidno, da se dielektrična konstanta ( $\epsilon'$ ) in faktor dielektrične izgube ( $\epsilon''$ ) ob dodanem karagenanu značilno poveča. Dielektrična konstanta smetane z dodanim karagenanom C2007 pri 200 MHz značilno linearno narašča s povečanjem koncentracije karagenana in je največja pri koncentraciji 75 mg/250 ml. Pri smetani z dodanim karagenanom C2165 ravno tako opazimo povečanje dielektrične konstante, vendar je povečanje nelinearno. Dodatek 10 mg karagenana značilno poveča dielektrično konstanto, v območju med 10 in 25 mg pa značilne spremembe ni. Ponovno se konstanta značilno poveča pri koncentraciji 75 mg/250 ml, kjer je tudi največja. Značilne razlike med karagenanoma je opaziti le pri začetni koncentraciji 10 mg/250 ml. Vrednost dielektrične konstante je z dodatkom karagenana C2165 značilno večja v primerjavi s karagenanom C2007. Pri koncentracijah 25 in 75 mg/250 ml pa so vrednosti dielektrične konstante enake.

Enako obnašanje karagenanov kot pri dielektrični konstanti opazimo pri faktorju dielektrične izgube. Pri isti frekvenci se faktor dielektrične izgube z dodanim karagenanom C2007 značilno poveča s povečanjem koncentracije dodanega karagenana. Faktor dielektrične izgube pri smetani z dodanim karagenanom C2165 nelinearno narašča, saj je pri koncentracijah 10 in 25 mg/250 ml faktor izgube statistično enak, povečanje dodatka iz 0 na 10 mg in iz 25 na 75 mg, pa povzroči značilno povečanje. Karagenana se značilno ločita pri koncentracijah 25 in 75 mg/250 ml in ne pri 10 mg/250 ml kot bi pričakovali. Karagenan C2007 povzroči večji  $\epsilon''$  kot karagenan C2165, čeprav sta dielektrični konstanti pri omenjenih koncentracijah statistično enaki.

Pri frekvencah 955 MHz, 2,46 GHz in 6,91 GHz je vpliv koncentracije karagenana na dielektrično konstanto in faktor izgube enak kot pri frekvenci 200 MHz. Pri koncentraciji 10 mg/250 ml se pri vseh naštetih frekvencah, tako pri dielektrični konstanti kot pri faktorju izgube, karagenana značilno ločita med seboj. Karagenan C2165 značilno bolj poveča dielektrično konstanto v primerjavi s karagenanom C2007, enako velja za faktor izgube. Pri koncentraciji 25 mg/250 ml pa se karagenana med seboj ločita samo pri vplivu na  $\epsilon''$  pri frekvenci 6,91 GHz, pri čemer karagenan C2165 povzroči večjo dielektrično konstanto kot karagenan C2007. Pri največji koncentraciji dodatka (75 mg/250ml) pa se pojavijo razlike v vplivu na  $\epsilon'$  pri frekvenci 2,46 GHz in 6,91 GHz, kjer je vpliv karagenana C2165 na dielektrično konstanto bolj značilen. Pri frekvenci 2,46 GHz se karagenana značilno ločita tudi v vplivu na  $\epsilon''$ , pri tem karagenan 2007 povzroči večje izgube kot karagenan 2165. Enaka razlika v vplivu na  $\epsilon''$  je razvidna pri frekvenci 9,55 MHz.

Preglednica 17: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na dielektrično konstanto in faktor dielektrične izgube smetane Ljubljanskih mlekarn

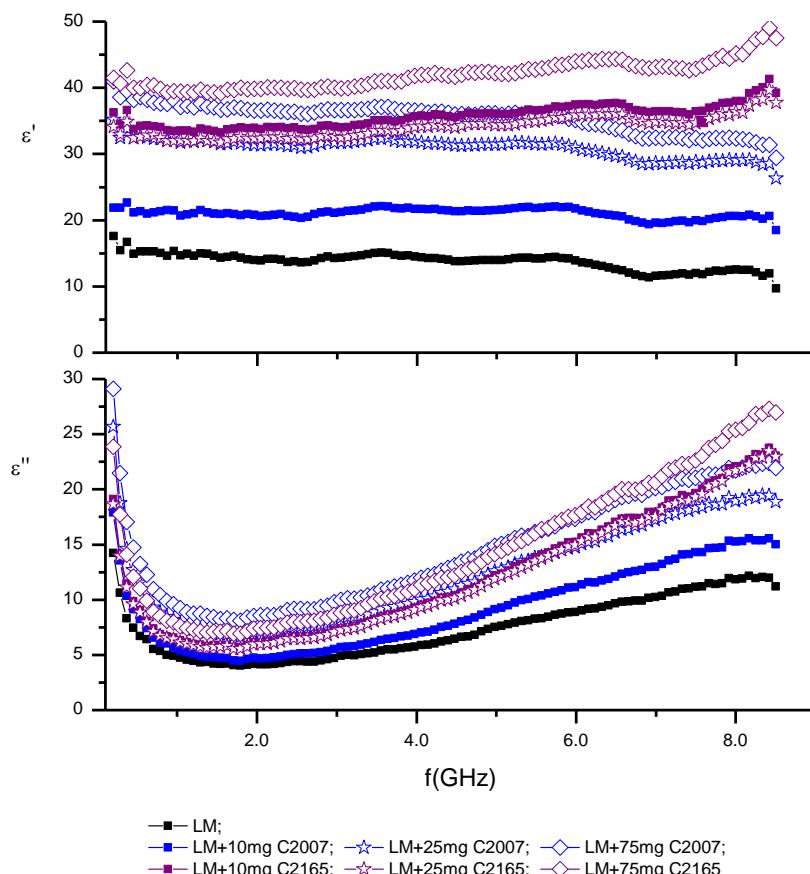
Dodatek karagenana v mg/250 ml smetane							
Parameter	karagenan	0	10	25	75	SE	p vrednost
$\epsilon'$ 200 MHz	C2007	17,60 <sup>d</sup>	21,85 <sup>cB</sup>	35,22 <sup>b</sup>	40,97 <sup>a</sup>	0,80	$p_{K<0,001}$
	C2165	17,60 <sup>c</sup>	36,24 <sup>bA</sup>	34,15 <sup>b</sup>	41,51 <sup>a</sup>		$p_{C<0,001}$
							$p_{K\times C<0,001}$
$\epsilon''$ 200 MHz	C2007	14,24 <sup>d</sup>	17,91 <sup>c</sup>	25,67 <sup>bB</sup>	29,12 <sup>aB</sup>	0,72	$p_{K=0,796}$
	C2165	14,24 <sup>c</sup>	19,13 <sup>b</sup>	18,65 <sup>bA</sup>	23,87 <sup>aA</sup>		$p_{C<0,001}$
							$p_{K\times C=0,677}$
$\epsilon'$ 955 MHz	C2007	15,34 <sup>d</sup>	21,47 <sup>cB</sup>	32,69 <sup>b</sup>	38,10 <sup>a</sup>	0,92	$p_{K<0,001}$
	C2165	15,34 <sup>c</sup>	33,46 <sup>bA</sup>	32,85 <sup>b</sup>	39,46 <sup>a</sup>		$p_{C<0,001}$
							$p_{K\times C<0,001}$
$\epsilon''$ 955 MHz	C2007	4,92 <sup>d</sup>	5,69 <sup>cB</sup>	8,16 <sup>b</sup>	9,60 <sup>aB</sup>	0,26	$p_{K=0,003}$
	C2165	4,92 <sup>c</sup>	6,56 <sup>bA</sup>	6,82 <sup>b</sup>	7,95 <sup>aA</sup>		$p_{C<0,001}$
							$p_{K\times C<0,001}$
$\epsilon'$ 2,46 GHz	C2007	13,81 <sup>d</sup>	20,53 <sup>cB</sup>	31,29 <sup>b</sup>	36,37 <sup>aB</sup>	0,88	$p_{K<0,001}$
	C2165	13,81 <sup>c</sup>	33,98 <sup>bA</sup>	33,34 <sup>b</sup>	39,97 <sup>aA</sup>		$p_{C<0,001}$
							$p_{K\times C<<0,001}$
$\epsilon''$ 2,46 GHz	C2007	4,44 <sup>d</sup>	5,07 <sup>cB</sup>	7,57 <sup>b</sup>	9,17 <sup>aB</sup>	0,17	$p_{K=0,408}$
	C2165	4,44 <sup>c</sup>	6,69 <sup>bA</sup>	6,83 <sup>b</sup>	8,00 <sup>aA</sup>		$p_{C<0,001}$
							$p_{K\times C<0,001}$
$\epsilon'$ 6,91 GHz	C2007	11,36 <sup>d</sup>	19,40 <sup>cB</sup>	28,46 <sup>bB</sup>	32,36 <sup>aB</sup>	1,01	$p_{K<0,001}$
	C2165	11,36 <sup>c</sup>	36,31 <sup>bA</sup>	35,21 <sup>bA</sup>	42,95 <sup>aA</sup>		$p_{C<0,001}$
							$p_{K\times C<0,001}$
$\epsilon''$ 6,91 GHz	C2007	10,16 <sup>d</sup>	12,94 <sup>cB</sup>	17,11 <sup>b</sup>	19,95 <sup>a</sup>	0,67	$p_{K<0,001}$
	C2165	10,16 <sup>c</sup>	17,93 <sup>bA</sup>	18,10 <sup>b</sup>	20,58 <sup>a</sup>		$p_{C<0,001}$
							$p_{K\times C<0,001}$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

Slika 16 prikazuje dielektrične konstante in faktorje dielektričnih izgub smetane Ljubljanskih mlekarn brez in z dodanim karagenanom v odvisnosti od frekvence. Iz slike je

razvidno, da ima najnižjo dielektrično konstanto smetana brez dodanega karagenana, s povečanjem koncentracije karagenana pa dielektrična konstanta narašča. Enako je z dielektričnimi izgubami. Najnižji faktor izgube ima smetana brez dodanega karagenana, s povečanjem koncentracije karagenana pa faktor dielektrične izgube narašča. Dielektrične konstante smetan so skoraj konstantne v celiem frekvenčnem območju. Dielektrične izgube smetan pa potekajo po skoraj isti krivulji in se malo razlikujejo v vrednostih pri nižjih frekvencah. Od začetka strmo padajo in se pri približno 1 GHz počasi dvigajo.

Krivulje spremenjanja dielektrične konstante s frekvenco za smetano in smetano s karegenanom C2007 so podobne, medtem ko so za smetano s C2165 pri visokih frekvencah nekoliko drugačne. C2165 ima večji vpliv na dielektrične lastnosti predvsem pri dodatku 10 mg karagenana, povečanje količine C2165 na 25 mg ne vpliva močno, medtem ko 75 mg C 2165 vodi do najvišje dielektrične konstante predvsem pri visokih frekvencah. Dodatek C 2007 manj vpliva na dielektrične lastnosti, predvsem pri dodatku 10 mg.



Slika 16: Dielektrična konstanta in faktor izgube smetane Ljubljanskih mlekarn brez in z dodanim karagenanom

## 4.3 REZULTATI SVEŽE IN STEPENE SMETANE BCN

### 4.3.1 Prevodnost sveže in stepene smetane BCN

Preglednica 18 prikazuje vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na prevodnost smetane BCN pred stejanjem in prevodnost stepene smetane.

Iz preglednice je razvidno, da se vpliv na prevodnost sveže smetane statistično značilno ( $p_C < 0,001$ ) spreminja le s koncentracijo karagenana. Prevodnost smetane pred stejanjem se pri dodatku 10 in 25 mg karagenana C2007 značilno poveča. Nadaljnje povečanje koncentracije na 75 mg/250 ml pa statistično ne vpliva več na prevodnost in je enaka kot prevodnost kontrolne smetane. Dodatek karagenana C2165 v koncentracijah 10 in 25 mg/250 ml še nima značilnega vpliva na prevodnost. Prevodnost se presenetljivo, ker C 2165 ne vsebuje soli, značilno poveča šele pri koncentraciji 75 mg/250 ml. Iz tega je razvidno, da se karagenana med sabo značilno ločita. Pri dodatku 10 in 25 mg je bolj prevoden karagenan C2007, pri 75 mg pa karagenan C2165.

Pri prevodnosti stepene smetane pa opazimo, da noben dodatek in koncentracija karagenana statistično ne vpliva na prevodnost stepene smetane ( $p_K = 0,468$ ,  $p_C = 0,443$ ,  $p_{K \times C} = 0,942$ ). Sama karagenana se med seboj značilno razlikujeta. V vseh izbranih koncentracijah je smetana z dodanim karagenanom C2165 bolj prevodna kot smetana z dodanim karagenanom C2007.

Preglednica 18: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na prevodnost smetane pred stejanjem in prevodnost stepene smetane proizvajalca BCN

Parameter	karagenan	koncentracija			SE	$p$ vrednost
		0	10	25		
prevodnost pred stejanjem ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	C2007	1820 <sup>bA</sup>	1888 <sup>aA</sup>	1839 <sup>baA</sup>	1815 <sup>bbB</sup>	$p_K = 0,492$
	C2165	1820 <sup>bA</sup>	1791 <sup>bb</sup>	1774 <sup>bb</sup>	2028 <sup>aA</sup>	$p_C < 0,001$ $p_{K \times C} = 0,279$
prevodnost stepene ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	C2007	1722 <sup>aA</sup>	480 <sup>aB</sup>	593 <sup>aB</sup>	636 <sup>ab</sup>	$p_K = 0,468$
	C2165	1722 <sup>aA</sup>	560 <sup>aA</sup>	765 <sup>aA</sup>	808 <sup>aA</sup>	$p_C = 0,443$ $p_{K \times C} = 0,942$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

### 4.3.2 Čas stevanja smetane BCN

Iz preglednice 19 je razvidno, da se čas stevanja s koncentracijo in vrsto karagenana ne spreminja značilno ( $p_{K \times C} = 0,986$ ,  $p_C = 0,746$ ,  $p_K = 0,977$ ).

Preglednica 19: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na čas stevanja smetane BCN

<b>Parameter</b>	<b>karagenan</b>	<b>konzentracija</b>				<b>SE</b>	<b>p vrednost</b>
		<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>75</b>		
čas stevanja (s)	C2007	205 <sup>aA</sup>	130 <sup>aA</sup>	155 <sup>a</sup>	188 <sup>aA</sup>	76,7	$p_K = 0,977$
	C2165	205 <sup>aA</sup>	150 <sup>aA</sup>	171 <sup>a</sup>	158 <sup>aA</sup>		$p_C = 0,746$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

### 4.3.3 Instrumentalne meritve tekture smetane BCN

Na instrumentalno izmerjene parametre tekture kot so čvrstost (sila, ki je potrebna za dosežek deformacije) in konsistenco (daje idejo o stopnji viskoznosti, gostoti tekočine) dodatek karagenana C2007 statistično nima vpliva. Nasprotno pa dodatek karagenana C2165 že v 10 mg značilno izboljša čvrstost (6,26 N), vendar se ob dodatku 25 mg značilno ( $p < 0,001$ ) zmanjša (3,76 N) in je še manjša od kontrolne smetane (4,67 N). Povečanje koncentracije na 75 mg/250 ml pa ponovno značilno izboljša čvrstost in je pri omenjeni koncentraciji tudi največja (8,15 N). Parameter konsistence se ponovno pri dodatku 10 mg karagenana C2165 značilno poveča ( $p = 0,012$ ) in je pri dodatku 75 mg največji. Pri dodatku 25 mg pa se tako kot pri parametru čvrstosti, konsistenco značilno zmanjša in je manjša od kontrolne vrednosti. Karagenana se značilno ločita le pri koncentraciji 75 mg/250 ml, pri kateri dodatek karagenana C2165 poveča čvrstost in konsistenco, dodatek karagenana C2007 pa vpliva na čvrstost in konsistenco nima.

Nekaj več razlik o vplivu koncentracije karagenana opazimo pri naslednjih parametrih tekture; kohezivnosti in indeksu viskoznosti. Dodatek karagenana C2007 v 10 in 25 mg neznačilno ( $p_{K \times C} = 0,738$ ) poveča kohezivnost smetane, pri tem je smetana ob dodatku 10 mg najbolj kohezivna. Dodatek 75 mg pa na kohezivnost nima več vpliva v primerjavi s kontrolnim vzorcem. Pri dodatku karagenana C2165 pa med koncentracijami opazimo nihanje vrednosti. Pri 10 mg se kohezivnost neznačilno poveča, pri 25 mg pa neznačilno zmanjša. Kohezivnost pri 25 mg je celo manjša (3,76 N) od kontrolne vrednosti (4,27 N). Dodatek 75 mg pa zopet poveča kohezivnost in je pri tej koncentraciji tudi največja (7,85 N). Karagenana se med seboj razlikujeta pri koncentraciji 75 mg/250 ml, kjer je smetana z dodatkom karagenana C2165 bolj kohezivna kot smetana z dodanim karagenanom C2007.

Vpliv karagenanov C2007 in C2165 je na indeks viskoznosti tudi statistično neznačilen ( $p_{K \times C} = 0,748$ ). Dodatek karagenana v vseh koncentracijah neznačilno poveča vrednosti

indeksa viskoznosti v primerjavi s kontrolno smetano, največji vpliv na omenjeni parameter ima dodatek 10 mg karagenana. Karagenana se ne ločita v vplivu na indeks viskoznosti.

Preglednica 20: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na parametre tekture (čvrstost, konsistenza, kohezivnost in indeks viskoznosti) smetane BCN

<b>Parameter</b>	<b>karagenan</b>	<b>konzentracija</b>				<b>SE</b>	<b>p vrednost</b>
		<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>75</b>		
čvrstost (N)	C2007	4,67 <sup>aA</sup>	5,72 <sup>aA</sup>	4,72 <sup>aA</sup>	4,17 <sup>ab</sup>	61,9	$p_K=0,026$
	C2165	4,67 <sup>cbA</sup>	6,26 <sup>bA</sup>	3,76 <sup>cA</sup>	8,15 <sup>aA</sup>		$p_C<0,001$ $p_{K\times C}<0,001$
konsistenza (Ns)	C2007	103,62 <sup>aA</sup>	138,08 <sup>aA</sup>	112,45 <sup>aA</sup>	106,12 <sup>ab</sup>	0,004	$p_K=0,002$
	C2165	103,62 <sup>bcA</sup>	138,41 <sup>baA</sup>	96,92 <sup>cA</sup>	176,32 <sup>aA</sup>		$p_C=0,019$ $p_{K\times C}=0,012$
kohezivnost (N)	C2007	4,27 <sup>aA</sup>	5,98 <sup>bA</sup>	4,84 <sup>baA</sup>	4,28 <sup>aA</sup>	0,228	$p_K=0,662$
	C2165	4,27 <sup>aA</sup>	6,57 <sup>bA</sup>	3,76 <sup>aA</sup>	7,85 <sup>bb</sup>		$p_C=0,369$ $p_{K\times C}=0,738$
indeks viskoznosti (Ns)	C2007	6,44 <sup>aA</sup>	13,79 <sup>bA</sup>	9,52 <sup>baA</sup>	9,48 <sup>baA</sup>	0,166	$p_K=0,712$
	C2165	6,44 <sup>aA</sup>	13,89 <sup>bA</sup>	7,72 <sup>baA</sup>	11,49 <sup>baA</sup>		$p_C=0,370$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

#### 4.3.4 Instrumentalne meritve absorbance NIR smetane BCN

Preglednica 21 prikazuje vpliv vrste in koncentracije karagenana na vrednosti absorbance v NIR delu spektra pri 850, 930 in 950 nm. Razvidno je, da noben dodatek in vrsta karagenana statistično ne vpliva na absorbanco smetane.

Preglednica 21: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na absorbanco NIR pri 850, 930 in 950 nm stepene smetane BCN

<b>Parameter</b>	<b>karagenan</b>	<b>konzentracija</b>				<b>SE</b>	<b>p vrednost</b>
		<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>75</b>		
NIR 850 nm	C2007	2,619 <sup>a</sup>	2,681 <sup>a</sup>	2,562 <sup>a</sup>	2,648 <sup>a</sup>	1,367	$p_K=0,714$
	C2165	2,619 <sup>a</sup>	2,688 <sup>a</sup>	2,465 <sup>a</sup>	2,787 <sup>a</sup>		$p_C=0,302$ $p_{K\times C}=0,917$
NIR 930 nm	C2007	3,021 <sup>a</sup>	3,087 <sup>a</sup>	2,929 <sup>a</sup>	3,071 <sup>a</sup>	1,436	$p_K=0,474$
	C2165	3,021 <sup>a</sup>	3,122 <sup>a</sup>	2,815 <sup>a</sup>	3,317 <sup>a</sup>		$p_C=0,174$ $p_{K\times C}=0,282$
NIR 970 nm	C2007	3,433 <sup>a</sup>	3,520 <sup>a</sup>	3,319 <sup>a</sup>	3,515 <sup>a</sup>	0,21	$p_K=0,595$
	C2165	3,433 <sup>a</sup>	3,572 <sup>a</sup>	3,185 <sup>a</sup>	3,875 <sup>a</sup>		$p_C<0,001$ $p_{K\times C}<0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

### 4.3.5 Gostota sveže in stepene smetane BCN

Preglednica 22 prikazuje vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na gostoto sveže in stepene smetane. Gostota sveže sметane se ob dodatku karagenana C2007 pri navedenih koncentracijah statistično značilno ( $p_C=0,006$ ) ne spremeni. Dodatek karagenana C2165 pri koncentraciji 10 mg/250 ml pa značilno poveča gostoto sveže smetane. Ravno tako se gostota značilno poveča pri koncentraciji 75 mg/250 ml (0,997 g/ml), vendar v manjši meri kot pri koncentraciji 10 mg/250 ml (1,012 g/ml). Dodatek 25 mg najmanj poveča gostoto sveže smetane (0,991 g/ml), vendar ne statistično značilno.

Gostota stepene smetane pa se ob dodatku karagenana v navedenih koncentracijah statistično ne spremeni. Karagenana se med sabo tudi ne razlikujeta.

Preglednica 22: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na gostoto sveže in stepene smetane BCN

Parameter	karagenan	koncentracija					$p$ vrednost
		0	10	25	75	SE	
gostota sveže (g/ml)	C2007	0,977 <sup>a</sup>	0,971 <sup>a</sup>	0,974 <sup>a</sup>	0,987 <sup>a</sup>	287,8	$p_K=0,954$
	C2165	0,977 <sup>b</sup>	1,012 <sup>a</sup>	0,991 <sup>b</sup>	0,997 <sup>ba</sup>		$p_C=0,006$
							$p_{K\times C}=0,859$
gostota stepene (g/ml)	C2007	0,454 <sup>a</sup>	0,400 <sup>a</sup>	0,470 <sup>a</sup>	0,481 <sup>a</sup>	0,121	$p_K=0,8831$
	C2165	0,454 <sup>a</sup>	0,444 <sup>a</sup>	0,530 <sup>a</sup>	0,531 <sup>a</sup>		$p_C=0,446$
							$p_{K\times C}=0,814$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

### 4.3.6 Povečanje prostornine smetane BCN pri stevanju (overrun)

Overrun je bil izračunan po enakem postopku kot overrun smetane Ljubljanskih mlekarn.

Iz preglednice 23 je razvidno, da dodatek karagenana statistično nima vpliva na overrun smetane proizvajalca BCN.

Preglednica 23: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na overrun smetane proizvajalca BCN

Parameter	karagenan	koncentracija					$p$ vrednost
		0	10	25	75	SE	
overrun (%)	C2007	117 <sup>a</sup>	143 <sup>a</sup>	107 <sup>a</sup>	105 <sup>a</sup>	0,23	$p_K=0,492$
	C2165	117 <sup>a</sup>	128 <sup>a</sup>	87 <sup>a</sup>	88 <sup>a</sup>		$p_C<0,001$
							$p_{K\times C}=0,002$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

### 4.3.7 Stabilnost stepene smetane BCN

Kot je razvidno iz preglednice 24, se stabilnost smetane ob prvem centrifugiranju v vseh koncentracijah dodanih karagenanov C2007 in C2165, statistično značilno ne spremeni.

Opazimo pa značilne razlike pri obeh karagenanih. Smetana z dodanim karagenanom C2007 je pri koncentraciji 10 in 25 mg/250 ml bolj stabilna kot smetana z dodanim karagenanom C2165. Pri koncentraciji 75 mg/250 ml pa je smetana bolj stabilna z dodanim karagenanom C2165.

Ob drugem centrifugiraju (iz hladilnika po 24 urah) ponovno opazimo, da se pri vseh koncentracijah dodanih karagenanov C2007 in C2165, stabilnost smetane statistično ne spremeni. Ravno tako ne opazimo razlik med karagenanoma.

Preglednica 24: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na stabilnost smetane prvi in drugi dan proizvajalca BCN

<b>Parameter</b>	<b>karagenan</b>	<b>konzentracija</b>				<b>SE</b>	<b>p vrednost</b>
		<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>75</b>		
centrifugiranje 1 (ml/30 ml)	C2007	3,52 <sup>a</sup>	2,20 <sup>aB</sup>	3,90 <sup>aB</sup>	3,40 <sup>aA</sup>	70,85	$p_K=0,025$
	C2165	3,52 <sup>a</sup>	2,70 <sup>aA</sup>	4,80 <sup>aA</sup>	3,00 <sup>aB</sup>		$p_C=0,004$
centrifugiranje 2 (ml/30 ml)	C2007	3,45 <sup>a</sup>	1,90 <sup>aA</sup>	3,90 <sup>aA</sup>	3,50 <sup>aA</sup>	1614,7	$p_K=0,112$
	C2165	3,45 <sup>a</sup>	2,70 <sup>aA</sup>	4,40 <sup>aA</sup>	0,00 <sup>aA</sup>		$p_C=0,003$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

#### 4.3.8 Barva stepene smetane BCN

Preglednica 25 prikazuje rezultate instrumentalnih meritev barve s kromometrom stepene smetane z in brez dodatka karagenanov C2007 in C2165. Meritve so bile opravljene pri sobni temperaturi.

Parameter L\* se pri dodatku 10 mg karagenana C2007 značilno poveča. Povečanje dodatka na 25 mg pa vrednost L\* značilno zmanjša. Nadaljnje povečanje na 75 mg statistično nima več vpliva na vrednost L\*. Podobno nihanje med vrednostmi opazimo tudi pri dodatku karagenana C2165. Pri dodatku 10 mg se vrednost L\* značilno poveča in je največja (91,19), ob dodatku 25 mg pa se vrednost L\* značilno zmanjša (89,22) in je celo manjša od vrednosti kontrolne smetane (90,35). Dodatek 75 mg pa ponovno značilno poveča vrednost L\* (90,72), vendar manj kot dodatek karagenana v koncentraciji 10 mg/250 ml. Karagenana se med seboj značilno razlikujeta le pri koncentracijah 25 in 75 mg/250 ml, kjer ima dodatek 25 in 75 mg karagenana C2165 večji vpliv na vrednost L\* kot karagenan C2007.

Parameter a\* se pri dodatku 10 mg karagenanov C2007 in C2165 statistično značilno še ne spremeni. Povečanje koncentracije karagenana C2007 na 25 in 75 mg/250 ml pa značilno zmanjša vrednost parametra a\*. Vendar razlike med omenjenima koncentracijama niso značilne. Pri dodatku karagenana C2165 pa se značilno zmanjša vrednost a\* le pri koncentraciji 25 mg/250 ml. Karagenana se med seboj pri vseh koncentracijah značilno razlikujeta. Pri koncentraciji 10 mg/250 ml karagenan C2007 vrednost a\* poveča,

karagenan C2165 pa zmanjša. Pri koncentraciji 25 mg/250 ml oba karagenana zmanjšata vrednost  $a^*$ , vendar je učinek veliko večji pri dodatku karagenana C2165. Obraten trend kot pri 10 mg pa opazimo pri koncentraciji 75 mg/250 ml, dodatek karagenana C2007 povzroči zmanjšanje vrednosti  $a^*$ , dodatek karagenana C2165 pa povečanje.

Vpliv karagenana in njegove koncentracije na parameter  $b^*$  ni tako značilen kot na preostala dva parametra. Dodatek 10 mg karagenana C2007 značilno zmanjša vrednost  $b^*$ , povečanje dodatka na 25 in 75 mg pa nima več značilnega vpliva v primerjavi s kontolo.

Dodatek 10 mg karagenana C2165 nima vpliva na vrednost  $b^*$ . Vpliv je značilen pri dodatku 25 mg, pri katerem se vrednost parametra  $b^*$  poveča. Dodatek 75 mg nima več vpliva v primerjavi s kontolo. Dodatek 10 in 75 mg karagenana C2007 ima večji vpliv na parameter  $b^*$  kot karagenan C2165, obraten vpliv pa je razviden pri koncentraciji 25 mg/250 ml, pri kateri ima večji vpliv karagenan C2165.

Preglednica 25: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na parametre barve smetane proizvajalca BCN

<b>Parameter</b>	<b>karagenan</b>	<b>koncentracija</b>				<b>SE</b>	<b>p vrednost</b>
		<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>75</b>		
$L^*$	C2007	90,35 <sup>bA</sup>	91,17 <sup>aA</sup>	89,92 <sup>cA</sup>	90,19 <sup>c</sup> <sup>bA</sup>	0,049	$p_K=0,288$
	C2165	90,35 <sup>cA</sup>	91,19 <sup>aA</sup>	89,22 <sup>dB</sup>	90,72 <sup>bB</sup>		$p_C=0,357$
$a^*$	C2007	-1,88 <sup>aA</sup>	-1,62 <sup>aA</sup>	-2,39 <sup>bA</sup>	-2,38 <sup>BB</sup>	50,00	$p_K=0,335$
	C2165	-1,88 <sup>aA</sup>	-1,98 <sup>aB</sup>	-2,53 <sup>bB</sup>	-1,85 <sup>aA</sup>		$p_C<0,001$
$b^*$	C2007	12,22 <sup>aA</sup>	10,56 <sup>BB</sup>	13,14 <sup>aB</sup>	13,32 <sup>aA</sup>	1182,2	$p_K=0,736$
	C2165	12,22 <sup>bA</sup>	11,53 <sup>bA</sup>	14,04 <sup>aA</sup>	12,43 <sup>BB</sup>		$p_C=0,004$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

#### 4.3.9 Viskoznost smetane BCN

Na viskoznost sveže smetane ima koncentracija dodanega karagenana C2165 statistično značilen vpliv ( $p<0,001$ ). Dodatek 25 in 75 mg karagenana povzroči značilno povečanje viskoznosti v primerjavi s kontrolnim vzorcem (22,17 cP). Pri tem dodatek 75 mg povzroči največjo viskoznost (74,86 cP).

Preglednica 26: Vpliv vrste karagenana in njegove koncentracije na viskoznost smetane BCN

<b>Parameter</b>	<b>karagenan</b>	<b>koncentracija</b>				<b>SE</b>	<b>p vrednost</b>
		<b>0</b>	<b>10</b>	<b>25</b>	<b>75</b>		
viskoznost (cP)	C2007	22,17	-	-	-	3,04	$p_K=1,000$
	C2165	22,17 <sup>c</sup>	-	37,62 <sup>b</sup>	74,86 <sup>a</sup>		$p_C<0,001$

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p\leq 0,05$ ; značilnost

razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

#### 4.4 VIRI VARIABILNOSTI IN NJIHOV VPLIV NA FIZIKALNE PARAMETRE SMETANE LJUBLJANSKIH MLEKARN IN BCN

Želeli smo primerjati kako viri variabilnosti, kot so vrsta smetane, vrsta karagenana, koncentracija in njihova interakcija, vplivajo na fizikalne parametre smetane Ljubljanskih mlekarn (LM) in smetane BCN. V preglednici 27 je razvidno, da je njihov vpliv značilen pri mnogo parametrih. Na prevodnost smetane pred stepanjem smetane LM in BCN imajo značilen ( $p < 0,001$ ) vpliv koncentracija karagenana, vrsta smetane in interakcija vrste smetane, karagenana ter koncentracije. Vpliv vrste karagenana na prevodnost smetane pa je neznačilen ( $p > 0,05$ ). Na prevodnost stepene smetane imata značilen ( $p < 0,05$ ) vpliv koncentracija karagenana in vrsta smetane.

Preglednica 27: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na fizikalne parametre smetan

<b>Parameter</b>	<b><i>p</i>-vrednost</b>					
	<b>karagenan</b>	<b>koncentracija</b>	<b>vrsta</b>	<b>vrsta * karagenan</b>	<b>*koncentracija</b>	<b>SE</b>
prevodnost pred stepanjem ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	0,393	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>		130
prevodnost stepene ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	0,623	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,012</b>	0,098		780
čas stepanja (s)	0,644	0,197	0,480	0,542		48
čvrstost (N)	0,074	0,077	<b>0,046</b>	<b>0,031</b>		150,4
konsistencija (Ns)	0,075	0,218	<b>0,026</b>	<b>0,019</b>		3345,2
kohezivnost (N)	<b>0,045</b>	0,195	0,071	<b>0,006</b>		135,7
indeks viskoznosti (Ns)	0,079	0,237	<b>0,045</b>	<b>0,001</b>		250,8
NIR 850 (nm)	0,365	0,597	0,457	0,889		0,127
NIR 930 (nm)	0,295	0,524	0,221	0,911		0,203
NIR 970 (nm)	0,265	0,478	0,355	0,906		0,264
gostota sveže (g/ml)	<b>0,021</b>	<b>0,036</b>	0,518	0,244		0,011
gostota stepene (g/ml)	0,590	0,596	0,083	0,938		0,063
centrifugiranje 1 (ml)	0,591	0,201	0,138	0,565		1,01
centrifugiranje 2 (ml)	0,137	0,320	0,428	0,320		1,36
<i>L</i> <sup>*</sup>	<b>0,002</b>	<b>0,003</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>		0,46
<i>a</i> <sup>*</sup>	0,754	0,583	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>		0,29
<i>b</i> <sup>*</sup>	0,618	0,559	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>		1,37
overrun (%)	0,837	0,779	0,089	0,965		35,47
viskoznost (cP)	<b>0,040</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,004</b>	0,124		15,99

Legenda: K – vpliv vrste karagenana; C – vpliv koncentracije dodanega karagenana; SE – standardna napaka srednje vrednosti; srednje vrednosti z različno črko (<sup>A,B</sup>) znotraj stolpca se statistično značilno razlikujejo ( $p < 0,05$ ; značilnost razlik med vrstami karagenana); srednje vrednosti z različno črko (<sup>a,b,c,d</sup>) znotraj vrstice se statistično značilno razlikujejo ( $p < 0,05$ ; značilnost razlik med koncentracijami dodanega karagenana)

Viri variabilnosti, kot so vrsta smetane in interakcija med vrsto, karagenanom in koncentracijo, značilno ( $p \leq 0,05$ ) vplivajo tudi na teksturne parametre čvrstosti ter

konsistence. Na parameter kohezivnosti pa značilno ( $p \leq 0,05$ ) vplivata vrsta karagenana in interakcija med vrsto smetane, karagenanom ter koncentracijo. Vpliv vrste smetane in interakcije med vrsto, karagenanom ter koncentracijo, pa je značilen za razlike v parametru indeksa viskoznosti.

Naslednja razlika v vplivu virov variabilnosti med smetanama je pri parametru gostote sveže sметane, kjer imata značilen ( $p \leq 0,05$ ) vpliv vrsta karagenana in njegova koncentracija. Viri variabilnosti značilno vplivajo tudi na razliko v barvnih parametrih  $L^*$ ,  $a^*$  in  $b^*$  med smetanama. Na parameter  $L^*$  značilno vplivajo vsi viri variabilnosti, na parameter  $a^*$  in  $b^*$  pa vrsta smetane in interakcija vrste, karagenana in koncentracije. Zadnji parameter, na katerega imajo viri variabilnosti značilen vpliv ( $p \leq 0,05$ ), je viskoznost. Na razliko v viskoznosti sveže smetane značilno vplivajo vrsta karagenana, njegova koncentracija in vrsta smetane. Vpliv njihove interakcije pa je neznačilen ( $p > 0,05$ ). Na preostale fizikalne parametre kot so čas stepanja, absorbanca pri NIR, gostota stepene smetane, stabilnost in overrun, je vpliv virov variabilnosti neznačilen ( $p > 0,05$ ).

#### 4.5 REZULTATI ANALIZ STEPENIH SMETAN V PREDPOSKUSIH

V predposkusih tehnološke priprave karagenana v sveži sметani smo opazili, da se karagenan ni pravilno raztopil. Tako pripravljeni smetani niso bile homogene, v njih so bili še prisotni strdki karagenana. Priprava predhodnega karagenana v vodni raztopini ali v mleku se ni izkazala za uspešno (poskus 1,3,4). Ravno tako se ni izkazala za uspešno pripravo direktno segrevanje karagenana v sveži smetani brez predhodnega dispergiranja karagenana z ultraturaksom (poskus 5,6,7). Pri poskusu 8 smo opazili, da se karagenan v preveliki količini sveže smetane pri segrevanju ni raztopil, čeprav je bil predhodno dispergiran v manjši količini sveže smetane. Pri poskusih 9 in 10 pa je bil poleg že zgoraj omenjenih razlogov, dodaten razlog neuspešnega raztopljanja karagenana, prenizka temperatura.

## 4.6 REZULTATI ANALIZ TRGOVSKIH SMETAN IN SMETAN, KI SMO JIH UPORABILI V POSKUSIH BREZ DODANEGA KARAGENANA

Preglednica 28: Rezultati analiz trgovskih smetan in smetan, ki smo jih uporabili v poskusih

Vzorec	$\sigma_1$ ( $\mu\text{S}$ )	$\sigma_2$ ( $\mu\text{S}$ )	t (s)	$\check{\epsilon}$ (N)	k (N.s)	kh (N)	iv	NIR 850	NIR 930	NIR 970	$r_{sv}$ (g/ml)	$r_{st}$ (g/ml)	c1 (ml)	c2 (ml)	L* a*	b*	or (%)	
MU LJ	2215	411	124	3,01	70,09	3,26	6,51	2,566	2,855	3,267	0,974	0,346	4,6	4,6	90,8	-1,72	7,99	182
BCN	1787	653	211	4,32	92,73	4,51	9,1	2,517	2,868	3,253	0,979	0,477	4,7	5,5	90,2	-2,26	12,71	105
MU A LJ	2021	575	265	3,73	91,01	4,57	8,95	2,798	3,259	3,804	0,964	0,419	4,2	3,3	92	-1,2	7,65	130
ZD SM	1865	3702	338	4,28	113,7	4,64	10,15	2,774	3,238	3,742	0,96	0,448	3,6	2,1	91,6	-0,76	8,42	114
SS PM	1912	3748	336	2,29	15,54	1,57	1,69	2,783	3,254	3,785	0,973	0,465	3,2	1,1	91,73	-0,63	7,17	109
RS M	1431	1743	160	5,36	148,1	5,02	11,14	2,731	3,074	3,472	1,044	0,304	0,75	0,1	92,93	0,57	2,61	243
SS M	1858	3095	139	6,71	177,3	6,48	11,15	2,677	3,094	3,537	1,008	0,432	3,35	2,1	91,19	-0,85	8,63	133
S M H	1764	445	115	5,49	126,7	5,33	10,62	2,619	2,974	3,385	0,98	0,381	1,85	0,85	91,12	-1,79	10,63	157

Legenda: MU LJ – Mu Cuisine sladka smetana LJ mlekarne, BCN – Biotehniški center Naklo, MU A LJ – MU Cuisine Alpska smetana, ZDSM – Smetana za stepanje Zelene doline (Mlekarna Celeia), SSPM – Smetana za stepanje Pomurske mlekarne, RSM – Rastlinska smetana za stepanje Mercator, SSM – Sladka smetana Mercator, SM H – Smetana Milfina (Hofer),  $\sigma_1$  – prevodnost pred stepanjem;  $\sigma_2$  – prevodnost stepene smetane; t – čas stepanja;  $\check{\epsilon}$  – čvrstost stepene smetane; k – konzistencija stepene smetane; kh – kohezivnost stepene smetane; iv – indeks viskoznosti stepene smetane;  $\rho_{sv}$  – gostota sveže svetane;  $\rho_{st}$  – gostota stepene smetane; c1 – centrifugiranje 1; c2 – centrifugiranje 2; or – overrun

Viskoznost sveže smetane Mu Cuisine sladka smetana LJ mlekarne je 11,66 cP, viskoznost sveže smetane BCN pa 22,12 cP.

## 5 RAZPRAVA

Cilj naše naloge je bil ugotoviti, katera vrsta in koncentracija karagenana je optimalna za izboljšanje tekture in stabilnosti stepene smetane. V ta namen smo v svežo smetano dodajali različne vrste karagenanov različnih proizvajalcev, in sicer karagenan Ceamlacta 2007 in Ceamlacta 2165 proizvajalca CEAMSA. Ceamlacta 2165 je razvit posebej za uporabo v zgoščenem mleku, Ceamlacta 2007 pa za uporabo v čokoladnem mleku. Oba sta sestavljena iz karagenana E407 in dekstroze za standardizacijo, vendar ima Ceamlacta 2007 poleg dekstroze dodan tudi kalijev klorid E508. Smetani, ki smo jih uporabili v poskusih, sta bili smetani proizvajalca Ljubljanske mlekarne MU Cuisine sladka smetana s 35 % maščobe in smetana Biotehniškega centra Naklo z najmanj 35 % maščobe. Obe smetani naj ne bi vsebovali dodanih stabilizatorjev. Karagenan smo dodajali v treh različnih koncentracijah, in sicer 10, 25 in 75 mg/250 ml.

Postavili smo tri hipoteze: (I) da bodo različni hidrokoloidi značilno vplivali na izmerjene fizikalne lastnosti kot so čas stepanja, prevodnost, tekstura, stabilnost in viskoznost stepene smetane, (II), da bodo razlike v izmerjenih fizikalnih lastnostih posledica tako vrste dodanega karagenana/hidrokoloida kot tudi koncentracije ter (III) da se bo čas stepanja smetane z dodanim karagenanom podaljšal in overrun zmanjšal.

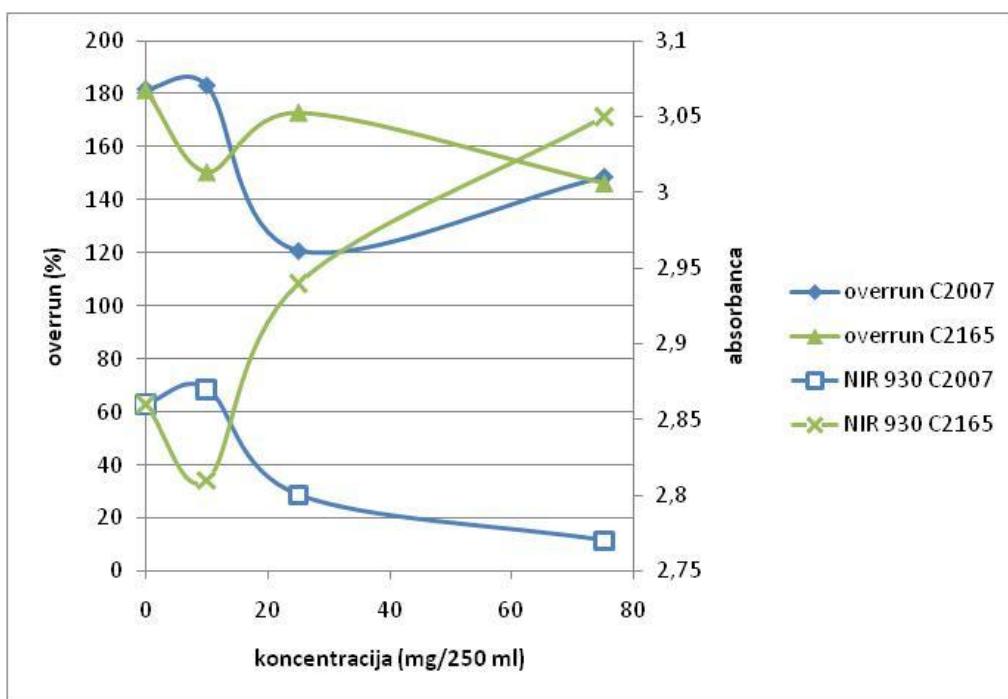
Razlike v izmerjenih parametrih smetane Ljubljanskih mlekarn so veliko bolj značilne, zato bomo v diskusiji predstavili predvsem le-te.

Specifična električna prevodnost sveže in stepene smetane Ljubljanskih mlekarn se je z dodatkom karagenana spremenila. Po pričakovanjih se je prevodnost sveže smetane z dodatkom karagenana zmanjšala. Z dodatkom pripravka karagenana se sicer poveča količina ionov v smetani, kar pa se, zaradi polimerne verige, ki ovira prosto gibanje prisotnih ionov in povečane viskoznosti, ne izrazi kot povečana prevodnost. Pri dodajanju Ceamlacta 2007 smo opazili, da se je prevodnost smetane najbolj zmanjšala pri koncentraciji 10 mg/250 ml in ne pri 75 mg/250 ml kot bi glede na dodatek polimerne snovi lahko pričakovali. Razlog za to je prisotnost soli, kalijevega klorida v pripravku. Zato se je z večanjem koncentracije Ceamlacta 2007 prevodnost povečevala, vendar ostala manjša od prevodnosti prvotne smetane. Pri smetani z dodanim Ceamlacta 2165 pa nismo opazili značilnih sprememb v prevodnosti med koncentracijami. Prevodnost smetane, je ne glede na dodano koncentracijo, ostala približno enaka. Specifična prevodnost stepene smetane pa se je z dodatkom obeh karagenanov povečala in bila največja pri koncentraciji 75 mg/250 ml. Sklepamo lahko, da se je količina ali velikost zračnih mehurčkov z dodatkom Ceamlacta 2007 in Ceamlacta 2165 v smetani zmanjšala.

Ta sklep so potrdili tudi naši izračuni povečanja prostornine (overrun). Overrun, merilo količine vtepenega zraka, se je z dodanim karagenanom zmanjšal pri večjih koncentracijah. Pri dodatu 25 mg/250 ml Cemlacta 2007 se je overrun, glede na kontrolno smetano,

zmanjšal za 34 %, pri dodatku 75 mg/250 pa za 18 %. Pri koncentraciji 10 mg/250 ml pa je overrun ostal enak. Pri dodatku Ceamlacta 2165 se je overrun zmanjšal za 5-20 %. Pri smetani BCN značilne spremembe v overrunu nismo opazili, vendar prav tako nismo opazili značilnih sprememb v prevodnosti stepene smetane ob dodatku karagenana. Vpliv karagenana oz. hidrokoloidov na overrun pa se od literature do literature razlikuje. Chiralt in sod. (2001) so ugotovili, da je mešanica  $\iota$ -karagenana in gumija iz zrn rožičevca v vseh koncentracijah (0,05-0,15 % w/w) zmanjšala overrun stepene smetane. Kováčová in sod. (2009) pa so ugotovili, da dodatek  $\kappa$ -karagenana ni značilno vplival na overrun smetane, vendar so dodali, da so rezultati nezanesljivi, zaradi odstopanja podatkov. Zhao in sod. (2009a) so v smetano dodajali HPMC (hidroksi propil metil celuloza) in ugotovili, da se je overrun v območju 0,025-0,125 % dodane HPMC rahlo povečal. Zhao in sod. (2009b) so raziskali vpliv ksantana na overrun smetane in ugotovili, da dodatek ni imel vpliva na overrun. Sklepamo lahko, da različni hidrokoloidi različno vplivajo na overrun smetane, prav tako se vpliv od smetane do smetane razlikuje. V našem primeru predvidevamo, da je zmanjšanje overruna smetane Ljubljanskih mlekarn (razen v primeru dodatka 10 mg/250 ml Ceamlacta 2007) posledica povečanja viskoznosti smetane. Ta je povzročila, da se je med stepanjem v smetano vteplo manj zraka. Povečana viskoznost smetane je povzročila tudi, da se je čas stepanja smetane Ljubljanskih mlekarn s povečanjem koncentracije dodanega karagenana podaljšal (2-95 %). Tega pri smetani BCN nismo opazili. Čas se ne glede na dodano koncentracijo karagenana ni značilno spremenil. Med merjenjem časa stepanja smetane z in brez dodanega karagenana so minili štirje dnevi, zato sklepamo, da je to posledica staranja sveže smetane. Verjetno je bil to tudi razlog, poleg visoke vsebnosti maščob v smetani, da se overrun ni značilno spremenil.

Čiste korelacije med overrunom in NIR absorbcijo pri smetani Ljubljanskih mlekarn nismo zaznali. Iz slike 17 je razvidno, da obstaja korelacija pri nižjih koncentracijah (od 20 do 25 mg/250 ml, odvisno od vrste karagenana), pri večjih koncentracijah pa se korelacija izgubi. Za karagenan Ceamlacta 2007 predpostavljam, da se absorbanca pri NIR pri višjih koncentracijah znižuje, zaradi prisotnosti kalijevih ionov. Ti povzročijo spremembo hidratacije karagenana. Pri smetani z dodanim karagenanom Ceamlacta 2165 pa predpostavljam, da se po določenem času stepanja začne velikost zračnih mehurčkov manjšati, posledično se absorbanca poveča.



Slika 17: Primerjava med overrunom in absorbcijo NIR smetane LM

Stabilnost smetane Ljubljanskih mlekarn se je z dodajanjem karagenana vidno izboljšala tako pri centrifugiraju prvi kot tudi drugi dan. Stabilnost je bila najboljša pri največji koncentraciji dodanega karagenana (75 mg/250 ml). Do enakih ugotovitev so prišli tudi Petersen in sod. (1988), ki so v smetano dodajali tri različne karagenane (kappa, iota in lambda) v koncentraciji 0,008 % in 0,0015 %. Raziskali so vpliv posameznega karagenana na stabilnost smetane po 1 in 2 urah (čas skladiščenja smetane dva tedna, temperatura skladiščenja 7 °C, temperatura smetane med meritvami 5 °C). Smetana je bila po prvi in drugi uri najbolj stabilna z dodatkom 0,015 % kappa karagenana, vendar je tudi dodatek iota in lambda karagenanov obeh koncentracijah izboljšal stabilnost.

V nadaljevanju smo želeli ugotoviti korelacijo med dielektrično konstanto in stabilnostjo smetane. Pričakovali smo, da se bo dielektrična konstanta z dodajanjem karagenana zmanjševala. Karagenan sodi med hidrokoloide, za katere je poznano, da vežejo vodo. Dielektrična konstanta živil je odvisna od vsebnosti proste, šibko vezane vode. Rezultati pa so pokazali, da se je dielektrična konstanta v resnici povečevala. Predpostavljamo, da se je to zgodilo zaradi nastanka čvrste mreže med spojinami značilnimi za smetano (proteini, sladkorji, lipidi) in karagenanom. Interakcije so lahko vseh vrst, ionske med karagenanom in nabitimi deli proteinov, vodikove vezi, polarne in hidrofobne interakcije. Zaradi zamreženja bi se lahko količina proste, nevezane vode povečala in s tem dielektrična konstanta. Do podobnih zaključkov sta prišla tudi Roebuck in Goldblith (1972), ki sta analizirala dielektrično konstanto škroba pred in po želiranju. Ugotovila sta, da je zaradi nastanka mreže pri želiranem škrobu dielektrična konstanta višja. Želiran škrob, za

katerega je značilna močnejša mreža, veže manj vode kot neželiran, posledično je dielektrična konstanta višja.

Zanimalo nas je tudi, ali bo dodatek karagenana vplival na barvo smetane. Rezultati instrumentalnih meritev so pokazali, da se je parameter  $L^*$  smetane Ljubljanskih mlekarn z dodatkom Ceamlacta 2165 (25 in 75 mg/250) povečal za 0,75-0,8 %. Dodatek Ceamlacta 2007 pa vpliva na parameter  $L^*$  ni imel. Parameter  $a^*$  se je pri dodatku obeh karagenanov povečal za 0,12-0,27 enot za Ceamlacta 2007 in 0,08-0,3 enote za Ceamlacta 2165. Vpliv karagenana je bil opazen tudi na parameter  $b^*$ . Vrednost parametra se je povečala za 0,45-0,73 enot za Ceamlacta 2007 pri koncentraciji 10 in 75 mg/250 ml in 0,63-0,68 enot za Ceamlacta 2165 pri koncentraciji 10 in 75 mg/250 ml. Ti rezultati nakazujejo, da lahko smetana pri dodatku karagenana postane svetlejša in bolj rumenkasta. Spremembe barve smo določili le z instrumentom, naoko so bile spremembe barve neopazne. Pri smetani BCN rezultati meritev barve zelo nihajo, ker je bila vsebnost maščobe v tej smetani pri različnih saržah različna, kar vpliva na barvo smetane. To je razlog, da rezultati niso tako kot pri LM.

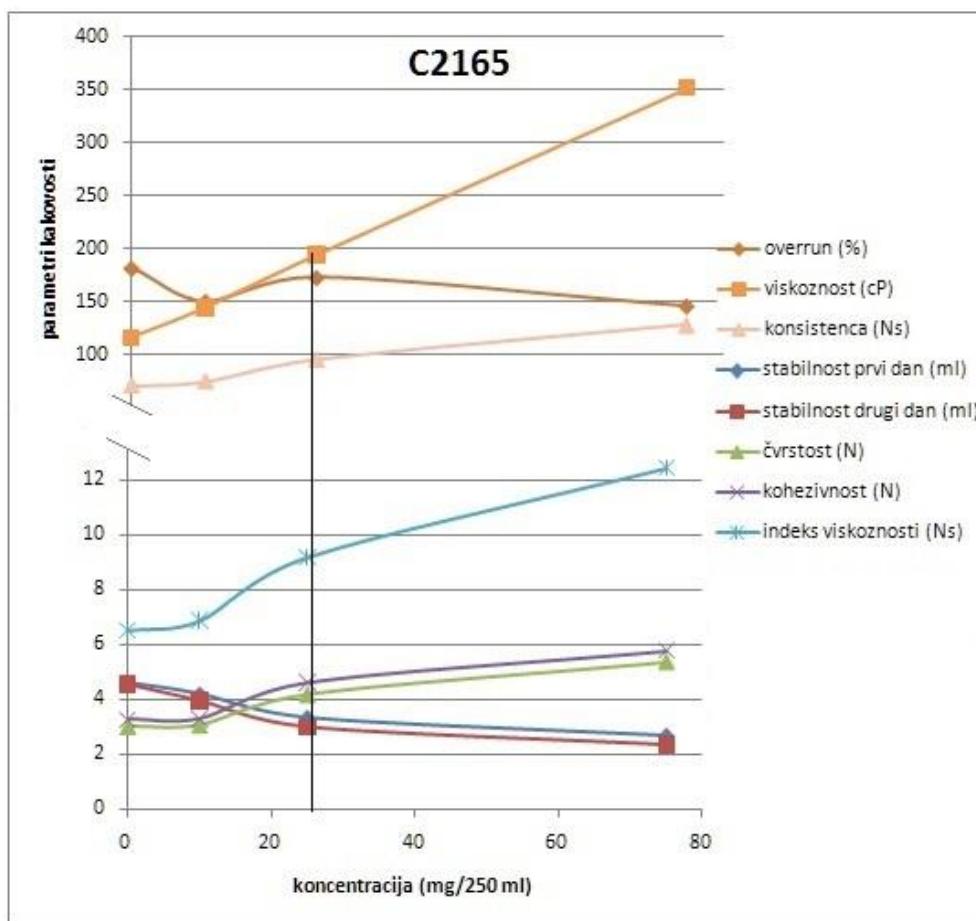
Značilnost tekture smetane je pomemben parameter njene kakovosti. Parametri, ki vplivajo na teksturo smetane so čvrstost, konsistenco, kohezivnost in indeks viskoznosti. Zhao in sod. (2009a) so ugotovili, da se je čvrstost, konsistenco, kohezivnost in viskoznost smetane pri dodatku 0,075-0,125 % HPMC (hidroksi propil metil celuloza) izboljšala. Raziskali so tudi vpliv ksantana na omenjene parametre in prišli do podobnih zaključkov (Zhao in sod, 2009b). Pozitivno korelacijo so našli med koncentracijo ksantana in čvrstostjo, kohezivnostjo ter viskoznostjo. Pri vplivu na konsistenco pa so ugotovili, da so prevelike koncentracije ksantana (0,125 %) povzročile zmanjšanje konsistence. Ta pojav nakazuje na to, da obstaja optimalna koncentracija ksantana za dosego povečane konsistence. Razlog, da se je konsistenco pri povečani koncentraciji ksantana zmanjšala, še ni znan.

V nalogi smo ugotovili, da se je vpliv karagenana na teksturne parametre razlikoval glede na vrsto karagenana. Dodatek Ceamlacta 2007 je povzročil, da se je čvrstost smetane zmanjšala za 3-6 %, dodatek Ceamlacta 2165 pa je čvrstost smetane povečal (2-79 %). Zaradi nasprotnega vpliva ugibamo, da pri čvrstosti smetane voda ne igra ključne vloge. Karagenan lahko interagira s komponentami v smetani na tak način, da se ustvari močnejša mreža, v katere se lahko zrak, ki je nepolaren, bolj čvrsto ujame. Verjetna razloga je tudi, da se lahko pri interakcijah karagenana s polarnimi komponentami smetane sprostijo lipidi na takšen način, da so lipidi v smetani s karagananom bolj prosti za tvorbo nepolarnih medmolekulskih vezi s plinastim dušikom in kisikom. Tako lahko čvrstost smetane razlagamo s sposobnostjo tvorbe nepolarnih vezi.

Enak učinek kot na čvrstost sta imela karagenana na konsistenco, kohezivnost in indeks viskoznosti. Konsistenco se je pri dodatku Ceamlacta 2007 zmanjšala za 6-30,5 %, pri dodatku Ceamlacta 2165 pa povečala za 7-83 %. Dodatek Ceamlacta 2007 je povzročil, da se je kohezivnost zmanjšala za 7-9 %, za 41-76 % pa se je povečala pri dodatku Ceamlacta 2165. Indeks viskoznosti se je zmanjšal za 4-35 % pri dodatku Ceamlacta 2007 in se povečal za 41-91 % pri dodatku C2165. Iz rezultatov lahko sklepamo, da je smetana z dodanim Ceamlacta 2165 bolj kompaktna in ohranja svojo obliko.

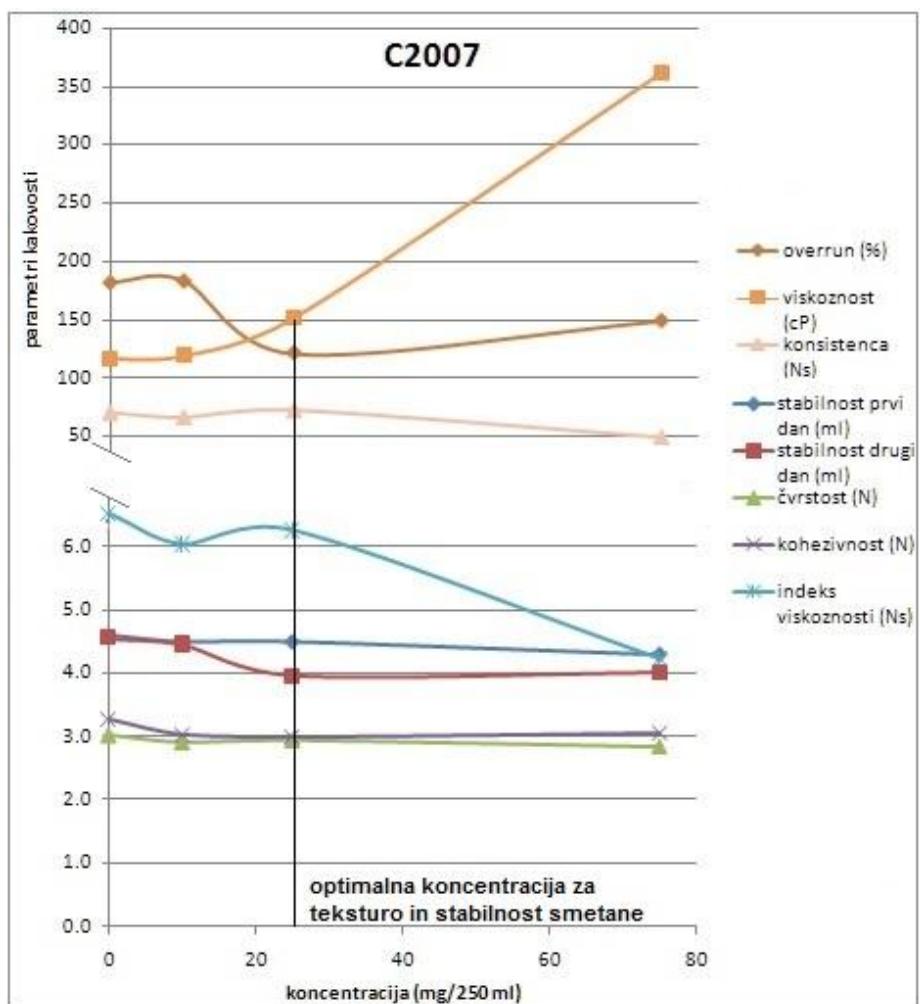
Prav tako je bil drugačen učinek obeh karagenanov na tekture lastnosti smetane BCN. Dodatek Ceamlacta 2007, ne glede na koncentracijo, ni vplival na čvrstost in konsistenco smetane. Majhen vpliv je bil opazen pri kohezivnosti in indeksu viskoznosti, kjer je dodatek povzročil povečanje kohezivnosti za 40 % pri najmanjši koncentraciji (10 mg/250 ml), s povečanjem koncentracije pa se je vpliv zmanjšal ali pa ga sploh ni bilo (75 mg/250 ml). Indeks viskoznosti se je tudi pri najmanjši koncentraciji dodanega karagenana najbolj povečal (114 %), z znižanjem koncentracije pa se je vpliv zmanjšal. Nekoliko podobne rezultate kot pri smetani Ljubljanskih mlekarn pa smo opazili pri Ceamlacta 2165. Čvrstost se je pri najmanjši in največji koncentraciji (10 in 75 mg/250 ml) povečala za 34-74,5 %, pri srednji (25 mg/250 ml) pa se je čvrstost zmanjšala in bila za 19,5 % manjša od smetane brez dodanega karagenana. Enako se je zgodilo s konsistenco. Pri najmanjši in največji koncentraciji se je povečala za 33,5-70 %, pri srednji pa zmanjšala za 6,5 %. Kohezivnost se pri srednji koncentraciji ni zmanjšala, le vpliva ni bilo več zaznati. Pri koncentracijah 10 in 75 mg/250 ml pa se je povečala za 54-84 %. Indeks viskoznosti se je povečal pri vseh treh koncentracijah, največje povečanje je bilo zaznati pri najmanjši koncentraciji (10 mg/250 ml), za 116 %.

Da bi določili optimalno koncentracijo karagenana, smo med sabo primerjali najpomembnejše parametre, ki določajo kakovost smetane. V ta namen smo narisali grafa (sliki 18 in 19), ki prikazujeta trend krivulj stabilnosti 1. in 2. dan, overrun, viskoznost sveže smetane, čvrstost, konsistenco, kohezivnost in indeks viskoznosti stepene smetane Literatura navaja (Birkett, 1983), da maksimalni overrun sovpada z maksimalno stabilnostjo (najnižje izloženi volumen tekočine) in togostjo pene, kar naše meritve v primeru karagenana Ceamlacta 2165 tudi potrjujejo. Do prvega vrha overruna (slika 18), se teksturni parametri hitro povečujejo, potem pa ta trend upade. Enako se zgodi tudi s stabilnostjo (količino izločene tekočine). Viskoznost s koncentracijo linearno narašča, vendar nima vidnega vpliva na druge parametre. Na osnovi grafa (slika 18) lahko zaključimo, da je optimalna koncentracija dodatka Ceamlacta 2165 pri 25 mg/250 ml.



Slika 18: Trend krivulj kakovostnih parametrov stepene smetane z dodatkom Ceamlacta 2165

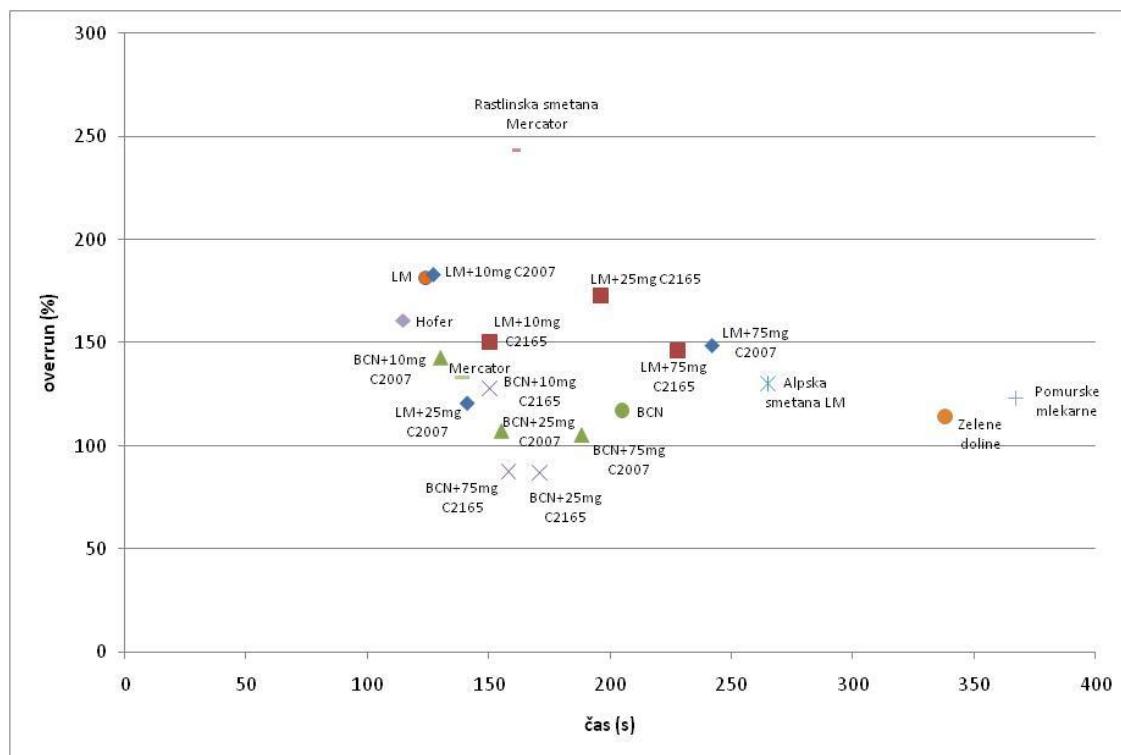
Karagenan Ceamlacta 2007 ima dodatek KCl, ki ga Ceamlacta 2165 nima. Rezultati na sliki 19 kažejo drugačno obnašanje Ceamlacta 2007. Viskoznost narašča eksponencialno. Funkcije drugih krivulj so podobne, le da se optimalna stabilnost ujema s točko, kjer je overrun najnižji. Zato ta karagenan ni primeren kot dodatek smetani. Predvidevamo, da je to posledica dodanega KCl.



Slika 19: Trend krivulj kakovostnih parametrov stepene smetane z dodatkom Ceamlacta 2007

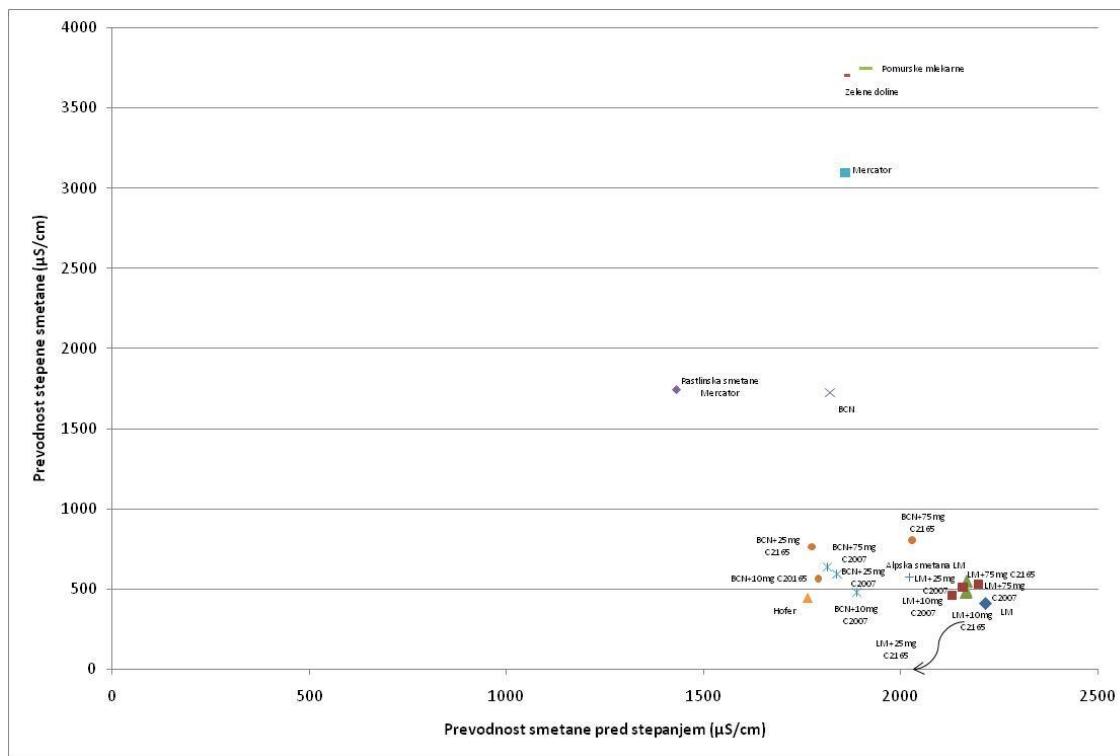
Z analizo trgovskih smetan smo žeeli primerjati ali je vpliv stabilizatorjev in vsebnosti mlečne maščobe podoben našim rezultatom. Na sliki 20 je prikazan čas, ki je bil potreben, da se je smetana stepla in overrun smetane različnih trgovskih znamk. Zraven so prikazani tudi rezultati smetan, na katerih smo izvajali poskuse. Iz slike 20 najbolj izstopa overrun rastlinske smetane Mercator, ki je veliko večji od ostalih smetan. Rastlinska smetana Mercator je izdelana na osnovi palmine masti in ima dodane stabilizatorje E 420 (sorbitol), E 466 (karboksimetyl celuloza) ter emulgatorje E 472 (laktatni estri mono- in digliceridov maščobnih kislin), E 472e (tartratni mono- in diacetilestri mono- in digliceridov maščobnih kislin in E 322 (lecitin). Predvidevamo, da je velik overrun posledica dodanih emulgatorjev za katere je znano, da povečajo omenjeno lastnost. Alpska smetana Ljubljanskih mlekarn in smetana Pomurskih mlekarn vsebuje 33 % mlečne maščobe in dodan stabilizator E 407 (karagenan). Iz slike 20 je razvidno, da sta overruna primerljiva, ne pa tudi čas stepanja. Enako velja za smetano Zelenih dolin Mlekarne Celeie, čeprav vsebuje nekaj več maščobe (35 %). Za sladko smetano Mercator pa ni navedeno, da bi vsebovala kakršne koli aditive, vendar je iz slike 20 razvidno, da se na grafu nahaja v središču skupine smetan, ki

imajo dodan karagenan (BCN +10 mg C2007, BCN + 10 mg C2165, LM +10 mg C2165 in LM +25 mg C2007). Možno je, da ima tudi sladka smetana Mercator dodan karagenan. Smetana Hofer Milfina ima 30 % mlečne maščobe in dodan stabilizator karagenan. Na podlagi overruna in časa stepanja, je primerljiva s smetano LM z dodanimi 10 mg C2165 in smetano BCN z dodanim 10 mg C2007.



Slika 20: Overrun trgovskih smetan in smetan, ki smo jih uporabili v poskusih v odvisnosti od časa stepanja

Na Sliki 21 primerjamo prevodnosti sveže in stepene smetane trgovskih znamk s smetanami, ki smo jih uporabili v poskusih, in vidimo, da so prevodnosti primerljive. Kjer prevodnosti stepene smetane izstopajo oz. so večje od prevodnosti nestepene smetane (BCN, Zelene doline, Pomurske mlekarne, rastlinska smetana Mercator, Mercator), gre verjetno za napako pri meritvi.



Slika 21: Prevodnosti stepenih smetan trgovskih znamk in smetan, ki smo jih uporabili v poskusih v odvisnosti od prevodnosti smetan pred stepanjem

Karagenan je dodatna sestavina v smetani, zato smo želeli ugotoviti ali se iz ekonomskega vidika dodajanje karagenana izplača. Dodajanje karagenana vpliva na stroške smetane na tri načine:

- Zmanjša se overrun smetane (manj smetane za isti strošek)
- Poveča se čas stepanja in s tem količina potrebne električne energije
- Cena karagenana

Iz spletnih virov smo ugotovili, da je cena karagenana namenjen za uporabo v živilih približno 7 \$/kg. Če industrija dodaja karagenan v koncentraciji 125 mg/l smetane, je strošek, ki predstavlja dodajanje karagenana v industriji zanemarljivo majhen (0,000875 \$/l smetane) in ne bi smel vplivati na ceno smetane.

V Sloveniji je letna poizvodnja smetane 12 100 t, strošek dodanega karagenana, če ga v industriji dodajo v koncentraciji 0,3 % (kar je 30-krat večja koncentracija od optimalne koncentracije, ki smo jo določili z analizo), znaša 317.625 \$ ali 288.244 €.

Ravno tako je v gospodinjstvu, s stališča potrošnika, strošek povečane porabe energije popolnoma zanemarljiv. Za izračun smo upoštevali primer dodatka Ceamlacta 2165 v smetano Ljubljanskih mlekarn, kjer se je pri koncentraciji dodatka 25 mg/250 ml čas stepanja podaljšal za 72 sekund ali 58 %. Predpostavili smo, da je moč mešalnika 500 W in

iz spletnega vira elektro energija ugotovili ceno energije za kWh. Povečana količina potrebne energije predstavlja samo šest stotink centa (0,0006 €). Če stepemo 30 % vse proizvedene smetane na letni ravni pa ta strošek znaša 5880,6 €.

Zaključimo lahko, da se zaradi izboljšanja stabilnosti in tekture dodajanje karagenana izplača, saj so stroški tako za industrijo in potrošnika zanemarljivo majhni.

## 6 SKLEPI

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko oblikujemo naslednje sklepe:

- Oba karagenana Ceamlacta 2007 in Ceamlacta 2165 značilno vplivata na izmerjene fizikalne lastnosti kot so tekstura, stabilnost, barva in viskoznost smetane proizvajalca Ljubljanske mlekarne. Izmed naštetih lastnosti ima dodatek karagenana največji vpliv na viskoznost sveže smetane instabilnost ter teksturo stepene smetane. Manjši vpliv ima na barvo. Vpliv na omenjene fizikalne lastnosti je večji s karagenanom Ceamlacta 2165. Pri smetani proizvajalca BCN je značilen vpliv karagenana na fizikalne lastnosti manjši ali ga ni. Na stabilnost smetane karagenana ne vplivata. Vpliv je opazen pri teksturi in barvi, kjer ima ponovno karagenan Ceamlacta 2165 večji vpliv kot Ceamlacta 2007.
- S povečanjem koncentracije karagenana se linearно spreminjajo fizikalne lastnosti kot so viskoznost in stabilnost smetane Ljubljanskih mlekarn.
- Tudi instrumentalni parametri barve se s koncentracijo karagenana spreminjajo (izjema je  $L^*$  pri dodatku Ceamlacta 2007), vendar nelinearno. Teksturni parametri kot so čvrstost, konsistenza, kohezivnost in indeks viskoznosti se v večini primerov s povečanjem koncentracije karagenana linearno spreminjajo (izjema je kohezivnost pri Ceamlacta 2007, kjer se z dodatkom karagenana spremeni, vendar značilnih razlik med koncentracijami ni). Vpliv na tekstuру se odvisno od dodanega karagenana razlikuje. Pri smetani proizvajalca BCN se teksturni in barvni parametri ravno tako s koncentracijo spreminjajo (izjema sta čvrstost in konsistenza pri dodatku Ceamlacta 2007, kjer značilnega vpliva ni) in je prisotno nihanje.
- Čas stepanja smetane Ljubljanskih mlekarn se z dodanim karagenanom značilno podaljša in overrun zmanjša. Pri smetani BCN dodatek karagenana na čas stepanja in overrun nima značilnega vpliva.
- Lastnosti kot sta overrun in prevodnost sta med smetanami trgovskih znamk in smetanami na katerih smo izvajali poskuse primerljivi, kadar imajo podobno vsebnost mlečne mašcobe in prisotnost stabilizatorja.

## 7 POVZETEK

Namen magistrske naloge je bil ugotoviti, kako različna karagenana vplivata na fizikalne parametre kot so stabilnost, viskoznost, tekstura in barva ter katera koncentracija je najprimernejša za izboljšanje kakovostnih parametrov stepene smetane. V ta namen smo v svežo smetano dodajali različna karagenana proizvajalca CEAMSA, Ceamlacta 2007 in Ceamlacta 2165, ki se med seboj razlikujeta v dodatku KCl. Karagenana smo v smetano dodajali v koncentracijah po 10, 25 in 75 mg/250 ml. Poleg naštetih parametrov nas je zanimal tudi vpliv na čas stepanja in overrun stepene smetane. Da smo ugotovili kako karagenan vpliva na tvorbo mreže v smetani, smo analizirali dielektrične konstante in izgube, NIR absorbance in prevodnosti stepenih smetan.

Na osnovi dobljenih rezultatov smo ugotovili, da imata oba karagenana značilen vpliv na fizikalne značilnosti stepene smetane Ljubljanskih mlekarn. Vpliv je bil najbolj očiten pri teksturnih lastnostih, stabilnosti in viskoznosti. Manjši vpliv je bil viden pri barvi. S povečanjem koncentracije karagenana so se linearno spreminali tudi fizikalne lastnosti kot so viskoznost, tekstura in stabilnost. Pri instrumentalnem merjenju barve pa smo opazili nihanja. Karagenana sta se med seboj značilno razlikovala, razlika v vplivu je bila posebej očitna pri merjenju tekture. Dodatno se je čas stepanja z dodanim karagenanom značilno podaljšal in overrun zmanjšal. Z meritvami NIR absorbance smo ugotovili, da se je vsebnost in velikost zračnih mehurčkov v smetani z dodanim karagenanom zmanjšala. Z merjenjem dielektričnih konstant pa smo prišli do zaključkov, da se karagenan poleg vode veže tudi na druge polarne molekule v smetani kot so sladkorji in proteini.

Pri smetani BCN je bil vpliv karagenana manjši ali ga sploh ni bilo. Predvsem je to razvidno pri stabilnosti, času stepanja in overrunu, kjer dodatek karagenana ni imel značilnega vpliva. Ker je bilo pri rezultatih meritev večkrat prisotno nihanje, smo težko prišli do zaključkov. Sklepamo, da je nihanje v rezultatih posledica različne vsebnosti maščobe v smetani (<35 %).

S primerjavo trgovskih smetan s smetanami na katerih smo izvajali poskuse smo ugotovili, da je vpliv stabilizatorja in vsebnosti mlečne maščobe na overrun in prevodnost sveže ter stepene smetane podoben. Izstopala je le rastlinska smetana Mercator pri kateri je bil overrun veliko večji od ostalih smetan. Razlog za to so dodani emulgatorji, ki jih ostale smetane niso vsebovale.

## 8 VIRI

- Allen K. E., Murray B. S., Dickinson E. 2008. Development of a model whipped cream: effects of emulsion droplet liquid/solid character and added hydrocolloid. *Food Hydrocolloids*, 22: 690-699
- Arltoft D., Ipsen R., Madsen F., de Vries J. 2007. Interactions between carrageenans and milk proteins: a microstructural and rheological study. *Biomacromolecules*, 8, 2: 729-736
- Bardajee G.R., Hooshyar Z., Pourhasan Y. 2011. The effect of multidentate biopolymer based on polyacrylamide grafted onto kappa carrageenan on the spectrofluorometric properties of water soluble Cds quantum dots. *International Journal of Spectroscopy*, ID 954252, doi: 10.1155./2011/954252: 6 str.
- Bazmi A., Relkin P. 2009. Effects of processing conditions on structural and functional parameters of whipped dairy emulsions containing various fatty acid compositions. *Journal of Dairy Science*, 92, 8: 3566-3574
- Belitz H.D., Grosch W., Schieberle P. 1999. Food chemistry. 2<sup>nd</sup> ed. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag: 1071 str.
- Birkett R. J. 1983. Role of interfacial processes in the whipping of dairy cream. V: Proceedings of Sixth International Congress of Food Science and Technology, Dublin, 18. - 23. September, 1983. Loughlin J. V., McKenna B.M. (eds.). Dublin, Boole Press: 149-150
- Björn A., Segura de La Monja P., Karlsson A., Ejlertsson J., Svensson B.H. 2012. Rheological characterization. V: Biogas. Kumar S. (ed.). Rijeka, Intech: 63-76.
- Blakemore W.R., Harpell A. R. 2010. Food stabilisers, thickeners and gelling agents. V: Carrageenan. Imeson A. (ed.). Oxford, Blackwell Publishing: 73-88
- Bourtoom T. 2008. Review article, edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15, 3: 237-248
- Bruhn C.M., Bruhn J.C. 1988. Our industry today: observations on the whipping characteristics of cream. *Journal of Dairy Science*, 71: 857-862
- Burges Watson D. 2007. Public health and carrageenan regulation: a review and analysis. *Journal of Applied Phycology*, 20, 5: 55-63
- Cargill. 2016. Carrageenan regulatory status. Minnetonka, Cargill: 1 str. <http://www.cargillfoods.com/ap/en/products/hydrocolloids/carrageenan/regulatory-status/index.jsp> (januar, 2016)
- Carrier V., Colin A. 2003. Coalescence in draining foams. *Langmuir* 19, 11: 4535-4538
- Carvalho I., Campo V. L., Kawano D. F., Braz da Silva Jr. D. 2009. Carrageenans: biological properties, chemical modifications and structural analysis. *Carbohydrate Polymers*, 77, 2: 167-180
- Chiralt A., Camacho M., Navarrete M. 2001. Stability of whipped dairy creams containing locust bean gum/λ-carrageenan mixtures during freezing-thawing processes. *Food Research International* 34: 887-894

- Cohen S. M., Ito N. 2002. A critical review of the toxicological effects of carrageenan and processed eucheuma seaweed on the gastrointestinal tract. *Critical Reviews in Toxicology*, 32, 5: 413-444
- CpKelco. 2001. GENU Carrageenan book. Lille Skensved, CpKelco: 28 str.  
[http://www.bisi.cz/cmsres.axd/get/cms\\$7CVwRhc3USVqgzxkKF96gI\\$2BChNrXcTq\\$2BOUdiEtz5TfYA\\$2Fg1ADRHMfXfdEjUsYQagqUs9N6byPOkok\\$3D](http://www.bisi.cz/cmsres.axd/get/cms$7CVwRhc3USVqgzxkKF96gI$2BChNrXcTq$2BOUdiEtz5TfYA$2Fg1ADRHMfXfdEjUsYQagqUs9N6byPOkok$3D) (januar, 2016)
- Deosarkar S., Khedkar C., Kalyankar S., Sarode A. 2016. Cream: types of cream. V: Encyclopedia of food and health. Vol. 2. 1<sup>st</sup> ed. Caballero B., Finglas P., Toldra F. (eds.). Oxford, Elsevier: 331-337
- Dhall R. K. 2013. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 5: 435-450
- Dutta A., Chengara A., Nikolov A. D., Wasan D. T., Chen K., Campbell B. 2004. Destabilization of aerated food products: effects of Ostwald ripening and gas diffusion. *Journal of Food Engineering* 62, 2: 113-202
- Everett D. W. 2007. Cream products. V: Handbook of food products manufacturing. Hui Y. H. (ed.). Queensland, John Wiley & Sons: 726-747
- FAO. 2016. Carrageenan. Rome, Food and Agriculture Organization: 16 str.  
<http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e0a.htm> (januar, 2016)
- Fischer G. 2009. Carrageenan effect on the water retention and texture in processes turkey breast. Master thesis. New Brunswick, The State University of New Jersey, Department of Food Science: 76 str.
- Goff D. 2001. Emulsion, partial coalescence and structure formation in dairy systems. V: Crystallization and solidification properties of lipids. Widlak N., Hartel W.R., Narine S.S. (eds). Champaign, AOCS Press: 200-214
- Goff D. 2016a. Milk fat structure. Guelph, Guelph University: 8 str.  
<https://www.uoguelph.ca/foodscience/node/86/> (januar, 2016)
- Goff D. 2016b. Whipped cream structure. Guelph, Guelph University: 8 str.  
<https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/whipped-cream-structure> (januar, 2016)
- Gravier E., Drelon N., Boisserie L., Omari A., Leal-Calderon F. 2006. Consolidation of foams deriving from emulsions by temperature cycling (“tempering”). *Colloids and Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 282: 360-368
- Haijin M., Xiaolu J., Huashi G. 2003. A carrageenan derived oligosaccharide prepared by enzymatic degradation containing anti-tumor activity. *Journal of Applied Phycology*, 15: 297-303
- Heuser J. A., Taulbee A. R., Spendel W. U., Hughes M. R., Pacey G. E. 2008. Foam drainage investigation using terahertz spectroscopy. *American Laboratory*, 40, 1: 20-21
- Hoefler A. C. 2004. Hydrocolloids: practical guides for the food industry. St. Paul, Eagan Press: 111 str.
- Hoffman W. 2011. Cream products. V: Encyclopedia of dairy sciences. Fuquai J. W., Fox P.F., McSweeney P. (eds.). London, Academic Press: 920-925

- Hotrum N. E., Stuart M. A., van Vliet T., Alvino S., van Aken G.A. 2005. Elucidating the relationship between the spreading coefficient, surface-mediated partial coalescence and the whipping time of artificial cream. *Colloids and Surfaces. A, Physicochemical Engineering Aspects*, 260, 1-3: 71-78
- Ihara K., Habara K., Ozaki Y., Nakamura K., Ochi H., Saito H., Asoaka H., Uozumi M., Ichihashi N. 2010. Influence of whipping temperature on the whipping properties and rheological characteristics of whipped cream. *Journal od Dairy Science*, 93, 7: 2887-2895
- Izydorczyk M., Cui S. W., Wang Q. 2005. Polysaccharide gums: structures, functional properties, and applications. V: *Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*. Cui S. W (ed.). Boca Raton, CRC Press: 263-306
- Jakubczyk E., Niranjan K. 2006. Transient development of whipped cream properties. *Journal of Food Engineering*, 77,1: 79-83
- Janaswamy S., Chandrasekaran R. 2001. Three-dimensional structure of the sodium salt of iota-carrageenan. *Carbohydrate Research*, 335: 181–194
- Khandal R.K., Kapoor M., Khandal D., Seshadri G., Aggarwal G. 2013. Novel hydrocolloids: preparation and applications. *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences* 16, 3: 432-482
- Kováčová R., Štetina J., Čurda L. 2010. Influence of processing and  $\kappa$ -carrageenan on properties of whipping cream. *Journal of Food Engineering*, 99, 4: 471-478
- Lacroix M., Tien C.L. 2008. Edible films and coating from non-starch polysaccharides. V: *Innovations in food packaging*. Han J. H (ed.). San Diego, Elsevier Academic Press: 338-361
- Li J., Nie S. 2016. The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. *Food Hydrocolloids*, 53: 46-61
- Long Z., Zhao M., Zhao Q., Yang B., Liu L. 2012. Effect of homogenisation and storage time on surface and rheology properties of whipping cream. *Food Chemistry*, 131: 748-753
- Mathlouthi M., Reiser P. 1995. Sucrose: properties and applications. 1<sup>st</sup> ed. Berlin, Springer Science & Business Media: 294 str.
- McHugh D. J. 2003. A guide to the seaweed industry. Rome, Food and Agricultural Organization: 118 str.  
<http://www.fao.org/3/a-y4765e.pdf> (januar, 2016)
- Menon V. V. 2011. Seaweed polysaccharides-food applications. V: *Handbook of marine macroalgae: biotechnology and applied phycology*. Kim S. (ed.). Chichester, John Wiley & Sons: 541-552
- Milani J., Maleki G. 2012. Hydrocolloids in food Industry, food industrial processes – methods and equipment. V: *Hydrocolloids in the food industry*. Benjamin Valdez (ed.). Rijeka, InTech: 17-38

- Mohos F. 2010. Confectionery and chocolate engineering: principles and applications. 1<sup>st</sup> ed. West Sussex, Wiley-Blackwell: 668 str.
- Moraes K.S., Fagundes C., Melo M. C., Andreani P., Monteiro A. R. 2012. Conservation of *Williams* pear using edible coating with alginate and carrageenan. Ciêncie e Tecnologia de Alimentos, 32, 4: 679-684
- Necas J., Bartosikova L. 2013. Carrageenan: a review. Veterinarski medicina, 58, 4: 187-205
- NIJZ. 2016 Pojasnilo glede varnosti aditiva za živila karagenan E 407. Ljubljana, Nacionalni inštitut za javno zdravje: 1 str. [http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/datoteke/pojasnilo\\_glede\\_varnosti\\_aditiva\\_za\\_zivila\\_karagenan\\_e\\_407.pdf](http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/datoteke/pojasnilo_glede_varnosti_aditiva_za_zivila_karagenan_e_407.pdf) (januar, 2016)
- O'Callaghan D. J., Guinee T. P. 2004. Rheology and texture of cheese. V: Cheese: chemistry, physics and microbiology: general aspects. Fox P.F., McSweeney P., Cogan T., Guinee T. (eds.). London, Elsevier: 511-541
- Pangestuti R., Kim S. 2014. Biological activities of carrageenan. Advances in Food and Nutrition Research, 72: 113-124
- Patel A. 2014. Hydrocolloids: student's handbook. Ghent University, Ghent: 87 str.
- Petersen J., Peters K.H., Precht D. 1988. Improvement of storage stability and foaming properties of cream by addition of carrageenan and milk constituents. Food Hydrocolloids, 2, 6: 491-506
- Piazza L., Gigli J., Rojas C., Ballabio D., Todeschini R., Tripaldi P. 2009. Dairy cream response in instrumental texture evaluation processed by multivariate analysis. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 96, 2: 258-263
- Phillips G. O., Williams P. A. 2009. Handbook of hydrocolloids. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge, Woodhead Publishing Limited: 1003 str.
- Prajapati V. D., Maheriya P. M., Jani G. K., Solanki H. K. 2014. Carrageenan: a natural seaweed polysaccharide and its applications. Carbohydrate Polymers, 105: 97-112
- Pravilnik o aditivih za živila. 2010. Uradni list Republike Slovenije, 20, 100: 15516-15612
- Pravilnik o kakovosti mleka, mlečnih izdelkov, siril in čistih cepiv. 1993. Uradni list Republike Slovenije, 3, 21: 1069-1085
- Puvanenthiran A., Goddard S. J., Augustin M. A. 2003. Milk-based gels made with κ-Carrageenan. Journal of Food Science, 68, 1: 137-141
- Roebuck B., Goldblith S. 1972. Dielectric properties of carbohydrate–water mixtures at microwave frequencies. Journal of Food Science 37: 199–204
- Saha D., Bhattacharya S. 2010. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. Journal of Food Science and Technology, 47, 6: 587-597
- SAS Software. Version 8.01. 1999. Cary, SAS Institute Inc.: software
- Shit S. C., Shah P. M. 2014. Review article, edible polymers: Challenges and opportunities. Journal of Polymers, ID 427259, doi: 10.1155/2014/427259: 13 str.

- Skurtys O., Acevedo C., Pedreschi F., Enrione J., Osorio F., Aguilera J.M. 2010. Food hydrocolloid edible films and coatings. Santiago, Nova Science Publishers: 66 str.
- Smiddy M. A., Kelly A. L., Huppertz T. 2009. Cream and cream related products. V: Dairy fats and related products. Tamime A. Y. (ed.). 1<sup>st</sup> ed. West Sussex, Blackwell Publishing: 61-82
- Smith A.K., Kakuda Y., Goff H. D. 2000a. Changes in protein and fat structure in whipped cream caused by heat treatment and addition of stabilizer to the cream. *Food Research International*, 33: 697-706
- Smith A.K., Kakuda Y., Goff H. D. 2000b. Microstructure and rheological properties of whipped cream as affected by heat treatment and addition of stabilizer. *International Dairy Journal*, 10: 295-301
- Souza M. C., Marques C. T., Guerra Dore C. M., Silva F. R., Rocha H. A., Leite E. 2007. Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 19, 2: 153–160
- Stele A. 2014. Mleko in mlečni izdelki, Slovenija, Metodološko pojasnilo. Ljubljana, Statistični urad Republike Slovenije: 7 str. <http://www.stat.si/StatWeb/Common/PrikaziDokument.ashx?IdDatoteke=8227> (januar, 2016)
- Teskač K., Gašperlin M. 2009. Emulzije stabilizirane s trdnimi delci – Pickering emulzije. *Farmacevtski vestnik*, 60,1: 14-20
- The Dairy Council. 2016. The nutritional composition of dairy products. London, The Dairy Council: 49 str.  
file:///C:/Users/Bora/Downloads/Composition\_of\_Dairy.pdf (september, 2016)
- van Aken G.A. 2001. Aeration of emulsions by whipping. *Colloids and Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 190: 333-354
- van Lent K., Thu Le C., Vanlerberghe B., Van der Meeren P. 2008. Effect of formulationon the emulsion and whipping properties of recombined dairy cream. *International Dairy Journal*, 18: 1003-1010
- Vermeir L. 2011. Formulation and characterization aspects of low fat whipping cream by water/oil/water technology. Master Thesis. Gent, Faculty of Bioscience Engineering, Department of Applied Physical Chemistry: 180 str.
- Wijnen M. E. 1997. Instant foam physics. Formation and stability of aerosol whipped cream. Doctoral dissertation. Wageningen, Wageningen Agricultural University, Department of Integrated Food Science and Food Physics: 157 str.
- Wüstenberg T. 2015. Cellulose and cellulose derivatives in the food industry: fundamentals and applications. 1<sup>st</sup> ed. Weinheim, Wiley-VCH: 317 str.
- Yuguchi Y., Thuy T., Urakawa H., Kajiwara K. 2002. Structural characteristics of carrageenan gels: temperature and concentration dependence. *Food Hydrocolloids*, 16: 515-522

Zhao Q., Zhao M., Li J., Yueming J. 2009a. Effect of hydroxypropyl methylcellulose on the textural and whipping properties of whipped cream. *Food Hydrocolloids*, 23, 8: 2168-2173

Zhao Q., Zhao M., Yang B., Cui C. 2009b. Effect of xanthan gum on the physical properties and textural characteristics of whipped cream. *Food Chemistry*, 116: 624-628

## ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju doc. dr. Tomažu Polaku za vso strokovno pomoč, nasvete in usmerjanje pri nastajanju magistrskega dela. Ravno tako se zahvaljujem za hiter pregled naloge.

Zahvaljujem se tudi somentorici doc. dr. Nataši Šegatin za strokovno pomoč pri izvedbi laboratorijskega dela na Katedri za biokemijo in kemijo živil in za temeljit ter kritičen pregled naloge.

Za hiter in kritičen pregled naloge se zahvaljujem tudi recenzentu izr. prof. dr. Blažu Cigiću.

Zahvaljujem se tudi strokovni sodelavki Mirjani Jeremić za pomoč pri izvedbi laboratorijskega dela na Katedri za biokemijo in kemijo živil.

Barbari Slemenik se zahvaljujem za pregled referenc in končni pregled naloge.

Iskreno se zahvaljujem tudi družini in vsem mojim najbližnjim, ki so me ves čas podpirali in spodbujali pri pisanju naloge.

Posebej pa bi se zahvalila daddy-ju, ki mi že od vsega začetka stoji ob strani in verjame vame. Hvala za vso pomoč, bodrilne besede in da si mi omogočil brezskrben ter nepozaben študij.