



**УНИВЕРЗИТЕТ “СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ”-БИТОЛА  
ТЕХНОЛОШКО-ТЕХНИЧКИ ФАКУЛТЕТ ВЕЛЕС**



Назив на студиската програма

**Иновативни технологии за храна и нутриционизам**

**СПЕКТРОФОТОМЕТРИСКИ МЕТОДИ ЗА АНАЛИЗА НА БЕТАЛАИНИ И  
ВКУПНИ ФЕНОЛИ КАЈ АЛБУМИНСКО СИРЕЊЕ ЗБОГАТЕНО СО  
ОРГАНСКО ЦВЕКЛО ВО ПРАВ**

докторски проект

**Кандидат**

Тања Стојановска

Број на индекс 15

**Ментор**

Проф. д-р. Татјана Калевска

## СОДРЖИНА

Апстракт .....	3
1. Вовед.....	4
2. Преглед на литература.....	5
3. Материјали и методи .....	6
3.1. Материјали .....	6
3.2. Методи.....	7
3.2.1. Метод за определување на беталаини .....	7
3.2.2. Методи за определување на вкупни феноли .....	8
3.2.3. Статистичка обработка на резултатите.....	8
4. Резултати и дискусија.....	8
5. Заклучок.....	12
6. Користена литература .....	12

# СПЕКТРОФОТОМЕТРИСКА АНАЛИЗА НА БЕТАЛАИНИ И ВКУПНИ ФЕНОЛИ КАЈ АЛБУМИНСКО СИРЕЊЕ ЗБОГАТЕНО СО ОРГАНСКО ЦВЕКЛО ВО ПРАВ

**Тања Стојановска**

Технолошко-технички факултет Велес,  
Универзитет „Св. Климент Охридски“ Битола,  
Република Северна Македонија  
[tanja.b.stojanovska@uklo.edu.mk](mailto:tanja.b.stojanovska@uklo.edu.mk)

**Проф.д-р Татјана Калевска**

Технолошко-технички факултет Велес,  
Универзитет „Св. Климент Охридски“ Битола,  
Република Северна Македонија  
[tatjana.kalevska@uklo.edu.mk](mailto:tatjana.kalevska@uklo.edu.mk)

## Апстракт

Произведени се 4 примероци албуминско сирење, АСК-контролен примерок албуминско сирење од сурутка и збогатени примероци на албуминско сирење АС1, АС2 и АС3 со 2,5%, 5,00% и 7,5% органско цвекло во прав, соодветно. На, примероците албуминско сирење како и на органското цвекло во прав кое се користи за нивно збогатување, определена е содржината на беталаини и вкупните феноли со помош на спектрофотометар (6715 UV/Vis. Jenway), со употреба на два различни растворувачи за екстракција (етанол, метанол), во два различни периоди на складирање (ден-1 и ден-7), на температура до 4°C.

Содржината на беталаини во примерокот АС1 е статистички значајно пониска ( $p < 0,05$ ) во однос на останатите примероци во кои е додаден поголем процент на цвекло во прав. Дополнително, во споредба на деновите на складирање е утврдено статистички значајно ( $p < 0,05$ ) намалување на содржината на беталаини на седмиот ден од складирањето. Определено е статистички значајно ( $p < 0,05$ ) зголемување на содржината на феноли во зависност на додадениот процент цвекло во прав, но и статистички значајно ( $p < 0,05$ ) намалување во однос на времето на складирање на вкупните феноли, додека 50%-ниот раствор на етанол има подобри екстрактивни својства во споредба со 80%-ниот раствор на метанол. Содржината на вкупни феноли во збогатените албумински сирења е поголема ( $p < 0,05$ ) во однос на контролата АСК, што укажува на подобрување на функционалноста на ново формулираните албумински функционални сирења.

**Клучни зборови:** функционално албуминско сирење, беталаини, вкупни феноли

## 1. Вовед

Цвеклото (*Beta vulgaris L. species*) претставува богат извор на различни биоактивни соединенија, помеѓу кои се вбројуваат, беталаините и фенолните соединенија (Мудгал и сор. - Mudgal et al., 2022). Беталаините се деривати на беталамична киселина, кои се растворливи во вода и содржат азот (Садовска-Бартош и Бартош, - Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021). Поради нивната растворливост во вода, својството за боење и високата атиоскидантна активност, цвеклото се почесто се додава во различни производи, со цел подобрување на нивната функционалност (Калва-Естрада и сор. - Calva-Estrada et al., 2022). Беталаините се поделени на две структурни групи, според нивната боја: црвено-виолетови (бетацијанини) и жолти (бетаксантини) (Равичандран и сор. - Ravichandran et al., 2013; Бен Хаџ Кубаер и сор. - Ben Haj Koubaier et al., 2014). Главни претставници на жолти пигменти се вулгаксантин I, II и индикаксантин, со максимална апсорпција од 460 до 480 nm. Додека, бетацијанините во својот состав ги вклучуваат бетанините, пребетанините, изобетанините и необетанин, со максимална апсорпција на бранова должина од 535 до 540 nm (Равичандран и сор. - Ravichandran et al., 2013). Фенолните соединенија присутни во цвеклото, во својот состав вклучуваат фенолни киселини, флавоноиди како и органски и неоргански киселини (Васконцелос и сор. - Vasconcellos et al., 2016). Во своето истражување Десева и сор. - Deseva et al., (2020) ги детектираат следниве фенолни киселини во сок од цвекло: хлорогени, кофеински, р-кумарна и синапинска киселина. Во поглед на човековото здравје, фенолите покажуваат извонредни антиоксидантни својства. Тие го подобруваат имунолошкиот систем, потенцијално намалувајќи го ризикот од хронични заболувања како што се срцеви заболувања и канцер (Дел Рио и сор. - Del Rio et al., 2013).

Првична употреба на цвеклото како додаток во прехранбените производи била со цел обојување и стабилизирање на постоечката боја, но неодамнешните истражувањата во поглед на технолошки и функционални својства отвараат можност за употреба на цвеклото како функционална состојка (Фернандез-Лопез и сор.- Fernández-López et al., 2023). Албуминските сирења кои се фокусираат на функционалните својства се развиле во последната деценија (Бинцис и Пападимас, - Bintsis & Papademas, 2023), но, сеуште нема достапни податоци за збогатено албуминско сирење-урда со додаток на органско цвекло во прав.

Во достапната научна литература постојат податоци од спектрофотометриски анализи за влијанието на додадено цвекло врз содржината на вкупните феноли и беталаини во зависност од додадениот процент на цвекло (Абдо и сор. - Abdo et al., 2022), како и нивната стабилност за време на складирањето (Флорес-Манча и сор. - Flores-Mancha et al., 2021). Но, сеуште нема достапни податоци за влијанието на додаденото органско цвекло во прав на албуминското сирење-урда. Како дел од овој докторски проект се фокусиравме на следниве цели: (i) спектрофотометриска анализа на содржината на беталаини во органско цвекло во прав (ii) спектрофотометриска анализа на содржината на беталаини во збогатеното албуминско сирење во зависност од додадениот процент на прав од цвекло и времето на складирање, (iii) спектрофотометриска анализа на вкупни феноли во органско цвекло во прав, со употреба на иста метода, но два различни растворувачи (iiii) спектрофотометриска анализа на вкупни феноли во збогатено албуминско сирење, со употреба на иста метода но различни растворувачи за екстракција на фенолите, се со цел избирање на најпогоден процес на екстракција со најдобар принос.

## 2. Преглед на литература

Бојата е еден од клучните фактори за прифатливоста на производот од страна на потрошувачите, што директно влијае врз одлуката за купување на производот (Ресурексион, - Resurreccion, 2004). Како делумна реакција на загриженост за безбедноста од употреба на одредени синтетички бои од страна на потрошувачите и од производителите Скотер, - Scotter, (2011), во последната деценија се забележува експанзија во пристапот кон истражување и употреба на природни бои како алтернатива за синтетичките бои (Јадхав и сор. - Jadhav et al., 2020). За разлика од синтетичките бои кои се токсични и канцерогени (Јадхав и сор, - Jadhav et al., 2020), природните бои имаат одредени здравствени придобивки, како антиоксидативни, антиканцерогени и антиинфламаторни ефекти Синг и сор. - Singh et al., (2023), а истите се добиваат од природни извори како растенија, животни, инсекти и минерали (Деви и сор. - Devi et al., 2013).

Многу од растенијата содржат пигменти кои се одговорни за нивната природна боја (Синг и сор.- Singh et al., 2023), помеѓу кои и црвеното цвекло (*Beta vulgaris L. species*) кое ботанички е класифицирано како двегодишно растение од семејството *Chenopodiaceae* (Варшни и Мишра, - Varshney & Mishra, 2022). Всушност, црвената боја на цвеклото е резултат на присуството на беталаините (Равичандран и сор.- Ravichandran et al., 2013), кои претставуваат фенолни хромоалкалоиди со здравствени придобивки врз човековото здравје со истакнати антиоксидативни, антиинфламаторни, антивирусни и антигуморни активности (Бајао и сор. - Baião et al., 2020). Беталаините претставуваат деривати на беталамичната киселина со 3,4-дихидроксифенилаланин (цикло-DOPA), кој може да биде гликозилиран (Садовска-Бартош и Бартош, - Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2021). Најзастапен бетацијанин во цвеклото е бетанидин 5-O- $\beta$ -глукозид, кој содржи фенолни и циклични аминок групи, кои се добри донатори на електрони и дејствуваат како антиоксиданси (Канер и сор. - Kanner et al., 2001). Исто така, беталаините кои потекнуваат од цвеклото имаат три пати поголема јачина на боење од антоцијаните, што се должи на нивната подобра растворливост во вода (Гине и сор. - Guine et al., 2018). Поради растворливоста во вода, својството на боење и антиоксидативните активности, беталаините се почесто се додаваат во различни намирници (Калва-Естрада и сор. - Calva-Estrada et al., 2022).

Сепак, беталаините се нестабилни во присуство на светлина, високи температури, алкална рН, ензимска активност и присуство на кислород и/или метали, поради што нивната употреба во храната е ограничена (Флорес-Манча и сор. - Flores-Mancha et al., 2021). Широката примена на цвеклото како природна боја во млечната индустрија е резултат на поволната рН средина за стабилност на беталаините, што всушност претставуваат и едни од основните параметри за стабилност на беталаините (Цеклу и Нестор, - Ceclu & Nistor, 2020). Беталаините се релативно стабилни на рН вредност во граници од 3 до 7, додека оптималната вредност на рН за максимална стабилност на бетанинот е од 5 до 6 (Азередо - Azeredo, 2009). Според Агне и сор. - Agne et al., (2010) бетацијанинот е најстабилен на рН 4,5, но се разградува со зголемување на рН вредноста. Температура над 50°C допринесува за деградација на беталаините, односно бетацијаните, а со тоа и промена на бојата (Оталора Гонзалес и сор. - Otálora González et al., 2020). Светлината исто така придонесува за деградација на беталаинот, но оваа деградација е во зависност од присутниот кислород. Односно, влијанието на изложеноста на светлина е незначителна во анаеробни услови (Фу и сор. - Fu et al., 2020).

Цвеклото покрај беталаините во својот состав вклучува и фенолини соединенија и се вбројува во зеленчуци со најголема содржина на феноли (Менделова и сор. -

Mendelová et al., 2024). Фенолните соединенија демонстрираат високо антиоксидативно дејство и радикално чистење, поради што поседуваат изразени здравствени позитивни ефекти и делуваат како превентивно средство за канцер и намалување на ризиците поврзани со кардиоваскуларни и хронични заболувања (Гине и сор. - Guine et al., 2018). Фенолите се секундарни растителни метаболити од кои неколку илјади се идентификувани, додека од нив неколку стотици се наоѓаат во јадливите делови на растенијата (Кавалцова и сор. - Kavalcová et al., 20215). Фенолните соединенија во растителните ткива, се присутни во различни структури, од едноставни молекули, како што се фенолните киселини, до полифеноли како флавоноиди, кои се составени од неколку групи (Арјех и сор. - Arjeh et al., 2022). Врз основа на нивната хемиска структура полифенолите се делат на фенолни киселини, флавоноиди, стилбени и лигнани (Кавалцова и сор. - Kavalcová et al., 20215). Според, Менделова и сор. - Mendelová et al., (2024), цвеклото содржи значителна количина на хидроксибензоик и деривати на хидроксицинаминска киселина кои вклучуваат неколку феноли како што се катехин, епикатехин, рутин, кофеинска киселина, *p*-кумарна киселина, протокатехуична киселина, ферулинска киселина и шприцова киселина. Кујала и сор. - Kujala et al., (2002), ги потврдиле следниве феноли од цвекло, 5,5',6,6'-тетрахидрокси-3,3'-бииндолил, ферулоилгликоза и  $\beta$ -D-фруктофуранозил- $\alpha$ -D-(6-O-(E)-ферулоил)глюкопиранозид.

Како на беталаините така и на стабилноста на додадените фенолни соединенија во прехранбените производи, стабилноста за време на складирањето се уште е недоволно испитувана. Алкалната рН средина ја промовира автооксидацијата на фенолните соединенија, што доведува до нивна деградација и губење во прехранбениот производ. Сепак автооксидацијата е во зависност од структурата на фенолното соединение. Флаван-3-олите се соединенија најчувствителни на автооксидација, а потоа следеле катехолните киселини, додека монохидрокси фенолните киселини се карактеризираат со најголема отпорност на автооксидација (Паскет и сор. - Pasquet et al., 2024). Процесот на термичка обработка, исто така, влијае врз содржината на фенолите во цвеклото и нивното намалување е во зависност од постапката на термичка обработка. Но, сепак не се забележани значајни разлики во содржината на феноли кај свежо и варено цвекло (Рамос и сор. - Ramos et al., 2017).

### 3. Материјали и методи

#### 3.1. Материјали

Албуминското сирење (урда) од сурутка произведена е во индустриски услови во млекарата „Маврово“, село Ижиште, Кичевско, Р. С. Македонија. За производство на урдата користена е сурутка добиена од производство на кравјо бело саламурено сирење. Примероците од функционалното албуминско сирење (урда) од сурутка кои се збогатени со различно количество (2,5%, 5%, 7,5%) органско цвекло во прав, произведени се во лабораториски услови во лабораторијата на Прехранбено технолошкиот центар при Технолошко-технички факултет – Велес. Произведени се 4 примероци на албуминско сирење (урда): контролен примерок АСК - албуминско сирење (урда) од сурутка без додаток на цвекло во прав, примерок АС1 - албуминско сирење (урда) од сурутка збогатена со 2,5% органско цвекло во прав, примерок АС2 - албуминско сирење (урда) од сурутка збогатена со 5% органско цвекло во прав и примерок АС3 - албуминско сирење (урда) од сурутка збогатена со 7,5% на органско цвекло во прав.

Органското цвекло во прав кое се користеше за збогатување на албуминското сирење е од производителот „We are one“, Србија. За анализа на примероците се користеше: 96% етанол, дикалиум хидрогенфосфат трихидрат и динатриум хидрогенфосфат дихидрат („Алкалоид“, Скопје, Македонија), метанол („Carlo Erba“, Германија), натриум карбонат („VWR“, Канада), и Folin-Ciocalteu („MERCCK“, Германија). За спекторфотометриските анализи беше користен спектрофотометар 6715 UV/Vis „Jenway“.

### 3.2. Методи

#### 3.2.1. Метод за определување на беталаини

##### *Екстракција на беталаини*

Припремата на примерокот од органското цвекло во прав е според методата на Шакир и Симоне, - Shakir & Simone, (2024), со мали модификации. Во ерленмаерова чаша од 200 mL се одмерува 0,2g цвекло во прав и се додава 20 mL, 50%-ен раствор на етанол, потоа се хомогенизира на магнетна мешалка за време од 20 минути, по што се центрифугира на 5000 вртежи за време од 20 минути. Потоа, екстрактот/супернатантот се филтрира и складира во ладилник на температура до 4 °C до анализа. Примероците од албуминско сирење се припремени со истата постапка, но со употреба на поголема количина на примерок и растворувач. Односно, кон 10 g албуминското сирење се додава 30 mL, 50%-ен раствор на етанол.

##### *Определување на беталаини*

Определувањето на беталаини е според методата на (Џусти, - Giusti, 2001; Тумбас и сор. - Tumbas et al., 2016). Се подготвува 0,05 M фосфатен пуферен раствор (pH 6,5) кој се користи како слепа проба или нула на спектрофотометарот на бранови должини од 475nm, 538nm и 600nm. Фосфатниот пуфер исто така се употребува за растварање на секој од екстрактите со цел мерењата на 538 nm ни бидат во опсег од 0,4 до 0,5 AU. Бетацијанините и бетаксантините се определуваат на бранова должина од 535 nm и 476 nm, соодветно, додека апсорпцијата при 600 nm се користи за корекција. Апсорпцијата на бетанин и вулгасантин-I се пресметани со помош на следниве равенки:

$$x = 1,095 \times (a - c) \quad (\text{Формула бр.3 - 1})$$

$$y = b - z - x/3,1 \quad (\text{Формула бр.3 - 2})$$

$$z = a - x \quad (\text{Формула бр.3 - 3})$$

Каде што, a е апсорпција на 538 nm, b е апсорпција на 476 nm, c е апсорпција на 600 nm, x е апсорпција на бетанин корегирана за обоени нечистотии, y е апсорпција на вулгасантин-I корегирана за обоени нечистотии и z е апсорпција на нечистотии. Концентрациите на бетанин и вулгасантин-I во екстрактот од органско цвекло во прав и албуминско сирење збогатено со органско цвекло во прав беа пресметани со помош на следнава равенка:

$$C \text{ (mg/100 mL)} = x(y) \times F \times 1000/A1\% \quad (\text{Формула бр.3 - 4})$$

Каде што F е фактор на разредување, A1% е коефициент на апсорпција (1120 за бетанин, 750 за вулгасантин). Содржината на бетацијанините беше изразена како mg еквиваленти на бетанин на 100 mL (mg VE/100 mL), а содржината на бетаксантините беше изразена како mg вулгасантин-I еквиваленти на 100 mL (mg VE/100 mL). Вкупната сорджина на беталаини беше пресметана како сума од бетацијанини и бетаксантини.

### **3.2.2. Методи за определување на вкупни феноли**

#### *Екстракција на вкупни феноли*

Припремата на примероците за анализа на вкупни феноли се одвиваше на ист начин но со употреба на два различни растворувачи, 50%-ен етанол и 80%-ен метанол. Во ерленмаерова чаша од 200 mL се одмерува 0,2 g цвекло во прав, а потоа беше додадено со 20 mL 50%-ен етанол или 20 mL 80%-ен метанол. Примерокот се мешаше на магнетна мешалка за време од 20 минути, по што следеше центрифугирање на 6000 вртежи за време од 20 минути. Центрифугираниот екстракт/супернатант потоа беше филтриран и складиран во ладилник на температура до 4 °C, до анализа.

За екстрахирање на вкупните феноли од албуминско сирење, користен е метод претставен од страна на Наков и сор. - Nakov et al., (2024) со мали модификации. Во ерленмаерова чаша од 200 mL се одмеруваат 10 g албуминско сирење. Во чашата беше додадено 20 mL од соодветниот растворувач. Примерокот потоа се мешаше на магнетна мешалка за време од 20 минути, потоа се центрифугираше на 6000 вртежи за време од 20 минути по што следеше филтрација. Исфилтрираниот екстракт/супернатант се складира во ладилник на температура до 4°C, до анализа. Примероците од албуминско сирење беа подготвени на ист начин но со два различни растворувачи, односно 50%-ен етанол и 80%-ен метанол.

#### *Определување на вкупни феноли*

Анализата на вкупни феноли е направена според метода на Иванова и сор. - Ivanova et al., (2010) со мали модификации. Во одмерна тиквичка од 10 mL, се додава по 5 mL дестилирана вода и 1ml од подготвениот екстракт. Во тиквичките се додава по 0,5 mL Folin-Ciocalteu и се оставаат примероците да отстојат 3 минути потоа се додава 1,5 mL 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Тиквичките се дополнуваат до ознаката со дестилирана вода благо се промешуваат и се остават да отстојат 3 часа на темно. Определувањето на вкупните феноли е на бранова должина од 765 nm.

### **3.2.3. Статистичка обработка на резултатите**

За обработка на резултатите и утврдување на статистичка разлика користени се ANOVA (анализа на варијанса) и Fisher-овиот LSD-тест за најмалку значајни разлики со фактор од 95% ( $p < 0.05$ ) преку програмите XLSTAT 2019 и Microsoft Office Excel 2019.

## **4. Резултати и дискусија**

Во табела 1. претставени се резултатите од анализа на содржината на беталаините како сума од бетацијанините и бетаксантините, во органското цвекло во прав и збогатените примероци со различен процент на цвекло AC1, AC2 и AC3 на првиот и седмиот ден на складирањето.

Во органското цвекло во прав определена е содржина од  $9,64 \pm 0,93$  mg/100 mL, беталаини. Според, Фархан и сор. - Farhan et al., (2024), содржината на беталаини во цвеклото во прав изнесувала  $2458,07$  mg 100 g<sup>-1</sup>, во цвеклото сушено на сонце содржината на беталаини изнесувала  $3,10$ mg/g, додека во лиофилизираното  $4,89$  mg/g (Bunkar et al., 2020). Содржината на беталаини во кората од цвекло изнесувала  $392,07 \pm 10,55$  mg/L, од кои бетацијанините претставувале околу 60% од беталаините ( $236,53 \pm 10,82$  mg/L) (Абдо и сор. - Abdo et al., 2022).

Содржината на бетацијанините и бетаксантините во примерокот AC1 е статистички значајно пониска ( $p < 0,05$ ) во однос на останатите примероци во кои е



додадено цвекло во прав. Односно содржината на беталаини во збогатените примероци на албуминско сирење се зголемува со зголемување на додадениот процент на органско цвекло во прав. Дополнително, во споредба на деновите на складирање е утврдено статистички значајно ( $p < 0,05$ ) намалување на содржината на бетацијанини на седмиот ден од складирањето на пробите, додека кај примерокот АС2 е забележана најдобра стабилност на содржината на бетаксантините. Најголемо намалување на содржината на беталаините од првиот  $18,16 \pm 0,08$  до седмиот ден  $7,75 \pm 0,04$  на складирање се забележува кај примерокот АС3, во кој е додадено најголем процент на цвекло во прав од 7,5%.

Примерок		Бетацијанини mg VE/100 mL	Бетаксантини mg VE/100 mL	Беталаини mg/100 mL
Цвекло во прав		$5,57 \pm 0,02$	$4,40 \pm 0,33$	$9,64 \pm 0,93$
АС1	Ден -1	$4,61 \pm 0,02^{c,A}$	$2,48 \pm 0,01^{c,A}$	$7,09 \pm 0,01^{c,A}$
	Ден -7	$2,95 \pm 0,01^{c,B}$	$1,38 \pm 0,05^{c,B}$	$4,38 \pm 0,04^{c,B}$
АС2	Ден -1	$8,11 \pm 0,01^{b,A}$	$4,63 \pm 0,03^{b,A}$	$12,74 \pm 0,02^{b,A}$
	Ден -7	$6,73 \pm 0,01^{b,B}$	$4,06 \pm 0,24^{b,B}$	$10,82 \pm 0,29^{b,B}$
АС3	Ден -1	$11,83 \pm 0,02^{a,A}$	$6,37 \pm 0,05^{a,A}$	$18,16 \pm 0,08^{a,A}$
	Ден -7	$4,97 \pm 0,01^{a,B}$	$2,78 \pm 0,05^{a,B}$	$7,75 \pm 0,04^{a,B}$

\* Малите букви се однесуваат на статистички значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу примероците со различни количини на цвекло; големите букви се однесуваат на статистички значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу деновите на складирање.

Табела бр.1: Содржина на беталаини во органско цвекло и примероците албуминско сирење

Зголемување на содржината на беталаините во однос на контролата (напиток од суруткени протеини) во зависност од додадениот процент на екстракт од лушпа од цвекло, потврдуваат и Абдо и сор. - Abdo et al. (2022). Сепак, тие забележуваат нестабилност на беталаините за време на складирање, особено брза деградација ( $p < 0,05$ ) по 7 дена од складирањето и притоа содржината на беталаините достигнувала од 62,6, 45,54 и 55,27 mg/L во примероците со 1, 2,5 и 5% на додаден екстракт од цвекло, соодветно. Но, потоа авторите забележуваат дека беталаините останале стабилни до 14-тиот ден. Зголемување на содржината на беталаини како резултат на додавање на сок од цвекло забележуваат Флорес-Манча и сор. - Flores-Mancha et al., (2021), но спротивно на претходно кажаното тие пријавуваат статистички значајно зголемување ( $p < 0,05$ ) на содржината на беталаините од 7-от до 14-от ден на складирање од 191,65 mg/100 g до 243,20 mg/100 g, соодветно. Според, Пруденцио и сор. - Prudencio et al., (2008), стабилноста на беталаните во сирење за време на складирање може да се оправда со ниската рН вредност, малата содржина на вода, складирањето на ниска температура и пакувањата кои се непропустливи за светлина, како и присуството на некои протеини и аминокиселини кои можат да ја зголемат стабилноста на беталаините.

Во табела 2, претставени се резултатите од анализа на вкупни феноли кај органското цвекло во прав, контролниот примерок како и збогатените примероци на

албуминско сирење со употреба на два растворувачи (50%-ен етанол и 80%-ен метанол).

Во поголем дел од научно достапната литература истражувачите за определување на вкупни феноли како растворувач користеле метанол (Акан и сор. - Akan et al., 2021; Наков и сор. - Nakov et al., 2023; Левак и сор. - Levak et al., 2024) или ацетон (Гине и сор. - Guine et al., 2018), но некои од авторите користат и етанол како растворувач за анализа на вкупни феноли во производи од цвекло (Соколова и сор. - Sokolova et al., 2024). Според, Нуаири и сор. - Nouairi et al., (2021) 50%-ен етанол се покажал како растворувач со најдобар принос на екстракција на беталаини. Со оглед на тоа што бетацијанините во цвеклото содржат фенолни и циклични аминокиселини групи (Канер и сор. - Kanner et al., 2001), претпоставуваме дека ќе добиеме подобар принос на фенолите при користење на 50%-ен етанол вклучувајќи ги и фенолните групи од бетацијанините, во однос на метанолот како растворувач.

<b>ВКУПНИ ФЕНОЛИ mg/100 g</b>			
Примерок	Ден на анализа	50%-ен етанол	
		80%-ен метанол	
Цвекло	/	33,79±0,10	33,36±0,12
АСК	Ден -1	7,52±0,02 <sup>d,A</sup>	2,77±0 <sup>d,A</sup>
	Ден -7	7,52±0,02 <sup>d,B</sup>	2,23±0,03 <sup>d,B</sup>
АС1	Ден -1	25,19±0,04 <sup>c,A</sup>	21,46±0,01 <sup>c,A</sup>
	Ден-7	15,65±0,02 <sup>c,B</sup>	14,66±0,02 <sup>c,B</sup>
АС2	Ден -1	36,56±0,06 <sup>b,A</sup>	29,26±0,08 <sup>b,A</sup>
	Ден-7	31,80±0,52 <sup>b,B</sup>	27,75±0 <sup>b,B</sup>
АС3	Ден-1	56,87±0,09 <sup>a,A</sup>	39,44±0,07 <sup>a,A</sup>
	Ден-7	25,95±0,02 <sup>a,B</sup>	19,33±0,04 <sup>a,B</sup>

\* Малите букви се однесуваат на статистички значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу примероците со различни количини на цвекло; големите букви се однесуваат на статистички значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу деновите на складирање.

Табела бр. 2: Содржина на вкупни феноли во органско цвекло и примероците албуминско сирење

Од табела 2, можеме да забележиме дека органското цвекло во прав содржи 33,79±0,10 mg/100 g вкупни феноли екстрахирани со етанол и 33,36±0,12 mg/100 g феноли екстрахирани со метанол. Според, Абдо и сор. - Abdo et al., (2022) екстрактот од цвекло содржел 21,70 ± 2,18 mg/ g феноли, додека цвекло во прав содржело 12,18 mg/ g феноли (Шалби и Хасенин, - Shalaby & Hassenin 2020).

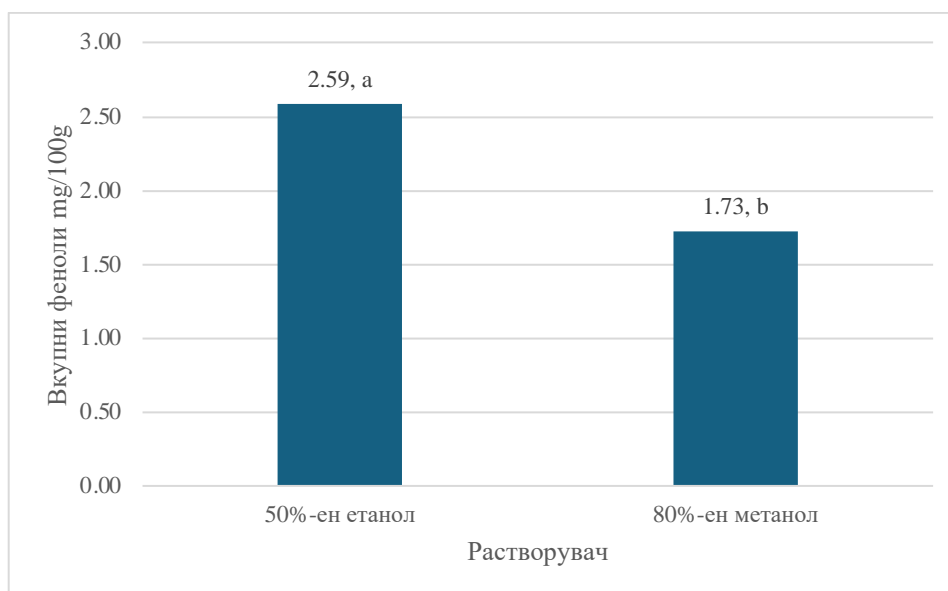
Без разлика кој растворувач се употребува за екстракција на фенолните соединенија утврдена е статистичка значајна разлика ( $p < 0,05$ ) во однос на контролниот примерок АСК на првиот ден од складирањето во однос на збогатените примероци албуминско сирење АС1, АС2 и АС3. Содржината на вкупни феноли се зголемува со зголемување на додадениот процент на цвекло во прав на првиот ден од складирањето 25,19±0,04 mg/100 g, 36,56±0,06 mg/100 g и 56,87±0,09 mg/100 g за АС1, АС2 и АС3, соодветно (кога како растворувач се користи 50%-ен етанол). Забележани се и

статистички значајни разлики ( $p < 0,05$ ) и при следење на вкупните феноли за време на складирањето помеѓу првиот и седмиот ден од складирањето. Исто како, за беталаините така и за вкупните феноли забележано е најголемо намалување во примерокот АС3, во кој имаме додадено најголем процент на органско цвекло во прав. Најмала загуба на фенолни соединенија за време на складирање има кај примерокот АС2 со додадено 5% органско цвекло во прав, што укажува на најдобра стабилност.

Сепак, кај сите примероци кои се збогатени со органско цвекло во прав, без разлика на додадениот процент и времето на складирање имаме повисоки вредности за вкупни феноли што укажува на подобрување на функционалноста на новоформулираните албумински функционални сирења.

Вкупните феноли во напиток од суруткени протеини збогатен со 1, 2,5 и 5% на екстракт од кора од цвекло се зголемиле во однос на контролата за 0-ден на складирање. Особено за примероците со 2,5 и 5% додаден екстракт кои биле зголемени во однос на контролата и изнесувале 36,12 и 43,21 mg/g, соодветно. Исто така на ден 7 и 14 од складирање било забележано намалување на фенолните соединенија, но сепак нивната содржина била повисока во однос на контролата (Абдо и сор. - Abdo et al., 2022). Спротивно на ова Флорес-Манча и сор. - Flores-Mancha et al., (2021), забележуваат зголемување на фенолите во јогурт со додаден сок од цвекло за време на складирањето од 1,7 и 14 ден за 9,237 mg GAE/g, 9,262 mg GAE/g и 9,795 mg GAE/g, соодветно.

На графикон 1, претставени се средните вредности од содржината на вкупни феноли во сите албумински сирења, екстрахирани со 50%-ен етанол и 80%-ен метанол



\*Вредностите со различни букви статистички значајно се разликуваат ( $p < 0,05$ )

Графикон бр. 1: Средна вредност на вкупни феноли, екстрахирани со различни растворувачи

Од графикон 1 се гледа дека постои статистички значајна разлика помеѓу содржината на вкупните феноли при користење на 50%-ен етанол и 80%-метанол како

растворувачи. Содржината на вкупните феноли е повисока кога се користи 50%-ен етанол како растворувач (2,59 mg/100 g) во споредба со содржината на вкупни феноли кога како растворувач се користи 80%-ен метанол (1,73 mg/100 g).

## 5. Заклучок

Додавањето на органско цвекло во прав во различна содржина во албуминското сирење придонесува за зголемување на содржината на бетацијанините и бетаксантините, а со тоа и содржината на беталаините. Содржината на беталаини во примерокот АС1 е статистички значајно пониска ( $p < 0,05$ ) во однос на АС2 и АС3. Дополнително, во споредба на деновите на складирање утврдено е статистички значајно ( $p < 0,05$ ) намалување на содржината на бетацијанините на седмиот ден од складирањето на пробите. Исто така, евидентна е статистичка значајна разлика ( $p < 0,05$ ) во однос на вкупни фенолни соединенија, споредбено на контролниот примерок АСК на првиот ден, со збогатените примероци од албуминско сирење АС1, АС2 и АС3. Иако има статистичко значајно намалување ( $p < 0,05$ ) на вкупните феноли за време на складирањето, сепак кај сите примероци од збогатено албуминско сирење со органско цвекло во прав утврдена е повисока содржина на вкупни феноли, што укажува на подобрување на функционалноста на ново формулираните албумински функционални сирења.

Во однос на растворувачите за екстракција на фенолни соединенија, етанолот како растворувач покажа подобар принос на феноли во однос на метанолот, што ја оправдува неговата употреба како растворувач за изработка на докторската теза.

## 6. Користена литература

- Abdo, E. M., Allam, M. G., Goma, M. A., Shaltout, O. E., & Mansour, H. M. (2022). Valorization of whey proteins and beetroot peels to develop a functional beverage high in proteins and antioxidants. *Frontiers in Nutrition*, 9, 984891. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.984891>
- Agne, E. B. P., Hastuti, R., & Khabibi, K. (2010). Ekstraksi dan uji kestabilan zat warna betasianin dari kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) serta aplikasinya sebagai pewarna alami pangan. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 13(2), 51-56. <https://doi.org/10.14710/jksa.13.2.51-56>
- Akan, E., Yerlikaya, O., Akpınar, A., Karagozlu, C., Kinik, O., & Uysal, H. R. (2021). The effect of various herbs and packaging material on antioxidant activity and colour parameters of whey (Lor) cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 74, 554–563. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12778>
- Arjeh, E., Khodaei, S. M., Barzegar, M., Pirsā, S., Karimi Sani, I., Rahati, S., & Mohammadi, F. (2022). Phenolic compounds of sugar beet (*Beta vulgaris* L.): Separation method, chemical characterization, and biological properties. *Food science & nutrition*, 10(12), 4238–4246. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3017>
- Azeredo, H. M. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability—a review. *International journal of food science & technology*, 44(12), 2365-2376. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x>
- Baião, dos S. D., da Silva, D. V., & Paschoalin, V. M. (2020). Beetroot, a remarkable

- vegetable: Its nitrate and phytochemical contents can be adjusted in novel formulations to benefit health and support cardiovascular disease therapies. *Antioxidants*, 9(10), 960. <https://doi.org/10.3390/antiox9100960>
- Ben Haj Koubaier, H., Snoussi, A., Essaidi, I., Chaabouni, M. M., Thonart, P., & Bouzouita, N. (2014). Betalain and phenolic compositions, antioxidant activity of Tunisian red beet (*Beta vulgaris* L. *conditiva*) roots and stems extracts. *International journal of food properties*, 17(9), 1934-1945. <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.772196>
- Bintsis, T., & Papademas, P. (2023). Sustainable approaches in whey cheese production: A review. *Dairy*, 4(2), 249-270. <https://doi.org/10.3390/dairy4020018>
- Bunkar, D. S., Anand, A., Kumar, K., Meena, M., Goyal, S. K., & Paswan, V. K. (2020). Development of production technology for preparation of beetroot powder using different drying methods. *Annals of Phytomedicine*, 9(2), 293-301. DOI: [10.21276/ap.2020.9.2.29](https://doi.org/10.21276/ap.2020.9.2.29)
- Calva-Estrada, S. J., Jiménez-Fernández, M., & Lugo-Cervantes, E. (2022). Betalains and their applications in food: The current state of processing, stability and future opportunities in the industry. *Food chemistry: molecular sciences*, 4, 100089. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100089>
- Ceclu, L., & Nistor, O. V. (2020). Red beetroot: Composition and health effects—A review. *J. Nutr. Med. Diet Care*, 6(1), 1-9. <https://doi.org/10.23937/2572-3278.1510043>
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & redox signaling*, 18(14), 1818-1892. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>
- Desseva, I., Stoyanova, M., Petkova, N., & Mihaylova, D. (2020). Red beetroot juice phytochemicals bioaccessibility: An in vitro approach. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 70(1), 45-53. <https://doi.org/10.31883/pjfn/116590>
- Devi, M., Ariharan, V. N., & Prasad, P. N. (2013). Annato: eco-friendly and potential source for natural dye. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(6), 106-108. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.04623>
- Farhan, M., Ahmad, Z., Waseem, M., Mehmood, T., Javed, M. R., Ali, M., & Goksen, G. (2024). Assessment of Beetroot powder as nutritional, antioxidant, and sensory evaluation in candies. *Journal of Agriculture and Food Research*, 15, 101023. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101023>
- Fernández-López, J., Ponce-Martínez, A. J., Rodríguez-Párraga, J., Solivella-Poveda, A. M., Fernández-López, J. A., Viuda-Martos, M., & Pérez-Alvarez, J. A. (2023). Beetroot juices as colorant in plant-based minced meat analogues: Color, betalain composition and antioxidant activity as affected by juice type. *Food Bioscience*, 56, 103156. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103156>
- Flores-Mancha, M. A., Ruíz-Gutiérrez, M. G., Sánchez-Vega, R., Santellano-Estrada, E., & Chávez-Martínez, A. (2021). Effect of encapsulated beet extracts (*Beta vulgaris*) added to yogurt on the physicochemical characteristics and antioxidant activity. *Molecules*, 26(16), 4768. <https://doi.org/10.3390/molecules26164768>
- Fu, Y., Shi, J., Xie, S. Y., Zhang, T. Y., Soladoye, O. P., & Aluko, R. E. (2020). Red beetroot betalains: Perspectives on extraction, processing, and potential health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(42), 11595-11611. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04241>
- Giusti, M. M. (2001). Current protocols in food analytical chemistry, F3.1.1-F3.1.7 Copyright © 2001 by John Wiley & Sons, Inc. DOI: [10.1002/0471142913.faf0402s01](https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0402s01)

- Guine, R. P., Goncalves, F., Lerat, C., El Idrissi, T., Rodrigo, E., Correia, P. M., & Goncalves, J. C. (2018). Extraction of phenolic compounds with antioxidant activity from beetroot (*Beta vulgaris* L.). *Current Nutrition & Food Science*, 14(4), 350-357. DOI: [10.2174/1573401313666170609102336](https://doi.org/10.2174/1573401313666170609102336)
- Ivanova, V., Stefova, M., & Chinnici, F. (2010). Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75(1), 45-59. DOI: [10.2298/JSC1001045I](https://doi.org/10.2298/JSC1001045I)
- Jadhav, R. V., Bhujbal, S. S., & Jadhav, R. V. (2020). A review on natural food colors. *Pharmaceutical Resonance*, 2(2), 12-20.
- Kanner, J., Harel, S., & Granit, R. (2001). Betalains a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 49(11), 5178-5185. DOI: [10.1021/jf010456f](https://doi.org/10.1021/jf010456f)
- Kavalcová, P., Bystrická, J., Tomáš, J., Karovičová, J., Kovarovič, J., & Lenková, M. (2015). The content of total polyphenols and antioxidant activity in red beetroot. *Potravinárstvo*, 9(1), 77-83 <https://doi.org/10.5219/441>
- Kujala, T. S., Vienola, M. S., Klika, K. D., Loponen, J. M., & Pihlaja, K. (2002). Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. *European Food Research and Technology*, 214, 505-510. DOI: [10.1007/s00217-001-0478-6](https://doi.org/10.1007/s00217-001-0478-6)
- Levak, S., Maslov Bandić, L., Sopko Stracenski, K., Dolenčić Špehar, I., Kalit, S., Rako, A., & Tudor Kalit, M. (2024). Semi-hard goat cheese ripened in oil: antioxidant potential and fatty acid profile. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 74(4), 263-275. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2024.0402>
- Mendelová, A., Mendel, L., Solgajová, M., Kolesárová, A., & Mareček, J. (2024). Increasing the stability of polyphenols and betacyanins in beetroot chips by treatment before drying. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 14(1), e10936-e10936. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.10936>
- Mudgal, D., Singh, S., & Singh, B. R. (2022). Nutritional composition and value added products of beetroot: A review. *Journal of Current Research in Food Science*, 3(1), 01-09.
- Nakov, G., Trajkovska, B., Zlatev, Z., Jukić, M., & Lukinac, J. (2023). Quality characteristics of probiotic yoghurt enriched with honey and by-products left after the production of hemp oil by cold pressing the seeds of *Cannabis sativa* L. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 73(1), 3-11. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2023.0101>
- Nouairi, M. E. A., Freha, M., & Bellil, A. (2021). Study by absorption and emission spectrophotometry of the efficiency of the binary mixture (Ethanol-Water) on the extraction of betanin from red beetroot. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 260, 119939. DOI: [10.1016/j.saa.2021.119939](https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119939)
- Otálora González, C. M., Bonifazi, E. L., Fissore, E. N., Basanta, M. F., & Gerschenson, L. N. (2020). Thermal stability of betalains in by-products of the blanching and cutting of *Beta vulgaris* L. var conditiva. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 70(1):15-24 DOI: [10.31883/pjfn/116415](https://doi.org/10.31883/pjfn/116415)
- Prudencio, I. D., Prudêncio, E. S., Gris, E. F., Tomazi, T., & Bordignon-Luiz, M. T. (2008). Petit suisse manufactured with cheese whey retentate and application of betalains and anthocyanins. *LWT-Food Science and Technology*, 41(5), 905-910. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.05.019>
- Ramos, J. A., Furlaneto, K. A., Lundgren, G. A., Mariano-nasser, F. A. D. C., Mendonca, V.

- Z., Nasser, M. D., & Vieites, R. L. (2017). Stability of bioactive compounds in minimally processed beet according to the cooking methods. *Food Science and Technology*, 38, 643-646. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.11817>
- Ravichandran, K., Saw, N. M. M. T., Mohdaly, A. A., Gabr, A. M., Kastell, A., Riedel, H., Cai, Z., Knorr, D., & Smetanska, I. (2013). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food research international*, 50(2), 670-675. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.002>
- Resurreccion, A. V. A. (2004). Sensory aspects of consumer choices for meat and meat products. *Meat science*, 66(1), 11-20. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00021-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00021-4)
- Sadowska-Bartosz, I., & Bartosz, G. (2021). Biological properties and applications of betalains. *Molecules*, 26(9), 2520. <https://doi.org/10.3390/molecules26092520>
- Scotter, M. J. (2011). Emerging and persistent issues with artificial food colours: natural colour additives as alternatives to synthetic colours in food and drink. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 3(1), 28-39. <https://doi.org/10.1111/j.1757-837X.2010.00087.x>
- Shakir, B. K., & Simone, V. (2024). Estimation of betalain content in beetroot peel powder. *Italian Journal of Food Science*, 36(1), 53-57. <https://doi.org/10.15586/ijfs.v36i1.2438>
- Shalaby, H. S., & Hassenin, A. S. (2020). Effects of Fortification stirred yoghurt with red beetpowder (RBP) on Hypercholesterolemia Rats. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, 2(5).DOI: <http://dx.doi.org/10.24018/ejfood.2020.2.5.61>
- Singh, T., Pandey, V. K., Dash, K. K., Zanwar, S., & Singh, R. (2023). Natural bio-colorant and pigments: Sources and applications in food processing. *Journal of Agriculture and Food Research*, 12, 100628. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100628>
- Sokolova, D. V., Shvachko, N. A., Mikhailova, A. S., Popov, V. S., Solovyeva, A. E., & Khlestkina, E. K. (2024). Characterization of Betalain Content and Antioxidant Activity Variation Dynamics in Table Beets (*Beta vulgaris* L.) with Differently Colored Roots. *Agronomy*, 14(5), 999. <https://doi.org/10.3390/agronomy14050999>
- Tumbas Šaponjac, V., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., Jakišić, M., Djilas, S., Vulić, J., & Stajčić, S. (2016). Encapsulation of beetroot pomace extract: RSM optimization, storage and gastrointestinal stability. *Molecules*, 21(5), 584. <https://doi.org/10.3390/molecules21050584>
- Varshney, K., & Mishra, K. (2022). An analysis of health benefits of beetroot. *International Journal of Innovative Research in Engineering & Management*, 9(1), 207-210. <https://doi.org/10.55524/ijirem.2022.9.1.39>
- Vasconcellos, J., Conte-Junior, C., Silva, D., Pierucci, A. P., Paschoalin, V., & Alvares, T. S. (2016). Comparison of total antioxidant potential, and total phenolic, nitrate, sugar, and organic acid contents in beetroot juice, chips, powder, and cooked beetroot. *Food Science and Biotechnology*, 25(1), 79-84. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0011-0>