

# Tradicijske metode fermentacije i prirodno kiselo tijesto kao starter za proizvodnju sigurnih i kvalitetnih pekarskih proizvoda produljene trajnosti

---

Rađenović, Vedran

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:301007>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom](#).

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Biotehnologije**

**Vedran Rađenović**

**5995\BT**

**TRADICIJSKE METODE FERMENTACIJE I PRIRODNO KISELO TIJESTO KAO  
STARTER ZA PROIZVODNJU SIGURNIH I KVALITETNIH PEKARSKIH  
PROIZVODA PRODULJENE TRAJNOSTI**

**ZAVRŠNI RAD**

*Mentor: izv. prof. dr. sc. Jasna Mrvčić*

*Zagreb, 2016.*

# DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij biotehnologije

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju vrenja i kvasca

## TRADICIJSKE METODE FERMENTACIJE I PRIRODNO KISELO TIJESTO KAO STARTER ZA PROIZVODNJU SIGURNIH I KVALITETNIH PEKARSKIH PROIZVODA PRODULJENE TRAJNOSTI

Vedran Rađenović, 5995\BT

**Sažetak:** U današnjem ubrzanom tempu života, upotreba tradicijskih metoda kiseljenja tijesta u pekarskoj proizvodnji je gotovo iščeznula. Moderne metode upotrebe monokulture kvasca *S. cerevisiae* i kratkotrajna fermentacija se nisu pokazali prikladnim za postizanje sigurnosti, kvalitete i trajnosti pekarskih proizvoda. Sve je veća svijest o utjecaju antinutrijenata i alergena žitarica na zdravlje modernog čovjeka. Stoga je cilj ovoga rada ukazati na kvalitetnije, nutritivnije i zdravstveno ispravnije pekarske proizvode koji nastaju uporabom tradicijskih kiselih tijesta s brašnom od cjelovitih žitarica bez dodanog kvasca i aditiva.

**Ključne riječi:** kiselno tijesto, starter kultura, bakterije mliječne kiseline, kvasac, kruh

**Rad sadrži:** 20 stranica, 4 slike, 33 literarna navoda

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Jasna Mrvčić

Rad predan: rujan, 2016.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**Final work**

**University of Zagreb**

**Faculty of Food Technology and Biotechnology**

**Undergraduate studies Biotechnology**

**Department of Food and Technological Engineering**

**Laboratory for Technology Carbohydrates and Confectionary Products**

**TRADICIONAL METHODS OF FERMENTATION AND NATURAL SOUR DOUGH  
STARTER FOR PRODUCING SAFE AND QUALITY BAKED GOODS WITH LONGER  
SHELF LIFE**

**Vedran Radenović, 5995\BT**

**Abstract:** In today fast paced life, usage of traditional methods with sourdoughs in bakery production is almost perished. Modern methods of using yeast monoculture *S. cerevisiae* with short fermentation haven't proven suitable for achieving safety, quality and shelf life of baked goods. There is growing awareness of decremental effects of cereal antinutrients and allergens on health of a modern man. Thus the goal of this work is to indicate on higher quality, nutrient rich and healthier baked produce which are made with traditional sour dough and flour from wholesome cereals without added yeast or additive.

**Keywords:** sourdough, starter cultures, lactic acid bacteria, yeast, bread

**Thesis contains:** 20 pages, 4 figures, 33 references

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** dr. sc. Jasna Mrvčić

**Thesis delivered:** September 2016

# Sadržaj

1	Uvod .....	1
2	Povijest upotrebe kiselih tijesta .....	2
3	Problematika konzumiranja žitarica .....	4
3.1	Nutritivni sastav žitarica.....	5
3.2	Sekundarni metaboliti žitarica.....	6
3.3	Autoimune bolesti i žitarice .....	7
3.4	Problematika današnje pekarske industrije u Hrvatskoj .....	8
4	Tradicijske metode upotrebe kiselih tijesta u pekarstvu.....	9
4.1	Duga tradicija kiselih tijesta.....	9
4.2	Tradicijska proizvodnja kiselih tijesta .....	9
4.3	Mikrobiologija prirodnih kiselih tijesta .....	10
4.4	Antibakterijska aktivnost kiselih tijesta .....	10
4.5	Antifungalna aktivnost kiselih tijesta.....	11
4.6	Utjecaj mikroflore kiselog tijesta na kvalitetu pekarskih proizvoda.....	11
4.7	Tehnološki procesi u pripremi kiselog tijesta .....	14
5	Zaključak .....	12
6	Literatura .....	17

## 1 Uvod

Prirodno kiselo tijesto je tijesto načinjeno od brašna, vode i mikroorganizama (bakterija i kvasaca) u aktivnom stanju. U proizvodnji kiselog tijesta kao i u ostalim procesima proizvodnje fermentirane hrane, kao starter kultura, glavnu ulogu imaju bakterije mliječne kiseline (BMK). BMK su dominantni mikroorganizmi u kiselom tijestu i reologija, okus i miris te nutritivne karakteristike kruha proizvedenog uz dodatak kiselog tijesta ovise o njihovoj aktivnosti. Tijekom fermentacije tijesta, BMK proizvode mliječnu i octenu kiselinu te brojne druge metabolite (alkohol, aldehide, estere) što gotovom pekarskom proizvodu daje specifičan kiseli okus, aromu i pozitivno djeluje na tehnološke, mikrobiološke, nutritivne, zdravstvene i organoleptičke karakteristike pekarskih proizvoda. Kruh proizveden uz dodatak prirodnog kiselog tijesta produžene je svježine i trajnosti, kvalitetnije teksture, mirisa i okusa.

U R Hrvatskoj se još uvijek najviše konzumira pšenični bijeli kruh koji se proizvodi direktnim postupkom s pekarskim kvascem kao monokulturom. Takav kruh nema zadovoljavajuće organoleptičke karakteristike (pusta aroma, izražena mrvljivost, brzo starenje), a posebno je siromašna njegova nutritivna i zdravstvena vrijednost. Prema istraživanjima Državnog zavoda za statistiku doznaje se da se u 2011. g. bacalo oko 100 tona kruha dnevno. Kao osnovni razlog tome navode se loša kvaliteta kruha i kratak rok upotrebe. Ovi nedostaci se pokušavaju prevazići dodatkom sve većih količina raznih aditiva, suprotno željama potrošača za prirodnim i domaćin načinom proizvodnje kruha.

Cilj rada je bio:

- Ukazati na štetan utjecaj sekundarnih metabolita i alergena žitarica na zdravlje modernog čovjeka.
- Pojasniti širok spektar djelovanja mikroorganizama kiselog tijesta pri neutralizaciji sekundarnih metabolita i alergena žitarica kako bi u konačnici dobili sigurne, visokonutritivne, zdravstveno ispreвне pekarske proizvode produžene trajnosti.

## 2 Povijest upotrebe kiselih tijesta

Upotreba kiselih tijesta u proizvodnji kruha predatira zapisanu povijest. Vjeruje se da su Egipćani prvi uveli fermentacijski postupak u proizvodnji kruha oko 4000 godina prije Krista. Zapisi na glinenim pločicama potvrđuju da su Sumerani, stanovnici Mezopotamije, više od 40% svojih žitarica prvo pretvarali u kruh, a zatim od njega proizvodili pivo. Egipćani su također takve hljepčiče kruha koristili za proizvodnju piva, a seljaci s Nila čine to još i danas (Grba, 2010). Egipćani su znali koristiti i pjenu od piva kao sredstvo za dizanje tijesta, uz druge metode u drevnom pekarstvu. Drevni srodnik pšenice emmar mljeo se na kamenom mlinu te bi se dobiveno brašno zatim pomiješalo s vodom i prepustilo prirodnoj fermentaciji u svrhu dobivanja prirodnog kiselog tijesta. Takvom tijestu bi se dodala nova količina brašna i vode te bi se nakon izvjesnog vremena polagalo u glinene vrčeve i peklo u krušnim pećima. Grci su usvojili upotrebu kiselih tijesta od Egipćana oko 800 godina prije Krista. Proizvodili su više od 70 različitih vrsta kruha, uključujući slatke, kisele, s raznim žitaricama. Plinije stariji nas obavještava kako "konzumiranje kruha od kiselog tijesta poboljšava zdravlje i daje snagu tijelu". Vojska je također bila upoznata s kruhom od kiselog tijesta koji su koristili ponajprije zbog njegove produljene trajnosti i teže mogućnosti kvarenja. U 4. stoljeću prije Krista Gali preuzimaju znanje o upotrebi kiselih tijesta od Grka. U 2. stoljeću prije Krista Gali izmjenjuju recept za proizvodnju kiselog tijesta. Umjesto brašna i vode, Gali miješaju brašno i cervosie, napitak od fermentiranih žitarica koji je sličio tadašnjem pivu. Uočili su da kruh postiže bolje dizanje ako koriste mutniju cervoise. Kruh proizveden na ovaj način je bio posebno mekane i lagane teksture. Za vrijeme Srednjeg vijeka pekarstvo se uglavnom svodi na obiteljsku proizvodnju. U to se vrijeme u većim gradovima poput primjerice Pariza otvaraju prve veće pekarnice, koje koriste isključivo kisela tijesta za proizvodnju kruha i peciva. Kiselost takvih proizvoda je omogućila proizvodnju kruha bez soli, a sol je u to vrijeme bila luksuzna namirnica na koju se morao plaćati porez. Nadalje, tako dobiven kruh je zadovoljavao prehrambene navike populacije Srednjeg vijeka. Ovakva proizvodnja prevladava do 17. stoljeća kada francuski pekari ponovno otkrivaju pivski kvasac. Kvasac se nabavljao iz lokalnih pivovara kao nusproizvod procesa proizvodnje piva. Kruh proizveden s pivskim kvascem dobiva naziv *pain mollet* zbog svoje teksture, koja je bila laganija od one kod kruha s kiselim tijestom. Godine 1668., nakon dvogodišnje debate, na zahtjev Francuskog kralja Louisa XIV. i Medicinskog fakulteta Pariškog sveučilišta zabranjuje se upotreba pivskog kvasca u pekarstvu.

Istraživanja tadašnjih liječnika su pokazala štetan utjecaj pivskog kvasca na zdravlje ljudi. Pretpostavili su da je glavni razlog štetnosti pivskog kvasca njegova gorčina, no danas je poznato da je Francuska u to vrijeme koristila vodu izrazito loše kvalitete, koja je doprinijela zaključku o štetnosti i zabrani upotrebe pivskog kvasca. Vrlo brzo su pekari otkrili da kombiniranom upotrebom kiselih tijesta s pivskim kvascem mogu poništiti negativan utjecaj pivskog kvasca i zato 1670. godine, unatoč negativnom zaključku Medicinskog fakulteta, Parlament ponovno odobrava upotrebu pivskog kvasca - ali samo u kombinaciji s kiselim tijestom. Dvije knjige "L' Art de la Boulangerie" i "Le Parfait Boulanger" detaljno opisuju tradicijske metode proizvodnje kiselih tijesta i pekarskih proizvoda 17. stoljeća. Kisela tijesta su se proizvodila miješanjem brašna i vode koje bi zatim prepustili spontanoj fermentaciji. Nakon nekoliko dana prirodne fermentacije dodali bi 2-3 puta veću količinu brašna i vode u zamjes te smjesu opet prepustili fermentaciji kroz 24 h. Dobiveno kiselo tijesto ovom metodom su nazvali *levain-chef*. Takvom kiselom tijestu se dodavala nova količina brašna i vode kako bi dobili *levain de premiere*. Nakon 6 - 7 h fermentacije i dodatka brašna i vode dobije se *levain de seconde*. Postupak dodavanja brašna i vode se ponavlja, a vrijeme fermentacije se skraćuje na 4- 5 h kako bi dobili *levain tout point*. Posljednji put se dodaje nova količina brašna i vode te prepušta fermentaciji u trajanju od 2 h. Opisani trostupanjski proces, *travail sur 3 levains*, je bio favoriziran u 17. stoljeću na području Francuske jer je osiguravao najbolju kvalitetu kruha. U 20. stoljeću, zbog zabrane rada po noći i smanjenog radnog vremena dolazi do potrebe za modifikacijom procesa proizvodnje pekarskih proizvoda. Nakon 1. svjetskog rata započinje industrijska proizvodnja kvasca na melasi koja zbog skraćenog vremena fermentacije od 30 min sve više zamjenjuje upotrebu kiselih tijesta. Već iza 1939. godine kruh od kiselog tijesta se mogao naći jedino na selu. Poslije 2. svjetskog rata, zbog procvata industrije pekarskog kvasca, kisela tijesta se više ne primjenjuju u pekarskoj proizvodnji. Od 1957. godine se prati smanjenje senzorske kvalitete kruha kao i sve veće nezadovoljstvo potrošača kvalitetom kruha. Godine 1980. na zahtjev potrošača za "ukusnim" i autentičnim kruhom, kisela tijesta se ponovno počinju primjenjivati u pekarstvu. Danas upotreba kiselih tijesta prevladava u zemljama Sjevera poput Finske, Švicarske, Poljske, Austrije, Njemačke... ali je primjena tradicijskih metoda u pekarstvu i u ostalim zemljama u kontinuiranom porastu.



### 3 Problematika konzumiranja žitarica

Od 195 000 biljnih vrsta koje je čovjek konzumirao, prehrana modernog čovjeka se svela na manje od 0.1 % odnosno manje od 300 biljnih vrsta. Otprilike 17 biljnih vrsta čine 90% prehranbenih zaliha čovječanstva, od kojeg najveći postotak čine žitarice. Osam žitarica: pšenica, kukuruz, riža, ječam, kineska šećerna trska (sorghum), zob, raž i proso pružaju 56 % kalorija i 50% proteina dobivenih iz hrane na Svjetskoj razini. Postalo je očito da su žitarice neizostavna prehranbena namirnica čovječanstva, stoga je ključno razumjeti nutritivne implikacije konzumacije žitarica na ljudsko zdravlje i blagostanje.

Od svojih početaka na Zemlji, svakako više od stotinu tisuća godina, Homo sapiens nije konzumirao žitarice (Eaton i sur., 1991). Niti Homo erectus, koji se pojavio prije 1,7 milijuna godina, nije konzumirao žitarice. Temelj prehrane Homo erectusa a kasnije i Homo sapiensa je bilo voće, povrće i meso divljih životinja. Pošto čovjek tek od prije otprilike 10.000 godina konzumira žitarice, evolucijski mehanizmi za metabolizam žitarica kod čovjeka se nisu stigli dovoljno razviti (Eaton i sur., 1985). Iz antropoloških istraživanja doznaje da kako uvođenje žitarica u prehranu u gotovo u svakom dijelu svijeta prate sljedeći fenomeni: porast smrtnosti novorođene djece, smanjenje životnog vijeka, porast infektivnih bolesti, porast anemije (Lallo i sur., 1977), porast osteomalacije, porodične hiperostoze i drugih koštano-mineralnih poremećaja kao i porast zubnih karijesa i deformacija cakline (Turner, 1979). Danas znamo za postojanje takozvanih antinutrijenata u žitarica koji tim biljkama prvenstveno služe obrani od biljojeda. Upravo su ti antinutrijenti razlog zbog kojeg su se žitarice za ljudsku prehranu morale podvrgavati različitim tretmanima. Prva znanja o predtretmanu žitarica predatičaju pisanu povijest. Međutim poznato je da su u ta drevna vremena korištene dvije metode. Jedna metoda će biti detaljno opisana u ovom radu, a bazira se na kiseljenju žitarica. Druga je pak zaluživanje odnosno kuhanje žitarica u alkalnoj otopini. Drevne Maje su kuhali kukuruz u vodenim otopinama sa pepelom u takozvanom procesu nikstamalizacije kako bi inaktivirali antinutrijente, mikotoksine i u konačnici dobili puno nutritivniji kukuruz (Sefa i sur., 2003).

Glavna uloga sekundarnih metabolita žitarica je obrana od biljojeda. Oni mogu biti toksični, antinutritivni i benigni - ovisno o fiziologiji konzumera. Životinjske vrste poput ptica, glodavaca i insekti su evolucijski naslijedili razne mehanizme neutralizacije sekundarnih metabolita žitarica

(Herms i sur.,1992). Kako čovječanstvo od početaka svoga razvoja na planeti Zemlji nije konzumiralo žitarice, nismo imali vremena u posljednjih 10.000 godina razviti mehanizme zaobilaznja problema koje izazivaju sekundarni metaboliti žitarica.

### **3.1 Nutritivni sastav žitarica**

Sve žitarice su značajno uskraćene određenim nutrijentima. Žitarice ne sadrže vitamin A, niti njegov metabolički prekursor- beta-karoten (izuzev žutog kukuruza). Iako su sve cjelovite žitarice dobar izvor vitamina B skupine, žitarice ne sadrže vitamina B12. Deficit vitamina B12 uzrokuje megaloblastičnu anemiju koja uzrokuje kognitivne disfunkcije kroz svoj ireverzibilan utjecaj na živčani sustav, što je posebno očito u zemljama čija se prehrana temelji na žitaricama i mahunarkama (Indija). Nadalje, biološka dostupnost ostalih vitamina B skupine je upitna i ovisi o načinu mljevenja i procesiranja žitarica prije konzumacije. Ironično je da dvije bolesti uzrokovane deficitom vitamin B skupine (beri beri i pellagra) su ekskluzivno povezani uz sredine koje su u povećoj mjeri konzumirali žitarice. Beri beri je bolest uzrokovana deficitom tiamina koja nastaje uslijed poliranja riže u zemljama Sjeverno istočne Azije. Poliranjem se uklanja vanjska ovojnica riže koja je bogata tiaminom. Proces poliranja riže je izazvao pandemiju 1800. g., a problem je riješen fortifikacijom niacina. Pelagra je bolest uzrokovana deficitom niacin i esencijalne aminokiseline- triptofan, te je isključivo povezana uz zemlje koje koriste kukuruz kao temelj prehrane. Države juga SAD-a su posebno bile pogođene epidemijom pelagre i procijenjeno je više od 100 000 smrtnih slučajeva u periodu od 1906-1940. g. Slične epidemije pelagre su se pojavile u Europi i Indiji, a u pojedinim predjelima Afrike, pellagra je i dalje učestala. Simptomi pelagre se gotovo momentalno povuku dodatkom niacin u prehranu oboljelih. Zanimljivo je da su analize sastava kukuruza pokazale adekvatne količine niacin i triptofana, međutim zbog visokog sadržaja antinutrijenata u kukuruzu, kao i u drugim žitaricama, ti nutrijenti su u većoj mjeri nedostupni. Poznato je da su žitarice dobar izvor željeza, kalcija, magnezija, cinka, mangana i bakra, međutim zbog visokog sadržaja fitinske kiseline ti nutrijenti su u većoj mjeri biološki nedostupni . Što se tiče proteinskog sastava, žitarice imaju sniženi udio esencijalnih aminokiselina leucina i treonina što se povezuje sa smanjenim rastom, gubitkom mišićne i tjelesne mase i

poremećenim imunološkim sustavom (Cordain, 1999), što je od posebnog značaja za zemlje čiji su temelj prehrane žitarice i mahunarke.

### 3.2 Sekundarni metaboliti žitarica

Alkilresorcinoli pripadaju skupini fenolnih spojeva koji se nalaze u vanjskim slojevima mekinja, a smatra se da pružaju rezistenciju od patogenih organizama za vrijeme faze mirovanja i germinacije žitarica. Poznato je da u životinja alkilresorcinoli smanjuju apetit (Sedllet i sur., 1984). U *in vitro* eksperimentima s ljudskim stanicama, pokazan je jak inflamacijski učinak alkilresorcinola pri digestiji proizvoda od cjelovitih žitarica. Nadalje, alkilresorcinol može imati potencijalno antimitogensku i antioksidativnu aktivnost (Kozubek i sur., 1995; Hengtrakul i sur., 1991).

Inhibitori proteaza su najčešće termo i acido rezistentni proteini koji inhibiraju aktivnost enzima esencijalnih u metabolizmu samih žitarica. Kunitz i Bowman-Birk su dva najbolje proučena inhibitora proteaza. Kuntz inhibitor specifično inhibira aktivnost tripsina u ljudskom probavnom traktu. Bowman-Birk inhibira aktivnost tripsina i kimotripsina. Inhibicija tripsina negativno utječe na regulaciju gušterače te može dovesti do nastanka raka (Liener i sur., 1988).

Fitinska kiselina ima mogućnost vezanja minerala (Fe, Ca, Mg, Zn, Mn, Cu) u čvrste, u vodi netopljive komplekse. Takvi kompleksi zatim mogu vezati druge proteine žitarica, čineći proteine i minerale biološki nedostupnim ljudskom organizmu. Dobro je poznata neizostavna uloga minerala na zdravlje ljudi. Istraživanja su pokazala da se kod populacije koja uzima više od 50% kalorija iz žitarica učestalo pojavljuju bolesti uzrokovane deficitom minerala. Bolesti poput osteomalacije, rahitisa, osteoporoze, anemije te mnogi drugi poremećaji uzrokovani su upravo deficitom minerala (Ford i sur., 1972).

Lektini - proteini koji posjeduju mnogostruka mjesta za vezanje s ugljikohidratima, te kao takvi stupaju u interakcije s velikim brojem stanica u tijelu smatraju se jednim od većih antinutrijenata u hrani (Pusztai i sur., 1991). Brojne biljne vrste poput: graha, graška, mrkve, krumpira, soje, trešnja, borovnica, klica pšenice, riža, kukuruz, češnjak, kikiriki, kakaovac, avocado, gljive, poriluk, brojni začini i orašidi sadrže lektine (Nachbar, 1980.). Najviše istraženi lektin je aglutinin

iz klice pšenice. U *in vitro* eksperimentima aglutinin se veže na receptorska mjesta sljedećih tkiva i organa: probavni trakt, gušterača, mišićno-skeletni sustav, bubrege, kožu, živčani sustav, mijelinska tkiva i reproduktivne organe (Freed i sur., 1991). Nadalje, aglutinin je termorezistentan i posjeduje otpornost na probavne enzime u ljudi (Brady i sur., 1978). Generalno djelovanje lektina je ometanje digestivnih i absorptivnih aktivnosti probavnog trakta što indirektno utječe na sastav bakterijske flore i u konačnici modulira imunološki odgovor (Pusztai i sur., 1993). Lektini ometanjem apsorpcije i transporta proteina, ugljikohidrata i vitamina utječu na dramatičan porast koliformnih bakterija, prvenstveno *E. coli*. Nadalje, lektini povećavaju permeabilnost tankog crijeva što omogućava prolaz nedegradiranih proteina u sistemsku cirkulaciju (Sjolander i sur., 1984). Nedegradirani proteini u sistemske cirkulaciji stupaju u interakcije s makrofagima izazivajući imunološke odgovore u organizmu ljudi (Pusztai i sur., 1993).

### **3.3 Autoimune bolesti i žitarice**

Autoimune bolesti se javljaju kada tijelo izgubi svoju sposobnost razlikovanja vlastitih proteina od stranih. Odgovor imunološkog sustava na strani protein jest inflamacija koja rezultira razaranjem okolnog tkiva. Poznato je da su žitarice uzrok najmanje dviju autoimunih bolesti: celijakija (O'Farrelly i sur., 1992) i dermatitis herpetiformis (Andersson i sur., 1992). U obje bolesti ključnu ulogu ima jedan od proteina koji formira gluten-glijadin. Glijadin sadrži aminokiselinsku sekvenciju homolognu onoj u E1B proteinu ljudskog adenovirusa. Sinergijskim djelovanjem lektina i drugih antinutrijenata, glijadin može ući u sistemsku cirkulaciju te zatim izazvati snažni imunološki odgovor u organizmu (Kagnof i sur., 1987). Postoje brojne studije koje ukazuju na vezu između konzumacije žitarica i mnogih drugih autoimunih bolesti poput reumatoidnog artritisa, multiple skleroze, Sjogrenovog sindroma i inzulinski ovisnog tipa dijabetesa (Fukazawa i sur., 1994; Shatin i sur., 1964). Slični mehanizmi alergenskog djelovanja žitarica su već dugo poznati među ljudima oboljelih od raznih psiholoških i neuroloških bolesti poput shizofrenije, epilepsije, bolesti degradacije centralnog živčanog sustava, demencije, periferne neuropatije, miopatije i autizma (Auricchio, 1997; Singh i sur., 1993; Dohan, 1966).

### 3.4 Problematika današnje pekarske industrije u Hrvatskoj

Glavnim problemom pekarstva današnjice se smatra upotreba monokulture kvasca *Sacharomyces cerevisiae* koji omogućuje kratku fermentaciju (30 minuta). Primarna uloga kvasca *S. cerevisiae* je proizvodnja plina CO<sub>2</sub> koji zatim omogućuje dizanje tijesta. U konačnici prekratka fermentacija i nemogućnost kvasca *S. cerevisiae* da neutralizira antinutrijente i alergene žitarica rezultira slabim nutritivnim i zdravstvenim vrijednostima pekarskih proizvoda, slabe arome i kratke trajnosti. Monokultura kvasca *S. cerevisiae* ne postoji u prirodi te kao takva spada u skupinu oportunističkih patogena i u posljednjih je 50 godina prepoznata kao čest uzročnik raznih fungemija, vaginitisa i infekcija organa (Llanos i sur., 2004).

Primarna aktivnost monokulture *S. cerevisiae* je proizvodnja etanola i CO<sub>2</sub>, što nema nikakav utjecaj na sekundarne metabolite žitarica. Još jedan od većih problema upotrebe kvasca *S. cerevisiae* je njegova nemogućnost fermentiranja tijesta s većim udjelom mekinja, zbog čega se današnja pekarska proizvodnja temelji na bijelom brašnu.

Pekarska industrija rješava navedene probleme upotrebom sve većih količina aditiva, što je u suprotnosti s novom strategijom prehrambene industrije i znanosti koja uvažava izravnu povezanost hrane i zdravlja potrošača te usmjerava na povratak tradicijskim metodama s kiselim tijestima u pekarskoj proizvodnji.

## **4 Tradicijske metode upotrebe kiselih tijesta u pekarstvu**

### **4.1 Duga tradicija kiselih tijesta**

Tradicijska proizvodnja kiselih tijesta postoji od drevnih vremena. Proizvodnja kruha od kiselog tijesta dio je kulturnog i geografskog identiteta mnogih zemalja. Proizvodnja takozvanog Artisan kruha je nezamisliva bez upotrebe kiselih tijesta koja omogućuju izradu raznovrsne palete superiornih pekarskih proizvoda produljene svježine i trajnosti. U Italiji se kisela tijesta koriste u proizvodnji više od 30% pekarskih proizvoda, koji uključuju nekoliko vrsta kruha (Ottogalli i sur., 1996). Na sjeveru Italije se proizvode i slastice od kiselog tijesta. Panettone i Pandoro su klasičan primjer slatkih kolača od kiselog tijesta koji se konzumiraju za Božić. Tradicijska talijanska pizza, razne grickalice za doručak ili uz kavu poput cornetta, pandorina i briocha su tipični proizvodi od kiselog tijesta. Zbog superiorne senzorske kvalitete i produljene trajnosti pekarskih proizvoda, kisela tijesta su se zadržala i doprinijela gastronomiji mnogih zemalja (De Vuyst i sur., 2005). Kisela tijesta imaju važnu ulogu u razvoju reoloških, nutritivnih i organoleptičkih svojstava, te produljuju svježinu i trajnost pekarskih proizvoda. Tradicijska proizvodnja kiselih tijesta je očuvana desetljećima, i to na način da se potrošena količina kiselog tijesta uvijek nadomjestila sa svježom količinom brašna i vode. Kisela tijesta su nezamjenjiva u proizvodnji raženog kruha. Raž za razliku od pšenice ne formira glutensku mrežu čija je uloga vezanje vode i plina. U raži ulogu zadržavanja vode i plina imaju pentozani čija se topivost i bubrenje povećava u kiselom mediju. Iako su tradicijske metode primjene kiselih tijesta u pekarstvu česte u zemljama poput Italije, Njemačke, Austrije, Španjolske i Francuske, u Hrvatskoj su te metode još uvijek u začecima.

### **4.2 Tradicijska proizvodnja kiselih tijesta**

Kisela tijesta su produkt prirodne fermentacije bakterija mliječne kiseline i divljih sojeva kvasaca, koja se dobije miješanjem brašna i vode koji se zatim prepuštaju prirodnoj fermentaciji nekoliko dana. Mjehurići plina CO<sub>2</sub> i ugodan miris najbolji su indikatori da smo dobili kiselo tijesto. U takvo kiselo tijesto se zatim dodaje nova količina brašna i vode, te se opet prepušta fermentaciji čija duljina ovisi o količini tijesta koju želimo proizvesti. Reproducibilnost i kontrola sastava i aktivnosti mikroflore kiselog tijesta je neophodna za zadržavanje konstantne kvalitete pekarskih proizvoda. Tradicijske pekarnice u svijetu koriste kontinuirani proces proizvodnje kiselog tijesta. Potrošena količina kiselog tijesta se osvježava novom ekvivalentnom količinom brašna i vode na

dnevnoj bazi. Na takav način se može zadržati konstantna kvaliteta kiselih tijesta kroz više desetljeća (Böckel i sur., 1990). Bez obzira na godišnje promjene mikrobiološkog sastava žitarica, mikroflora kiselih tijesta je pokazala nevjerojatnu otpornost na kontaminaciju potencijalnim patogenim mikroorganizmima iz žitarica i okoline (Luc De Vuyst i sur., 2005).

### **4.3 Mikrobiologija prirodnih kiselih tijesta**

Kisela tijesta su iznimno kompleksan biološki ekosustav s obzirom na mikrobiološki sastav te brojne interakcije sa sastojcima žitarica (Gobbeti, 1998).

Bakterije koje su inicijatori prirodne fermentacije već su prisutne na samim žitaricama. One uključuju gram-negativne anaerobne (*Pseudomonas*) i fakultativne anaerobe (*Enterobacteriaceae*) te gram - pozitivne bakterije mliječne kiseline (BMK); homofermentativne sojeve (*L. casei*, *L. coryniformis*, *L. curvatus*, *L. plantarum* *L. salivarius*), heterofermentativne sojeve (*L. brevis* i *L. fermentum*), homofermentativne koke (*E. faecalis*, *L. lactis*, *P. acidilactici*, *P. parvulus* *P. petosaceus*) i heterofermentativni koke (*Leuconostoc* i *Weissella*) te kvasce *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Sacharomyces* i *Sporobolomyces*. Kako je riječ o dinamičnoj ravnoteži bakterija i kvasaca, u tijestu mogu biti pronađene i mnoge druge neidentificirane vrste (De Vuyst i suradnici, 2002). Kada se brašno pomiješa s vodom, bakterije mliječne kiseline počinju metabolizirati fermentabilne ugljikohidrate te proizvoditi organske kiseline i mnogobrojne druge metabolite (alkohol, aldehide, estere...). Proizvodnja organskih kiselina, primarno mliječne i octene, je ključna za snižavanje pH medija iz nekoliko razloga. U početku proizvodnje prirodnog kiselog tijesta nizak pH je potreban kako bi se inaktivirali nepoželjni i potencijalni patogeni mikroorganizmi koji mogu biti prisutni na žitaricama i u okolini. Nadalje, nizak pH osigurava uvjete za formiranje miješane simbiotske kulture bakterija mliječne kiseline i divljih sojeva kvasaca u omjeru 100:1. Laktobakterije su odgovorne za neutralizaciju sekundarnih metabolita i alergena, poboljšanje okusa, mirisa i trajnosti pekarskog proizvoda, a divlji sojevi kvasca su odgovorni za dizanje tijesta.

### **4.4 Antibakterijska aktivnost kiselih tijesta**

Uz spojeve poput organskih kiselina, vodikovog peroksida i diacetila, bakterije mliječne kiseline iz kiselih tijesta mogu inhibirati druge nepoželjne mikroorganizme s proizvodnjom

antibakteriocina i mnogih drugih spojeva. Primjerice *Lactobacillus reuteri* proizvodi antibiotik niske molekularne mase reutericiklin (Höltzel i sur., 2000). Identificirani su i istraženi mnogi drugi antibiotici poput bavaricina, plantaricina i mnogi drugi inhibitorni spojevi slični bakteriocinima. Nadalje, potvrđeno je da svi navedeni antibiotici i bakteriocini sadrže termo i acido rezistenciju, te su se neki pokazali učinkovitima pri sprečavanju rasta poznatih patogenih sojeva *Bacillus*, *Staphylococcus* i *Listeria* spp. (Corsetti i sur., 2004).

#### **4.5 Antifungalna aktivnost kiselih tijesta**

Zahvaljujući velikoj potražnji potrošača za minimalno procesiranom hranom, do danas imamo veliki broj istraživanja o utjecaju antifungalne aktivnosti bakterija mliječne kiseline iz kiselog tijesta. Bakterije mliječne kiseline proizvode kapronsku, mliječnu, octenu, mravlju, butiričnu i valerijansku kiselinu koje sinergistički djeluju i inaktiviraju poznate uzročnike kvarenja hrane poput sojeva *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* i *Monilia* (Corsetti i sur., 1998).

#### **4.6 Utjecaj mikroflora kiselog tijesta na kvalitetu pekarskih proizvoda**

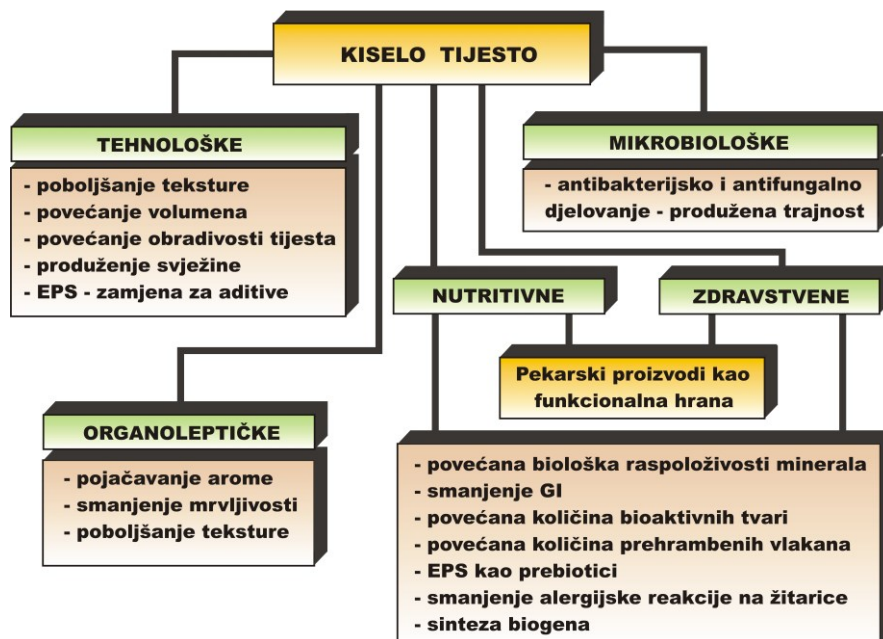
Kisela tijesta imaju inicijalni pH u rasponu 3.5-4.2 te njihovim doziranjem od 20% na ukupan udio brašna rezultira smanjenjem pH na 4.7-5.5. Snižen pH primarno djeluje na sastav glutena. Poveća se topivost i dolazi do bubrenja glutena što rezultira oslabljenom glutenskom mrežom. Ovako oslabljen gluten ima veći kapacitet za vezanje vode i CO<sub>2</sub> što rezultira boljim reološkim svojstvima tijesta. Tijesto ima povećanu obradivost i elastičnost te zahtijeva manje energije pri miješanju. Nadalje, zbog veće apsorpcije vode finalni proizvodi dulje ostaju svježiji (Collar i sur., 1994). S vremenom fermentacije pH kontinuirano pada što utječe na aktivnost enzima žitarica. Povećava se aktivnost proteinaza koje hidroliziraju proteine žitarica, primarno glutena, što rezultira smanjenjem alergijskih reakcija na gluten (Gobbetti i sur., 2006) te većim udjelom slobodnih aminokiselina koje su lakše probavljive i doprinose aromi finalnog proizvoda. Aktiviraju se fitaze koje hidroliziraju fitinsku kiselinu što rezultira većom biološkom dostupnosti minerala i proteina. Kisela sredina s pH<4 inaktivira djelovanje amilaza što rezultira povećanom svježinom i u konačnici sniženim glikemijskim indeksom finalnog proizvoda (Östman i sur., 2002). Nadalje, istraživanja su pokazala značajan porast polifenola u fermentiranim proizvodima sa kiselim tijestom (Carlo, 2010). Kisela tijesta omogućavaju proizvodnju kruha sa znatno većim sadržajem



mekinja (grubih ljuštura žitarica) koje su bogate vlaknima. Bakterije mliječne kiseline proizvode širok spektar metabolita koji povoljno utječu na organoleptička, nutritivna i zdravstvena svojstva pekarskih proizvoda. Spojevi poput raznih vrsta egzopolisaharida, glukana (reuteran, dekstran, mutan), fruktana (levan, inulin) te gluko-frukto-oligosaharida (Luc De Vuyst i sur., 2001). Egzopolizaharidi primarno djeluju na procese zadržavanja vode u tijestu što povoljno utječe na volumen, teksturu, svježinu i trajnost pekarskih proizvoda. U in vivo istraživanjima egzopolizaharidi pokazuju prebiotičko djelovanje (Tieking i Ganzle, 2005). Iako su istraživanja o utjecaju raznovrsnih metabolita bakterija mliječne kiseline na zdravlje ljudi još u ranoj fazi, potvrđeno je da se dekstran može razgraditi do propionske kiseline koja smanjuje razinu kolesterola i triglicerida (Jann i sur., 2006). Levan pokazuje širok raspon djelovanja na ljudsko zdravlje - antitumorsko (Yoon i sur., 2006) i imunostimulirajuće (Xu i sur., 2006), a potpomaže i metabolizam lipida (Yamamoto i sur., 1999). Istraživanja su pokazala značajan porast gama amino maslačne kiseline (GABA) u fermentiranim proizvodima sa kiselim tijestom. GABA je ne proteinska aminokiselina, koja sadrži dobro poznata fiziološka svojstva poput: sredstva za smirenje, neurotransmisije, induktora hipotenzije i diuretika. U kiselom tijestu nalazimo oko  $10^8$ - $10^9$  CFU/g, BMK, dok je broj divljih sojeva kvasaca  $10^6$ - $10^7$  CFU/g koji zbog svojeg proteinskog sastava predstavljaju visokonutritivnu komponentu prirodnih kiselih tijesta i proizvoda od istih. Nadalje, generalno je poznato da BMK proizvode visoki sadržaj vitamina B12 (cijanokobalamin), riboflavina, folne kiseline, niacina i piridoksina u fermentiranim proizvodima (Alm, 1982). Dobrobiti prirodno fermentiranih pekarskih proizvoda prikazani su na slici 1 i 2.



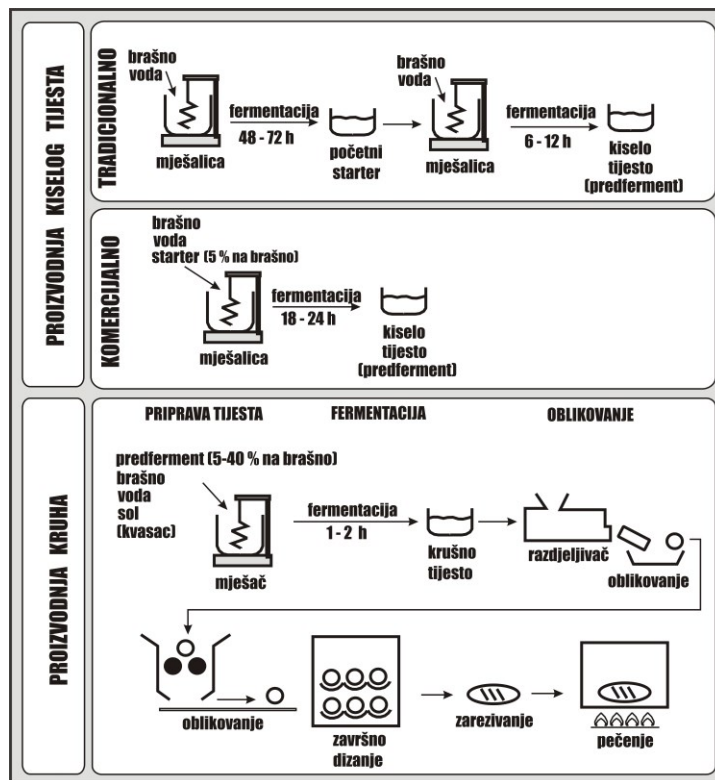
Slika 1. Dobrobiti prirodno fermentiranih proizvoda (vlastita fotografija)



Slika 2. Prednosti proizvodnje pekarskih proizvoda s dodatkom kiselog tijesta (Mrvčić i sur., 2011)

#### 4.7 Tehnološki procesi u pripremi kiselog tijesta

Postoji mnogo prijedloga za vođenje procesa kiseljenja tijesta. Ono se može proizvoditi ručno u plastičnim posudama ili posudama za zamjes, ili automatizirano u fermentoru, pri čemu iskorištenje tijesta mora iznositi minimalno 200. Za proizvodnju kiselog tijesta od raženog brašna najviše se primjenjuju višestupanjske metode, od kojih je najčešća trostupanjska, dok se pšenična kisela tijesta proizvode u jednostupanjskom, a vrlo rijetko u dvostupanjskom ili višestupanjskom procesu. Kiselo tijesto može se proizvoditi tradicionalno spontanom fermentacijom ili uz dodatak komercijalnih startera, od kojih je prvi komercijalno dostupan starter („Böcker Reinzuchtsauerteig“) proizveden još 1910. godine. Komercijalni starteri obavezno sadrže jednu ili više vrsta BMK, a mogu sadržavati i određene vrste kvasaca. Na slici 3 prikazana je opća shema proizvodnje kiselog tijesta i kruha uz dodatak kiselog tijesta, a pekarski proizvodi od brašna cijelovitih žitarica sa dodatkom prirodnog kiselog tijesta na slici 4.



Slika 3. Opća shema proizvodnje kiselog tijesta i kruha uz dodatak kiselog tijesta (Mrvčić i sur., 2011)



Slika 4. Pekarski proizvodi proizvedeni od brašna cijelovitih žitarica sa dodatkom prirodnog kiselog tijesta (vlastita fotografija)

## 5 Zaključak

Primjena prirodnih kiselih tijesta je visokoučinkovita i ekonomski isplativa metoda za postizanje sigurnosti, kvalitete i trajnosti proizvoda od žitarica. Tehnologija prirodnih kiselih tijesta je nusproizvod prirode, čija primjena na nikakav način nije štetna za okoliš. Potrebno je razmotriti primjenu prirodnih kiselih tijesta u proizvodnji funkcionalnih slastica, tjestenine i raznih drugih proizvoda od žitarica. Iako drevna, tehnologija fermentacije s prirodnim kiselim tijestom sadrži enorman potencijal u proizvodnji funkcionalne hrane. Izražena kiselost takvih proizvoda se pokazala ne adekvatnom za većinu Hrvatskih potrošača. Stoga je u sljedećim radovima potrebno eksperimentalno odrediti optimalne uvijete kontroliranog vođenja fermentacije u svrhu dobivanja funkcionalnih proizvoda sa sniženim udjelom octene kiseline.

## 6 Literatura

Alm, A.L. (1982) Effect of fermentation on B-vitamin content of milk in Sweden. *J Dairy Sci.* **65**, 353–359.

Andersson, A.H., Mobacken, M.H. (1992) Dietary treatment of dermatitis herpetiformis. *Eur. J. Clin. Nutr.* **46**, 309–315.

Auricchio, A.S. (1997) Gluten sensitivity and neurological illness. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **25**, S7–S8.

Brady, B.P.G., Vannier, V.A.M., Banwell, B.J.G. (1978) Identification of the dietary lectin, wheat germ agglutinin, in human intestinal contents. *Gastroenterol.* **75**, 236–239.

Cordain, L.C. (1999) Cereal Grains: Humanity's Double-Edged Sword- Evolutionary Aspects of Nutrition and Health. *World Rev. Nutr. Diet.* **84**, 19–73.

Corsetti, C.A., Gobbetti, G.M., Rossi, R.J., Damiani, D.P. (1998) Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: Identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **50**, 253–256.

Corsetti, C.A., Settanni, S.L., Van Sinderen, V.S.D. (2004). Characterization of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) from sourdough lactic acid bacteria and evaluation of their in vitro and in situ activity. *J. Appl. Microbiol.* **96**, 521–534.

Dohan, J.F.C. (1966) Wheat consumption and hospital admissions for schizophrenia during World War II. *Am. J. Clin. Nutr.* **18**, 7–10.

Eaton, E.S.B., Konner, K.M. (1985) Paleolithic nutrition a consideration of its nature and current implications. *N. Engl. J. Med.* **312**, 283–289.

Eaton, E.S.B., Konner, K.M., Shostak, S.M. (1988) Stone agers in the fast lane: Chronic degenerative diseases in evolutionary perspective. *Am. J. Med.* **84**, 739–749

Ford, F.J.A., Colhoun, C.E.M., McIntosh, M.W.B., Dunnigan, D.M.G. (1972) Biochemical response of late rickets and osteomalacia to a chupatty-free diet. *Br. Med. J.* **2**, 446–447.

Freed, F.D.L.J. (1991) Lectins in food: Their importance in health and disease. *J Nutr. Med.* **2**, 45–64.

Fukazawa, F.R., Seki, S.T., Kamisage, K.M., Watanabe, V.M., Ogawa, O.S., Yuge, Y.K., Hirayama, H.T. (1994) A Ro/SS-A autoantibody positive mother's infant revealed congenital complete atrioventricular block, followed by insulin dependent diabetes mellitus and multiple organ failure. *Acta. Paediatr. Jpn.* **36**, 427–430.

Gobbetti, M.G. (1998) The sourdough microflora: Interactions of lactic acid bacteria and yeasts. *Trends Food Sci. Technol.* **7**, 267–274.

Grba, S. (2010) Kvasci u biotehnološkoj proizvodnji. *PLEJADA d.o.o*, Zagreb.

Hermes, H.D.A., Mattson, M.W.J. (1992) The dilemma of plants: To grow or defend. *Quart. Rev. Biol.* **67**, 283–335.

Kagnoff, K.M.F., Paterson, P.Y.J., Kumar, K.P.J., Kasarda, K.D.D., Carbone, C.F.R., Unsworth, U.D.J., Austin, A.R.K. (1987) Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease. *Gut.* **28**, 995–1001.

Kozubek, K.A., Nienartowicz, N.B. (1995) Cereal grain resorcinolic lipids inhibit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced peroxidation of biological membranes. *Acta. Biochem. Pol.* **42**, 309–315.

Lallo, L.J.W., Armelagos, A.G.J., Mensforth, M.R.P. (1977) The role of diet, disease, and physiology in the origin of porotic hyperostosis. *Human Biol.* **49**, 471–473.

Liener, L.I.E., Goodale, G.R.L., Deshmukh, D.A., Satterberg, S.T.L. (1988) Effect of a trypsin inhibitor from soybeans (Bowman-Birk) on the secretory activity of the human pancreas. *Gastroenterol.* **94**, 419–427.

Llanos, L.D.R., Querol, G.A., Planes, P.A.M., Fernandez-Espinar, F.P.M.T. (2004) Molecular characterization of clinical *Saccharomyces cerevisiae* isolates and their association with non-clinical strains. *Syst. Appl. Microbiol.* **27**, 35-427.

Lock, L.R.J., Tengah, T.D.P., Williams, W.A.J., Ward, W.J.J., Bingley, B.P.J., Wills, W.A.J., Unsworth, U.D.J. (2006) Cerebellar ataxia, peripheral neuropathy, "gluten sensitivity" and anti-neuronal autoantibodies. *Clin. Lab.* **52**, 589-592.

Mrvčić J., Mikelec K., Stanzer D., Križanović S., Bačun-Dužina V., Stehlik-Tomas V. (2011) Sourdough - Traditional Methods for Improving Quality of Bakery Products, *Croatian Journal of Food technology, Biotechnology and Nutrition*, **6**, 89-99.

Nachbar, N.M.S., Oppenheim, O.J.D. (1980) Lectins in the United States diet: a survey of lectins in commonly consumed foods and a review of the literature. *Am. J. Clin. Nutr.* **33**, 2338–2345.

O'Farrelly, O.C., Gallagher, G.R.B. (1992) Intestinal gluten sensitivity: Snapshots of an unusual autoimmune-like disease. *Immun. Today* **13**, 474–476.

Östman, Ö.E.M., Liljeberg, L.H.G. M., Björck, B.E., Björck, B.I.M.E. (2002) Barley Bread Containing Lactic Acid Improves Glucose Tolerance at a Subsequent Meal in Healthy Men and Women. *J. Nutr.* **132**, 1173-1175.

Ottogalli G., Galli A., Foschino R. (1996) Italian bakery products obtained with sour dough : Characterization of the typical microflora. *Adv. Food Sci.* **18**, 131-144.



Pusztai, P.A., Ewen, E.-S.W.B., Grant, G.G., Brown, B.D.S., Stewart, S.J.C., Peumans, P.W.J., Van Damme, V.D.E.J.M., Bardocz B.S. (1993) Antinutritive effects of wheat-germ agglutinin and other N-acetylglucosamine-specific lectins. *Br. J. Nutr.* **70**, 313–321.

Rizzello, C. G., Cassone, A., Di Cagno, R., & Gobbetti, M. (2008) Synthesis of angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) during sourdough fermentation by selected lactic acid bacteria. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 6936–6943.

Rodney, R.P.K.F. (2009) The gluten syndrome: A neurological disease. *Med. Hypo.* **73**, 438–440.

Sefa, S.D.S., Cornelius, C.B., Dawson, S.D.E., Afoakw, A.O.E. (2004) Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize. *Food Chem.* **86**, 317–324.

Sedlet, S.K., Mathias, M.M., Lorenz, L.K. (1984) Growth depressing effects of 5-n-pentadecylresorcinol: A model for cereal alkylresorcinols. *Cereal Chem.* **61**, 239–241.

Shatin, S.R. (1964) Preliminary report of the treatment of rheumatoid arthritis with high protein gluten-free diet and supplements. *Med. J. Aust.* **2**, 169–172.

Singh, S.V.K., Warren, W.R.P., O'Dell, O.J.D., Warren, W.W.L., Cole, C.P. (1993) Antibodies to myelin basic protein in children with autistic behavior. *Brain Behav. Immun.* **7**, 97–103.

Sjolander, S.A., Magnusson, M.K.E., Latkovic, L.S. (1984) The effect of concanavalin A and wheat germ agglutinin on the ultrastructure and permeability of rat intestine. *Int. Archs. Allergy. Appl. Immun.* **75**, 230–236.

Turner, T.C.G. (1979) Dental anthropological indications of agriculture among the Jomon people of central Japan. *Am. J. Phys. Anthropol.* **51**, 619–636.

Vuyst, V.L.D. and Neysens, N.P. (2005) The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends Food Sci. Technol.* **16**, 43–56.