

# **Svojstva kvalitete pogače s dodatkom ječmenog ili zobenog brašna prethodno obrađenog pulsirajućim električnim poljem**

---

**Novak, Martina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*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/um:nbn:hr:159:888877>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-06-28**



prehrambeno  
biotehnološki  
fakultet

*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

## DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2023.

Martina Novak

**SVOJSTVA KVALITETE POGAČE  
S DODATKOM JEČMENOG ILI  
ZOBENOG BRAŠNA PRETHODNO  
OBRAĐENOGL PULSIRAJUĆIM  
ELEKTRIČNIM POLJEM**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju žitarica na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Dubravke Novotni te uz pomoć mag. ing. Tomislave Grgić, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.



FLAT BREAD MINE



**PRIMA**  
PARTNERSHIP FOR RESEARCH AND INNOVATION  
IN THE MEDITERRANEAN AREA

Rad je izrađen u sklopu projekta Flat Bread of Mediterranean area: INnovation & Emerging process & technology (Flat Bread Mine), PRIMA programa broj 2031, financiranog iz fondova Europske Unije unutar programa istraživanja i razvoja Horizon 2020, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Dubravke Novotni kao glavnog istraživača s PBF-a.

*The research for this thesis was carried out as a part of the project Flat Bread of Mediterranean area: INnovation & Emerging Process & Technology (Flat Bread Mine), funded under the PRIMA program under grant agreement No. 2031. Integrated into Horizon 2020, the European Union's Framework Programme for Research and Innovation, the PRIMA program is an Art. 185 initiative supported by EU funds.*

*The results and content found in this thesis reflect only the author's view. Any use of the information contained within is not the responsibility of PRIMA Foundation.*

## **ZAHVALA**

*Prije svega, srdačno se zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Dubravki Novotni na pruženoj prilici i pomoći kod pisanja rada, ali i tijekom cijelog akademskog obrazovanja, na njenoj dostupnosti, izrazitoj strpljivosti i susretljivosti. Zahvaljujem se i asistentici Tomislavi Grgić, mag. ing. na pomoći u provođenju eksperimentalnog dijela rada, prenesenom znanju i otvorenosti za sva pitanja.*

*Hvala svima koji su me tijekom svih ovih godina podržali na bilo koji način, a najveća hvala mojim roditeljima koji su vjerovali u mene čak i kad ja sama nisam i koji su uvijek bili dodatan vjetar u leđa u lijepim trenucima, ali i najveća podrška u onim lošim.*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

**Diplomski rad**

**Sveučilište u Zagrebu**

**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

**Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo**

**Laboratorij za kemiju i tehnologiju žitarica**

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Diplomski sveučilišni studij:** Prehrambeno inženjerstvo

**SVOJSTVA KVALITETE POGAČE S DODATKOM JEČMENOG ILI ZOBENOG BRAŠNA  
PRETHODNO OBRAĐENOGL PULSIRAJUĆIM ELEKTRIČNIM POLJEM**

*Martina Novak, univ. bacc. ing. techn. aliment.  
0058213805*

**Sažetak:** Potražnja za nutritivno vrijednim proizvodima se povećava, a zadatak pekarske i ostale prehrambene industrije je prilagoditi se težnjama potrošača. Jedan od načina kojima se tanak kruh može obogatiti  $\beta$ -glukanima, vrijednim prehrambenim vlaknima, je zamjena pšeničnog brašna ječmenim ili zobenim. No, djelovanjem  $\beta$ -glukanaze, prirodno prisutnog enzima koji razgrađuje  $\beta$ -glukane, se smanjuje njihovo fiziološko djelovanje, ali dobivaju poželjna tehnološka svojstva. Cilj ovog rada bio je ispitati primjenu pulsirajućeg električnog polja (PEP) na aktivnost  $\beta$ -glukanaze iz zabenog i ječmenog brašna te razviti tanak kruh zamjenom 30 % pšeničnog brašna ječmenim ili zobenim, nativnim ili PEP-om obrađenim. Djelovanjem PEP-a, aktivnost  $\beta$ -glukanaze se smanjila za 46,24 % u ječmenom i 76,48 % u zabenom brašnu. Djelomična zamjena pšeničnog ječmenim ili zobenim brašnom rezultirala je promjenama u reološkim svojstvima tijesta u vidu agregacije glutena i želatinizacije škroba kao i u kvaliteti kruha što se najviše očitavalo smanjenjem specifičnog volumena, ali i tvrdoće i žvakljivosti ječmene pogače.

**Ključne riječi:**  $\beta$ -glukan, pulsirajuće električno polje, tanki kruh, ječmeno brašno, zobeno brašno

**Rad sadrži:** 53 stranice, 9 slika, 8 tablica, 84 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Dubravka Novotni

**Pomoć pri izradi:** Tomislava Grgić, mag. ing

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. izv. prof. dr. sc. Nikolina Čukelj Mustač
2. izv. prof. dr. sc. Dubravka Novotni
3. izv. prof. dr. sc. Tomislava Vukušić Pavičić
4. doc. dr. sc. Marko Obranović (zamjenski član)

**Datum obrane:** 28. rujna 2023.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Department of Food Engineering**  
**Laboratory for Cereal Chemistry and Technology**

**Scientific area:** Biotechnical Sciences  
**Scientific field:** Food Technology

**Graduate university study programme:** Food Engineering

QUALITY PROPERTIES OF FLATBREAD ENRICHED WITH PULSED ELECTRIC FIELD PRE-TREATED BARLEY OR OAT FLOUR

*Martina Novak, univ. bacc. ing. techn. aliment.*  
0058213805

**Abstract:** Nowadays, consumers demand nutritionally valuable products, and the food industry tends to meet those expectations. By replacing wheat with barley or oat flour, flatbreads can become more nutritious with  $\beta$ -glucans. However, the activity of the naturally occurring enzyme  $\beta$ -glucanase reduces their physiological effects but also provides desirable technological properties of the product. This thesis aimed to examine the impact of a pulsed electric field (PEF) on  $\beta$ -glucanase activity in oat and barley flour and to develop flatbread by substituting 30 % of wheat with barley or oat flour, either native or PEF-treated. PEF treatment reduced the activity of  $\beta$ -glucanase by 46.24 % in barley and 76.48 % in oat flour. Partial substitution of wheat flour affected gluten aggregation and starch gelatinization of the dough, as well as the quality of the bread by reducing its specific volume, but also the hardness and chewiness of the barley flatbread.

**Keywords:**  $\beta$ -glucan, pulsed electric field, flatbread, barley flour, oat flour

**Thesis contains:** 53 pages, 9 figures, 8 tables, 84 references

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) form is deposited in:** The Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

**Mentor:** Dubravka Novotni, PhD, Assistant professor

**Technical support and assistance:** Tomislava Grgić, MSc

**Reviewers:**

1. Nikolina Čukelj Mustač, PhD, Associate professor
2. Dubravka Novotni, PhD, Associate professor
3. Tomislava Vukušić Pavičić, PhD, Associate professor
4. Marko Obranović, PhD, Assistant professor (substitute)

**Thesis defended:** September 28<sup>th</sup>, 2023

## SADRŽAJ:

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO.....</b>	<b>3</b>
2.1.ŽITARICE .....	3
2.1.1. Pšenica.....	3
2.1.2. Ječam.....	4
2.1.3. Zob.....	4
2.2.β-GLUKANI.....	5
2.2.1. Funkcionalna svojstva β-glukana.....	6
2.2.2. β-glukanaza.....	8
2.3.PULSIRAJUĆE ELEKTRIČNO POLJE.....	9
2.4.TANAK KRUH.....	12
2.4.1. Miješanje.....	13
2.4.2. Dijeljenje i oblikovanje tijesta.....	14
2.4.3. Fermentacija.....	14
2.4.4. Pečenje.....	15
2.4.5. Hlađenje.....	16
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>17</b>
3.1.MATERIJALI.....	17
3.2.METODE RADA.....	18
3.2.1. Priprema brašna za obradu pulsirajućim električnim poljem.....	18
3.2.2. Obrada pulsirajućim električnim poljem.....	18
3.2.3. Određivanje prisutnosti enzima β-glukanaze i β-glukana prisutnih u uzorcima brašna.....	18
3.2.4. Određivanje reoloških svojstava tijesta.....	21
3.2.4.1.Određivanje agregacijskog ponašanja glutena.....	21
3.2.4.2.Određivanje svojstva želatinizacije škroba.....	22
3.2.4.3.Određivanje metode upijanja vode farinografom.....	23
3.2.4.4.Određivanje reoloških svojstava tijesta.....	23
3.2.5. Postupak proizvodnje tankoga kruha.....	24

3.2.6. Određivanje svojstava kvalitete kruha.....	25
3.2.7. Obrada podataka.....	27
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>28</b>
4.1. AKTIVNOST ENZIMA $\beta$ -GLUKANAZE I SADRŽAJ $\beta$ -GLUKANA.....	29
4.2. REOLOŠKA SVOJSTVA TIJESTA.....	30
4.2.1. Agregacijsko ponašanje glutena.....	30
4.2.2. Svojstva želatinizacije škroba.....	31
4.2.3. Reološka svojstva tijesta.....	33
4.3. SVOJSTVA KVALITETE KRUHA.....	36
4.3.1. Vizualni izgled i boja.....	36
4.3.2. Specifični volumen, gubitak mase pečenjem i oblik kruha.....	40
4.3.3. Tekstura.....	43
<b>5. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>46</b>
<b>6. LITERATURA.....</b>	<b>47</b>

## 1. UVOD

Primarna uloga prehrambenih proizvoda je osigurati dovoljno hranjivih tvari za zadovoljenje metaboličkih potreba, a istovremeno pružiti potrošaču osjećaj zadovoljstva. Ipak, današnje spoznaje podupiru hipotezu da, osim što služi za zadovoljavanje prehrambenih potreba, hrana može izmijeniti različite funkcije u tijelu te posljedično imati štetnu ili zaštitnu ulogu prilikom pojave određenih bolesti (Roberfroid, 2000). Radi lake dostupnosti informacija te sve većeg interesa i sve brojnijih zahtjeva za uvođenjem nutritivno vrijednih sastojaka u svakodnevnu prehranu, a sa što manjim utjecajem na okoliš, nužne su promjene u prehrambenoj industriji. Jedna od prvih industrija koja doživljava ovu promjenu je pekarska, budući da kruh, ali i ostali pekarski proizvodi čine osnovnu hranu u većini zemalja svijeta. U posljednje vrijeme povećanje migracijskih tokova kao i potraga za autentičnim i praktičnim namirnicama doveli su do povećanja proizvodnje tankih kruhova, proizvoda čije podrijetlo seže u drevnu prošlost i koji se zapravo smatraju prvom prerađenom hranom. Razlog tome je lakša tehnologija proizvodnje i pogodniji transport, ali i mogućnost izrade kvalitetnog proizvoda ne samo od pšeničnog, već i od brašna dobivenog iz drugih žitarica. Također, radi fleksibilnosti i praktičnosti tankog kruha, sve je popularnije i njegovo obogaćivanje sastojcima koji djeluju pozitivno na zdravlje (Garzon i sur., 2022; Pasqualone, 2018; Ibrahim i sur., 2015).

Žitarice kao što su ječam i zob posjeduju niz vrijednih bioaktivnih spojeva kojima se prehrambeni proizvodi mogu nutritivno obogatiti (Shvachko i sur. 2021). U te vrijedne spojeve ubrajaju se prehrambena vlakna, osobito  $\beta$ -glukan (Wrigley, 2010), topljivo prehrambeno vlakno čiji je unos povezan s brojnim blagotvornim utjecajima na zdravlje. Prvenstveno, redoviti unos  $\beta$ -glukana pomaže pri raznim kardiovaskularnim bolestima, a posljedično i smanjenju LDL kolesterola, hipertenzije i pretilosti (Othman i sur., 2021). Što se tiče sadržaja  $\beta$ -glukana u kruhu i ostalim pekarskim proizvodima, proizvodni procesi kao što su fermentacija ili toplinska obrada rezultiraju intenzivnom razgradnjom ovog vlakna što je ponajviše uzrokovan djelovanjem enzima  $\beta$ -glukanaze (Wrigley, 2010). Prema tome, kako bi se sačuvala što veća količina  $\beta$ -glukana veće molekulske mase, potrebno je odabrat metodu koja će inhibirati ili barem smanjiti aktivnost spomenutog enzima. Pulsirajuće električno polje je nova tehnologija koja se ponajprije razvija u svrhu redukcije i inaktivacije nepoželjnih mikroorganizama. Osim toga, djeluje i na trodimenzionalnu strukturu enzima, a samim time i njihovu aktivnost pa je praktična i za sprječavanje nepoželjnih učinaka enzima u hrani (Naliyadhara i sur., 2022; Toepfl i sur., 2005).

S druge strane, povećana koncentracija  $\beta$ -glukana, iako je s nutritivne strane izuzetno poželjna, dovodi do promjena u reološkim svojstvima tijesta prvenstveno zbog ometanja hidratacije glutena i škroba, što posljedično može dovesti do nepoželjnog, i s tehnološke strane, manje kvalitetnog proizvoda (Garzon i sur., 2022; Andrzej i sur., 2019).

Stoga je cilj ovog rada bio razviti tanak kruh s dodatkom ječmenog, odnosno zobenog brašna prethodno obrađenog pulsirajućim električnim poljem u svrhu smanjenja aktivnosti  $\beta$ -glukanaze i povećanja nutritivne vrijednosti, ali bez ugrožavanja tehnološke kvalitete pogače kao jedne od najpoznatije vrste tankog kruha u Hrvatskoj.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. ŽITARICE

Žitarice su vrste biljaka koje pripadaju porodici trava (lat. *Poaceae*), a u koju se svrstavaju: pšenica (uključujući khorasan i krupnik/pir), zob, ječam, raž, riža, kukuruz, sirak, proso, tritordeum i pšenoraž (tritikale), a uz to i heljda iz porodice dvornika (lat. *Polygonaceae*) (Pravilnik, 2022). Smatraju se jednim od najvažnijih izvora energije i vrlo važnim izvorom proteina u prehrani ljudi, a uz to su i nužan dio ishrane životinja, ali i industrijske prerade. Potrebe potrošača se pritom mogu zadovoljiti jedino upravljanjem kvalitetom u svim dijelovima lanca, od uzgoja, preko proizvodnje, žetve i skladištenja te naponsljeku prerade u hranu namijenjenu ljudima i stočnu hranu (Wrigley, 2010). Preradom se dobivaju proizvodi koji su namijenjeni za daljnju proizvodnju i/ili krajnje potrošače, a ovisno o sastavu, osobinama, namjeni i vrsti tehnološkog procesa se dijele na: mlinске proizvode (u koje se ubraja brašno), gotove proizvode od žitarica, mješavine za pekarske proizvode, zatim pekarske proizvode, tjesterinu, tijesto i proizvode od tijesta (u koje se između ostalog svrstava i kruh) te fine pekarske i srodne proizvode (Pravilnik, 2022).

#### 2.1.1. Pšenica

Pšenica se smatra jednom od prvih kultiviranih biljaka te s energetskog i nutritivnog stajališta jednom od esencijalnih sirovina ljudske prehrane. S tehnološke je strane jedinstvena žitarica radi sposobnosti stvaranja proteinske viskoelastične mase glutena iz skladišnih proteina zrna pšenice, a samim time je i najpopularniji i najučinkovitiji izvor brašna za proizvodnju različitih vrsta kruhova i ostalih pekarskih proizvoda (uključujući kolače i čajna peciva), tjesterinu, ali i raznu drugu procesiranu hranu (Shewry, 2009; Wrigley, 2010). Spomenuti skladišni proteini, točnije glutenin i gliadin, osim što čine najveći udio proteina pšenice, stvaranjem glutenske mreže određuju i funkcionalna svojstva brašna, tijesta te naponsljeku i samog proizvoda. Najpogodnija svojstva tijesta se postižu odgovarajućim omjerom glutenina koji osigurava čvrstoću i elastičnost te glijadina, proteina odgovornog za viskoznost i rastezljivost. Ipak, ugljikohidrati su tvari koje u najvećem dijelu (otprilike 85 %) sačinjavaju zrno svih žitarica, pa tako i pšenice, a prvenstveno je to škrob koji se smatra glavnim izvorom ugljikohidrata, a samim time i energije u ljudskoj prehrani. Sadržaj proteina i ugljikohidrata varira te tzv. meka pšenica sadrži više škroba i manje proteina nego li tvrda pšenica, a čime se zapravo definira i namjena pojedinih vrsta pšenice. Prema tome, meka pšenica s najmanjim udjelom proteina se upotrebljava ponajprije za proizvodnju kolača i čajnih peciva, tvrda je

najpogodnija za izradu kruha, dok je ona s najvećim udjelom proteina (tzv. durum pšenica) optimalna u pripremi tjestenine. Od manje zastupljenih tvari koje čine zrno žitarica, ističu se lipidi koji prilikom procesiranja stupaju u interakcije s glutenom. Također, pšenica je i izvor mikronutrijenata uključujući vitamina E, vitamina B kompleksa, karotenoida te minerala kao što su željezo, cink i magnezij te elemenata u tragovima.

### 2.1.2. Ječam

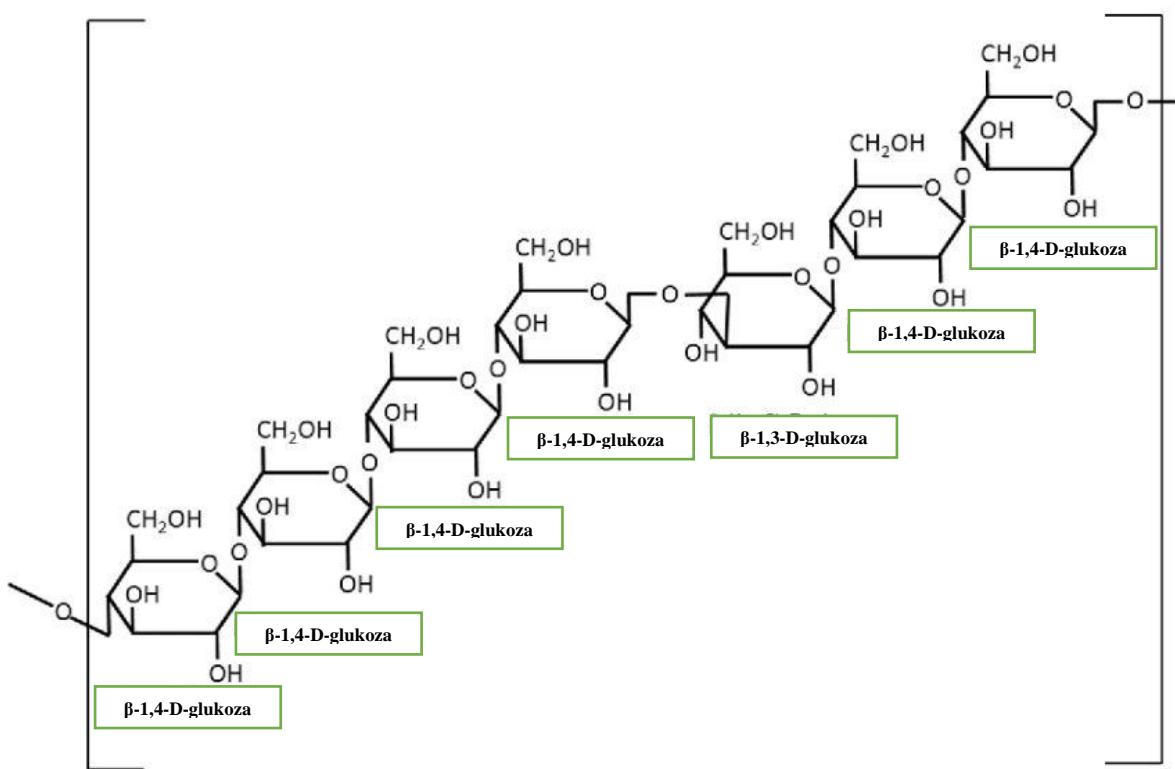
Ječam posjeduje sposobnost rasta u različitim uvjetima što doprinosi pojavi varijabilnosti u njegovoј kvaliteti, a rezultat toga su i mnogobrojne primjene ove sirovine. Ekonomski najznačajnija isporuka ječma je pivarskoj industriji, točnije u proizvodnji slada. Međutim, radi njihovih vrlo visokih zahtjeva u pogledu kvalitete, primjenjuje se i u druge najčešće neprehrambene, ali i prehrambene svrhe. Kao hrana se uglavnom upotrebljava u tradicionalne namjene, ali radi njegove izuzetne nutritivne vrijednosti pojavljuje se sve veći interes potrošača za uvođenjem proizvoda koji sadrže ječam u svakodnevnu prehranu. Uz to, smatra se da djeluje blagotvorno na zdravlje budući da je kao i zob bogat izvor  $\beta$ -glukana, a također i jedina žitarica koja sadrži svih 8 oblika vitamina E od kojih su najznačajniji tokotrienoli i tokoferoli za koje je opće poznato da djeluju antioksidativno te da pridonose u smanjenju razine LDL kolesterola (Wrigley, 2010; Baik i Ullrich, 2008).

### 2.1.3. Zob

Iako pšenica, ječam i zob imaju slična tkiva i fiziološke procese u zrnu, zob je u usporedbi s ostalim spomenutim žitaricama strukturno i kemijski jedinstvena. Proteini čine i do 18 % zrna zobi s boljim balansom aminokiselina, posebice lizina koji je u žitaricama limitirajuća aminokiselina, a čija je koncentracija u odnosu na pšenicu ili ječam i do dvostruko veća. Nadalje, pšenicu i ječam tvore škrobne granule jednostavnije strukture nego li zob koja osim toga sadrži i više lipida. Zob je žitarica koja se smatra prirodnom funkcionalnom hranom budući da je se povezuje s nizom zdravstvenih dobrobiti. Klinički je dokazano da uvođenje zobi i proizvoda od zobi utječe na smanjenje razine LDL kolesterola, a također smanjuje rizik od nastanka kardiovaskularnih bolesti te pruža osjećaj sitosti čime pomaže u kontroli tjelesne težine zahvaljujući prisutnom  $\beta$ -glukanu te antioksidansima koji osim tokoferola, tokotrienola, fenolne kiseline i drugih spojeva koji se nalaze u žitaricama, uključuju i avenantramide, grupu antioksidanasa jedinstvenu za zob (Wrigley, 2010).

## 2.2. $\beta$ -GLUKANI

Zahvaljujući svojoj biološkoj aktivnosti te pozitivnim učincima na zdravlje, interes i potražnja potrošača za proizvodima koji sadrže složene polisaharide neprestance raste. Jedni od najznačajnijih spomenutih složenih polisaharida su  $\beta$ -glukani, topljiva prehrambena vlakna široko zastupljena u žitaricama (ponajprije u zobi i ječmu), kvascima, gljivama, morskim algama i nekim bakterijama. Ovisno o izvoru,  $\beta$ -glukani se molekularno i struktorno razlikuju što u konačnici određuje i njihovu funkcionalnu aktivnost. Prema tome,  $\beta$ -glukani iz žitarica se karakteriziraju kao hidrofilni bioaktivni neškrobeni polisaharidi koji čine linearni nerazgranati lanac sastavljen od D-glukopiranozilnih jedinica povezanih  $\beta$ -1,3 i  $\beta$ -1,4 vezama s time da je niz od najčešće trimernih i tetramernih oligomernih celuloznih segmenata u kojem su jedinice povezane  $\beta$ -1,4 vezama prekinut jednostrukim  $\beta$ -1,3 vezama (Slika 1). Ovisno o omjeru tri-naprema tetramerima, količini dužih celuloznih oligomernih segmenata i omjeru  $\beta$ -1,4 naprema  $\beta$ -1,3 vezama, određena su i njihova funkcionalna svojstva kao što su viskoznost, topljivost u vodi, svojstva želiranja te u konačnici i fiziološko djelovanje u gastrointestinalnom traktu, a njihovom inkorporacijom u hranu i konačna tekstura, reologija i senzorska svojstva prehrabnenih proizvoda (Kaur i sur., 2019; Du i sur., 2019; Lazaridou i Biliaderis, 2007).



Slika 1. Molekularna struktura (1,3)(1,4)- $\beta$ -D-glukana žitarica (prema Jacob i Pescatore, 2014)

Radi spomenutih se svojstava u prehrambenoj industriji upotrebljavaju u mnogobrojne svrhe. Najčešće se primjenjuju kao zgušnjivači, ali se koriste i u druge namjene te služe, primjerice, kao aditivi u pripremi smrznutih slastica tako da poboljšavaju teksturu kolača ili pomažu pri zadržavanju oblika sladoleda. Nadalje, u mesnoj industriji služe kao djelomična zamjena za mast, a također se koriste i kao sredstva za želiranje. Osim toga, mogu se primijeniti i kao komponente u pripremi jestivih filmova kojima se oblažu proizvodi. Još jedna sve popularnija primjena  $\beta$ -glukana je i u formuliranju niskokaloričnih i manje masnih proizvoda uključujući proizvode poput preljeva za salate, mlijeka, jogurta ili sira (Caseiro i sur., 2022). Pored ostalog,  $\beta$ -glukani se također primjenjuju kao stabilizatori i emulgatori prilikom pripreme pjena i emulzija (Murphy i sur., 2021).

Što se tiče ugradnje  $\beta$ -glukana u pšenični kruh i ostale pekarske proizvode, osim što djeluje pozitivno na nutritivna svojstva kruha,  $\beta$ -glukan kao hidrokoloid povoljno utječe i na kvalitetu kruha u smislu produljenja njegova roka trajanja budući da hidratacija svojstva hidrokoloida pridonose očuvanju poželjne čvrstoće te sprječavanju dehidratacije prilikom skladištenja (Kurek i sur. 2015). Najčešće se povećanje udjela  $\beta$ -glukana u kruhu i ostalim pekarskim proizvodima postiže zamjenom pšeničnog brašna zobenim ili ječmenim, ali samo djelomičnom radi očuvanja tehnoloških karakteristika koje pruža pšenično brašno. Vezano uz tehnološka svojstva, iako  $\beta$ -glukani djeluju pozitivno na nutritivna svojstva kruha, s druge strane također ograničavaju upotrebu zobenog i ječmenog brašna radi značajnog utjecaja na tvorbu glutenske mreže. Naime, slaba glutenska mreža dovodi do ranog pucanja mjehurića zraka što dovodi do slabog širenja tijesta u procesu fermentacije, a u konačnici utječe i na svojstva samog kruha (Cao i sur., 2023). Vezano uz to, količina vode koju je potrebno dodati u zamjes se povećava ukoliko se pšenično brašno mijenja zobenim ili ječmenim što utječe i na reološka svojstva tijesta u vidu promjena u viskoznosti i viskoelastičnosti radi sposobnosti  $\beta$ -glukana da formira gel. Posljedično tome, dolazi do promjene i u svojstvima gotovog kruha, od čega je najizraženije smanjenje volumena kruha i promjene u tvrdoći što može dovesti do proizvodnje tehnološki nepoželjnog i manje kvalitetnog proizvoda (Andrzej i sur., 2019).

### 2.2.1. Funkcionalna svojstva $\beta$ -glukana

Kao što je već spomenuto, unos  $\beta$ -glukana povezan je s korisnim zdravstvenim ishodima. Blagotvorni utjecaji svakodnevnog korištenja  $\beta$ -glukana podrijetlom iz zobi ili ječma su ponajprije povezani sa smanjenjem koncentracije LDL i ukupnog kolesterola u krvi, a posljedično i rizikom od nastanka koronarne bolesti srca. Prema zaključcima donesenim od

strane EFSA-inog povjerenstva o prehrani, novoj hrani i alergenima u hrani (NDA), kako bi se postigao navedeni učinak, potrebno je u uravnateženu prehranu na dnevnoj osnovi uključiti barem 3 g  $\beta$ -glukana podrijetlom iz zobi ili ječma (EFSA, 2011a; EFSA, 2010). Sam utjecaj  $\beta$ -glukana na smanjenje kolesterola u krvi je najvjerojatnije posredovan stvaranjem viskoznog sloja u tankom crijevu koji potom inhibira intestinalni unos kolesterola iz hrane te reapsorpciju žučne kiseline u jetru. To dovodi do povećanja sinteze žučne kiseline iz kolesterola, a posljedično i do smanjenja razine cirkulacije LDL kolesterola (Othman i sur., 2011). Visoka viskoznost  $\beta$ -glukana je također odgovorna i za smanjenje postprandijalne razine glukoze u krvi. Naime, povećanim unosom prehrambenih vlakana smanjuje se miješanje himusa s probavnim enzimima u želucu, usporava se probava škroba i apsorpcija glukoze u crijevima i odgađa pražnjenje želuca čime se povećava osjećaj sitosti što dovodi do smanjenog unosa hrane. Ukupno, ovi učinci pridonose smanjenju glikemijskog odgovora (Schlörmann i Glei, 2017), a EFSA-ino povjerenstvo o prehrani, novoj hrani i alergenima u hrani smatra da bi za postizanje navedenog učinka po obroku trebalo unijeti 4 g  $\beta$ -glukana podrijetlom iz zobi ili ječma na svakih 30 g dostupnih ugljikohidrata (EFSA, 2011b).

Nadalje,  $\beta$ -glukan ima ulogu u jačanju imuniteta te se povezuje s antimikrobnom, antioksidativnom i protuupalnom aktivnošću, a također je identificiran kao antagonist u borbi protiv tumora, osobito ako je izoliran iz određenih izvora, ponajprije gljiva (Kaur i sur., 2019; Du i sur., 2019). Uz to,  $\beta$ -glukan radi svojih antioksidativnih svojstava doprinosi kako očuvanju tako i poboljšanju izgleda i zdravlja kože, ali pritom ima ulogu i u zacjeljivanju rana i u borbi protiv bora, a također pomaže i u održavanju hidratacije kože i zaštiti od ultraljubičastog zračenja (Jayachandran i sur., 2018). Osim navedenih pozitivnih djelovanja na ljudski organizam, unos  $\beta$ -glukana djeluje korisno i na crijevnu mikrobiotu. Naime, djeluje stimulirajuće na rast i aktivnost prirodne mikroflore što dovodi do poboljšanja cjelovitosti crijeva i zaštite od štetnih patogenih mikroorganizama, odnosno djeluje prebiotički (Jayachandran i sur., 2018). Djelovanje  $\beta$ -glukana u gastrointestinalnom traktu je povezano s njegovom molekularnom masom, strukturom i interakcijom s drugim komponentama iz hrane. Pritom se distribucija molekularne mase mijenja procesiranjem hrane. Na primjeru zobi, sirova zob, zobena kaša i žitarice za doručak sadrže netaknuti oblik  $\beta$ -glukana visoke molekularne mase, dok proizvodni procesi kao što su fermentacija ili pečenje rezultiraju opsežnom razgradnjom  $\beta$ -glukana što dovodi do smanjenja distribucije molekularne težine čime se smanjuje i njegova učinkovitost (Wrigley, 2010).

## 2.2.2. $\beta$ -glukanaza

Razgradnja  $\beta$ -glukana prilikom procesiranja je ponajviše vezana uz djelovanje enzima  $\beta$ -glukanaze, glikozidne hidrolaze koja katalizira razgradnju  $\beta$ -1,3-D- i, u nekim slučajevima,  $\beta$ -1,4-D-glikozidnih veza u linearnim ili djelomično razgranatim glukanima (Caseiro i sur., 2022; Wrigley, 2010). Spomenuti enzimi su široko rasprostranjeni među mnogim organizmima u prirodi i pritom su uključeni u njihove raznolike fiziološke procese uključujući proizvodnju energije, staničnu remodelaciju i rast, obranu od fungalnih patogena, klijanje sjemena, probavu i reprodukciju. Radi sposobnosti  $\beta$ -glukanaza da hidroliziraju  $\beta$ -glukane do manjih oligosaharida, ili čak glukoze, upotrebljavaju se i u razne biotehnološke primjene te mogu služiti na primjer kao: sredstva za biološku kontrolu protiv patogenih gljivica u raznovrsnim usjevima, ekološki i energetski učinkovitija alternativa klasičnim kemijskim metodama u pretvorbi lignocelulozne biomase u fermentabilne šećere potrebne za proizvodnju bioetanola, sredstva za bistrenje u vinarstvu, a u pivarstvu služe kao sredstva pomoću kojih se sprječava nakupljanje ječmenih  $\beta$ -glukana. U pivarstvu je nakupljanje  $\beta$ -glukana iznimno nepoželjno budući da njihovo prisustvo uzrokuje povećanje viskoznosti što izaziva brojne tehnološke probleme tijekom procesa proizvodnje uključujući smanjenu mogućnost odvajanja sladovine i filtracije piva, ali i stvaranje gelova, zamućenja i taloga (Caseiro i sur., 2022).

Kao što je već i spomenuto,  $\beta$ -glukanaza sudjeluje u razgradnji  $\beta$ -glukana prilikom procesa proizvodnje kruha što uvelike smanjuje njegovu nutritivnu vrijednost. Ipak, spomenuti enzim utječe pozitivno na tehnološka svojstva i kvalitetu tjestova i kruha upravo radi sposobnosti depolimerizacije  $\beta$ -glukana. Naime,  $\beta$ -glukanaza svojom aktivnošću doprinosi mekoći i elastičnosti tjestova, što posljedično dovodi do poboljšanja svojstava kruha, točnije povećanja volumena i elastičnosti te smanjenja čvrstoće kruha, a napoljetku i do veće prihvatljivosti od strane potrošača (Li i sur., 2014). Međutim, sve većom težnjom potrošača za poboljšanjem nutritivne vrijednosti proizvoda, razvijaju se načini i procesi koji pridonose što manjem gubitku vrijednih tvari unutar proizvoda. Za inaktivaciju  $\beta$ -glukanaze, a posljedično i manjem gubitku  $\beta$ -glukana u brašnu, mogu se koristiti metode koje uključuju refluksiju etanola, mikrovalnu obradu, autoklaviranje, vrenje, obradu u pećnici ili dodavanje soli organskih kiselina – kalijeva sorbata, natrijeva benzoata ili kalcijeva propionata. Međutim, navedene metode podrazumijevaju toplinsku ili kemijsku obradu što se može negativno odraziti na tehnološka svojstva brašna, senzorska svojstva, a posljedično i na prihvatljivost krajnjeg proizvoda od strane potrošača (Grgić i sur. 2023). Stoga je za inaktivaciju  $\beta$ -glukanaze u svrhu očuvanja što većeg sadržaja  $\beta$ -glukana u brašnu potreban razvoj novih metoda, a kao jedna od mogućih je obrada netoplinskim tehnologijama u nastajanju.

### **2.3. PULSIRAJUĆE ELEKTRIČNO POLJE**

Sve veća potražnja potrošača za hranom visoke nutritivne vrijednosti je dovela do razvoja blagih procesa i alternativa koje poboljšavaju ili pak zamjenjuju tradicionalne tehnike konzerviranja hrane, odnosno inaktivacije neželjenih mikroorganizama i nepoželjnih enzima u proizvodima. U nove tehnologije obrade hrane se, između ostalog, ubraja i pulsirajuće električno polje (eng. Pulsed electric field – PEF), metoda netoplinskog konzerviranja tekućih i polutekućih sirovina i produkata koja uz pomoć napona pruža mogućnost inaktivacije enzima i proizvodnju mikrobiološki sigurne hrane, a da usprkos tome ne dolazi do značajnih gubitaka nutritivno vrijednih tvari i poželjnih senzorskih i fizikalno-kemijskih svojstava (Naliyadhara i sur., 2022; Toepfl i sur., 2005). Iako postoji više načina primjene električnog polja na hranu, uporaba pulsirajućeg električnog polja (PEP-a) uključuje kontinuiranu primjenu visokog napona raspona od 10 do 80 kV/cm u kratkim intervalima u trajanju od nekoliko nanosekundi do nekoliko mikrosekundi na čestice hrane smještene između dvije elektrode (Vanga i sur., 2021). Ključne komponente koje su pritom neophodne za obradu pulsirajućim električnim poljem su sustav generatora impulsa i komora za tretiranje u kojoj se hrana obrađuje pulsevima električnog polja. Ona se sastoji od najmanje dvije elektrode, od toga jedne visokonaponske te druge elektrode uzemljenja, s tim da su one odvojene izolacijskim materijalom. Samo pulsirajuće električno polje se postiže sustavom modulacije pulsa kojim se istosmjerna struja niske razine napona pretvara u pulsirajuće električno polje visokog intenziteta uz pomoć kondenzatora povezanih paralelno ili serijski što napisljetu rezultira njihovo pražnjenje energije u obliku pulseva visokog napona. Napon nabijanja koji je potreban za stvaranje pulseva električnog polja potrebne jakosti je pritom ovisan o udaljenosti između elektroda (Režek-Jambrak, 2009). Naime, poveća li se udaljenost između elektroda, potrebno je i povećanje napona kako bi se postigao veći kapacitet strujanja što je opisano i jednadžbom:

$$E = \frac{U}{d} \quad [1]$$

u kojoj E predstavlja jakost električnog polja, U napon, dok d označava udaljenost između elektroda.

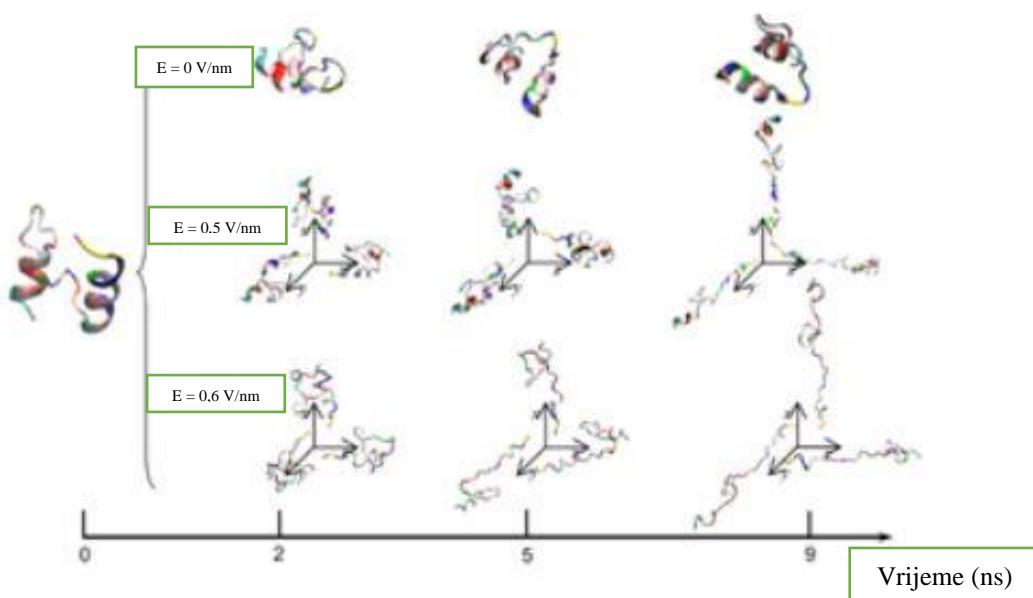
Obrada hrane PEP-om dovodi do netermičke elektroplazmolize materijala u stanicu, a rezultat toga je povećana permeabilnost stanične stijenke. Elektropermeabilizacija povećava poroznost, difuziju, električnu provodljivost i koeficijente prijenosa topline i mase. Prvenstveno se hrana obrađuje PEP-om radi redukcije i inaktivacije mikroorganizama (Vanga i sur., 2021). Vezano uz to, općenito je prihvaćeno da je primarni učinak PEP-a na biološke stanice povezan

s lokalnim strukturnim promjenama i razgradnjom stanične polupropusne membrane koja ostvaruje bitnu ulogu u prijenosu mase, ali i u sintezi RNA i DNA, proteina i komponenti stanične stijenke kao i mnogim drugim složenim metaboličkim aktivnostima. Izlaganjem pulsevima električnog polja najprije dolazi do destabilizacije lipidno-proteinskog međusloja staničnih stijenki koje potom postaju propusne za male molekule što dovodi do bubrenja, a naposljetu i razaranja stanične strukture s posljedicom inaktivacije nepoželjnih mikroorganizama (Režek Jambrak, 2009; Toepfl i sur., 2005; Lebovka i sur., 2002; Angersbach i sur., 1999; Knorr i Angersbach, 1998).

Iako je najviše istraživana i prvenstvena namjena pulsirajućeg električnog polja inaktivacija mikroorganizama, ova metoda se može primijeniti i za modifikaciju strukture i funkcionalnih svojstava proteina pa samim time i enzima, tercijarno strukturnih proteina koji djeluju kao biološki katalizatori (Ohshima i sur., 2021; Vanga i sur., 2021). Glavni mehanizam kojim tretman električnim poljem djeluje na proteine nije do kraja razjašnjen, ali smatra se da polarne skupine proteina apsorbiraju energiju prilikom obrade PEP-om i stvaraju slobodne radikale. Slobodni radikali potom utječu na intramolekularne interakcije unutar proteinskih molekula pritom uključujući hidrofobne i elektrostatske interakcije, vodikove veze, disulfidne i solne mostove. Štoviše, obrada PEP-om može dovesti i do promjene naboja proteina usred modifikacije njihovih ionskih interakcija (Taha i sur., 2022). Rezultat toga je promjena u trodimenzionalnim strukturnim elementima, točnije tercijarnoj i sekundarnoj ( $\alpha$ -uzvojnica i  $\beta$ -nabranu ploču) strukturi proteina koja je važna za aktivnost enzima, ali igra i vrlo važnu ulogu u njihovoj stabilnosti. Prema tome, primjena ove metode se može upotrijebiti u različite svrhe koje uključuju poticanje enzimske hidrolize proteina, aktivaciju ili inaktivaciju određenih enzima, poboljšanje biološke aktivnosti peptida te poboljšanje tehnoloških i funkcionalnih svojstava proteina uključujući svojstva topljivosti, geliranja, emulgacije i pjenjenja (Sanchez-Reinoso i sur., 2022).

PEP-om se na sekundarnu i tercijarnu strukturu proteina pritom može utjecati na dva glavna načina. Prvi način uključuje izravno razmatanje proteinske strukture uslijed djelovanja elektrostaticke vlačne sile uzrokovane jakim električnim poljem s time da se povećanjem jakosti električnog polja, ubrzava i razmotavanje strukture (Slika 2). Drugi način uključuje razmatanje proteinske strukture uslijed djelovanja električnog polja niske jakosti s dugim vremenom izlaganja (Ohshima i sur., 2021). Što se tiče enzima, stupanj njihove inaktivacije PEP-om je određen brojnim parametrima procesa uključujući jakost električnog polja i vrijeme tretmana,

a uz njih još i širinu i broj impulsa, temperaturu, frekvenciju i polarnost polja. Općenito, ukoliko se održava vrijeme tretmana i drugi parametri, stupanj inaktivacije enzima raste s povećanjem jakosti električnog polja. Osim procesnih parametara, na stupanj inaktivacije aktivnosti enzima utječe i sama osjetljivost enzima što pak ovisi o samoj proteinskoj strukturi enzima i koncentraciji enzima, ali i karakteristikama medija u kojem je protein suspendiran pritom uključujući električnu vodljivost, pH i sastav medija, ali i samu temperaturu medija (Martin-Belloso i Elez-Martínez, 2005).



**Slika 2.** Utjecaj jakosti električnog polja E i vremena djelovanja na strukturu proteina (*prema Ohshima i sur., 2021*)

Zaključno, ako obrada pulsirajućim električnim poljem utječe na prirodnu strukturu enzima, a posljedično i na promjene u aktivnosti, metode obrade PEP-om su praktične za sprječavanje neželjenih učinaka enzima u brojnim prehrambenim proizvodima (Martin-Belloso i Elez-Martínez, 2005) te radi toga pružaju i mogući potencijal u povećanju nutritivne vrijednosti pekarskih proizvoda.

## **2.4. TANAK KRUH**

Kruh se diljem svijeta smatra osnovnom namirnicom u prehrani, a ovisno o sastojcima i načinima pripreme razlikuju se brojne vrste s time da svaku od njih opisuju određeni oblici i karakteristike (Cauvain, 2015; Ćurić i sur., 2014). Tanki kruhovi su jedni od najstarijih krušnih proizvoda koji iako su drevnog podrijetla se proizvode i danas. Štoviše, njihova proizvodnja je prešla iz tradicionalne u komercijalnu mehaničku, a potražnja i potrošnja je diljem svijeta u neprestanom porastu prije svega zahvaljujući fleksibilnosti prilikom proizvodnog procesa i transporta, ali i mogućnosti prilagođavanja sastojaka što se ponajprije odnosi na miješanje ili zamjenu pšeničnog brašna nekim drugim, nutritivno kvalitetnijim brašnom. Iako se u tanke kruhove ubrajaju brojne vrste međusobno različitih krajnjih proizvoda, svi su prepoznatljivi po tome što su relativno tanki, debljine od nekoliko milimetara pa do najviše nekoliko centimetara (Boukid, 2022; Garzon i sur., 2022; Pasqualone i sur., 2022). Kvalitetu kako štruce kruha većeg volumena tako i tankog kruha pritom određuju ponajprije kvaliteta i količina korištenih sirovina, njihovo međudjelovanje i metode obrade tijesta. Osnovne sirovine su brašno, i to najčešće bijelo ili polubijelo pšenično brašno, potom voda, kvasac i sol (Cauvain, 2015). Budući da je stvaranje glutena esencijalna komponenta u procesu proizvodnje kruha i određenih vrsta tankog kruha, konačna kvaliteta uvelike ovisi i o samoj kvaliteti pšenice, odnosno brašna dobivenog njenim mljevenjem. U suštini, što je veći sadržaj proteina u pšenici, to je veći sadržaj i u brašnu proizvedenim od njega, a time je i njegova sposobnost hvatanja i zadržavanja ugljikova dioksida tijekom fermentacije bolja (Pasqualone 2018; Hackenberg i sur., 2017; Cauvain, 2012). S druge strane, bijelo pšenično brašno s nutritivnog stajališta ima određene nedostatke koji se nastoje ublažiti, a jedan od načina je upotreba alternativnih brašna, primjerice, brašna dobivenog od ječma ili zobi (Pourafshar i sur., 2015).

Drugi neophodni sastojak u procesu proizvodnje kruha je voda, a zajedno s brašnom utječe na stvaranje glutenske mreže. Svojstva tijesta prema tome uvelike ovise o njenoj količini. Ako je u zamjes dodan premali volumen vode, tijesto će biti prečvrsto i teško za oblikovanje, a krajnji proizvod će biti malog volumena i neadekvatnog vanjskog, ali i unutarnjeg izgleda, odnosno poroznosti (Hackenberg i sur., 2017; Cauvain, 2012). U suprotnom, ako tijesto sadržava previše vode, bit će mekano i teško će zadržavati oblik, a krajnji proizvod će biti loše kvalitete. Optimalna količina vode ponajprije ovisi o svojstvima i kvaliteti upotrijebljenog brašna (Baukid, 2022), a to je zapravo maksimalna količina vode koja se može dodati u zamjes, a da tijesto pritom bude podložno oblikovanju i da se naposljetu dobije proizvod prihvatljive kvalitete (Hackenberg i sur., 2017).

Nadalje, za proces fermentacije, odnosno proizvodnje ugljikova dioksida je prvenstveno zaslužna prisutnost pekarskog kvasca (lat. *Saccharomyces cerevisiae*) (Cauvain, 2012). Budući da pekarski kvasac u procesu proizvodnje tankog kruha nije obavezan sastojak, njegov dodatak u zamjes ovisi o željenoj vrsti konačnog proizvoda te se na temelju toga tanki kruhovi mogu podijeliti na kvasne i beskvasne (Baukid, 2022).

Što se tiče soli, osnovna uloga ovog sastojka je doprinos u razvoju okusa prihvatljivog od strane potrošača. Uz to, djeluje inhibirajuće na prebrzi razvoj glutena prilikom miješanja sastojaka s time da se inhibirajući učinak povećava smanjenjem brzine miješalice.

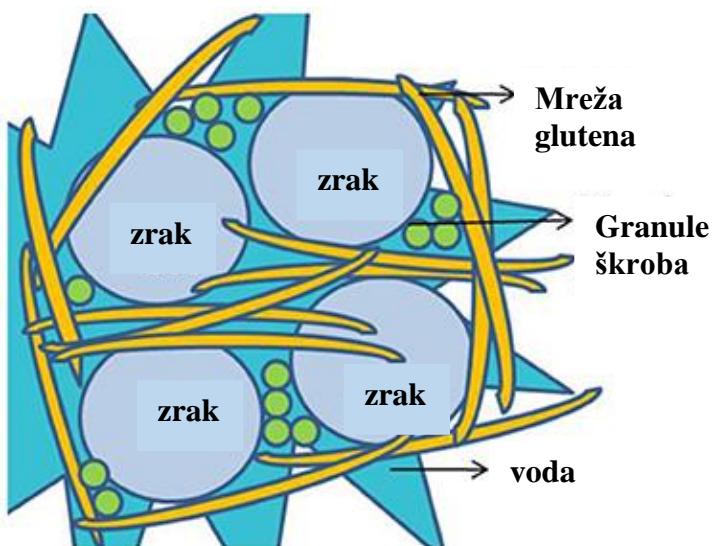
Osim spomenutih sastojaka, u zamjes se često dodaje i neka vrsta pekarske masnoće u svrhu poboljšanja zadržavanja plinova u tijestu, a posljedično i poboljšanja volumena i mekoće krajnjeg proizvoda. Količina masnoće koja se pritom dodaje ponajprije ovisi o tipu brašna koji se upotrebljava.

Koraci u proizvodnji tankog kruha se ne razlikuju od onih za dobivanje kruhova većih volumena te nakon odabira sastojaka i određivanja njihove optimalne koncentracije slijedi miješanje sastojaka, odnosno tijesta, a nakon toga procesi dijeljenja i oblikovanja te dizanja tijesta, a u konačnici i pečenje oblikovanih komada tijesta do nastanka konačnog proizvoda, tj. tankog kruha te njegovo hlađenje (Pasqualone 2018; Cauvain, 2012).

#### 2.4.1. Miješanje

Najbitnije uloge miješanja s ciljem formiranja strukture tijesta su homogenizacija sastojaka, inkorporacija zraka te stvaranje glutenske mreže. Naime, prilikom miješanja brašna i vode, komponente brašna, od toga prvenstveno nativni i amorfni proteini glutena i amorfni nekristalni dijelovi škroba, apsorbiraju vodu. Koncentracija vode je u takvom hidratiziranom brašnu dovoljna da omogući mobilnost solubiliziranih i hidratiziranih molekula. Mehanička sila koja je pritom primijenjena uzrokuje promjene koje su djelomično, ali ne i potpuno reverzibilne uslijed uklanjanja spomenute sile budući da tijesto u nastajanju pohranjuje dio utrošene mehaničke energije kao elastično potencijalnu. Kako bi se mreža glutena mogla početi stvarati, potrebno je da brzina miješanja i mehanička energija budu iznad određene vrijednosti što ovisi o vrsti miješalice, sastavu brašna i ostalim sastojcima. S druge strane, ukoliko se primjeni energija veća od optimalne, tijesto postaje vlažnije te se počinje lijepiti na stijenke posude u kojoj se nalazi, a uz to opada i sposobnost zadržavanja plinova što znači da operacija miješanja ima utjecaj na reologiju tijesta. Štoviše, proizvodnja definirane stanične strukture pečenog proizvoda u potpunosti ovisi o stvaranju mjehurića plina tijekom miješanja tijesta još u tekućoj fazi te njihovom zadržavanju i podjeli na manje mjehuriće čime se povećava njihov broj uslijed

daljnje obrade (dijeljenja i oblikovanja). Ugljikov dioksid proizveden kasnije fermentacijom tijesta difundira u njih te uzrokuje ekspanziju mjeđurića tijekom dizanja, a posljedično utječe i na teksturu gotovog proizvoda (Ćurić i sur., 2014). Nadalje, stvaranjem glutenske mreže, granule škroba se omotavaju u matricu te je radi barijere glutena oko granula škroba (Slika 3) želatinizacija odgođena, a kompetitivna hidratacija škroba i glutena smanjuje samu snagu želatinizacije. Kasnije, nakon što se želatinizacija u dalnjim procesima ipak odvije, granule škroba sudjeluju u konačnoj stabilizaciji glutenske mreže (Wang i sur., 2021). Nakon miješanja slijedi operacija odmaranja tijesta, a potom dijeljenje i oblikovanje tijesta.



**Slika 3.** Ilustrativni prikaz djelovanja nastale glutenske mreže na položaj škrobnih granula i mjeđurića plina (*prema Goel i sur., 2021*)

#### 2.4.2. Dijeljenje i oblikovanje tijesta

Kako bi se dobio željeni oblik i veličina proizvoda, tijesto se najprije dijeli na pojedinačne komade koji se potom oblikuju. Pri tome, uspješnost dijeljenja ovisi o homogenosti tijesta koje pak je uvelike određeno rasporedom mjeđurića plina budući da konstantna gustoća duž cijelog tijesta sastavljenog od mjeđurića jednake veličine i ravnomjerne raspodjele napoljetku rezultira preciznijim dijeljenjem. U razdoblju između dijeljenja i konačnog oblikovanja, tijesto se može podleći još jednoj operaciji odmaranja čije trajanje ovisi o reologiji tijesta potrebnoj za konačno oblikovanje s time da što tijesto duže odmara, veće su promjene u njegovoj reologiji. Naime, potrebno je da tijesto ima malu minimalnu elastičnost te malu otpornost na deformacije budući da ono koje pokazuje veću sposobnost elastičnosti i smanjenu rastezljivost je podložnije oštećenjima prilikom dijeljenja i oblikovanja što je posljedica neadekvatnog određivanja količine vode koja se dodaje u operaciji miješanja s brašnom. U fazi konačnog

oblikovanja tijesto poprima oblik koji odgovara konačnom proizvodu.

#### 2.4.3. Fermentacija

Oblikovano tijesto se prije samog pečenja podliježe procesu fermentacije kako bi se njegova struktura povećavala na zadovoljavajući volumen pri čemu parametri temperature i relativne vlažnosti zraka moraju biti optimalni za aktivnost pekarskog kvasca. Tijekom ovog procesa škrob podrijetlom iz brašna se djelovanjem enzima postupno razgrađuje u dekstrin i šećere koje potom kvasac pretvara u alkohol i ugljikov dioksid koji difundira u mjeđuriće plina uzrokujući njihov rast i posljedično ekspanziju tijesta (Ćurić i sur., 2014). Nakon fermentacije, u procesu proizvodnje tankog kruha sačinjenog od jednog sloja, a dobivenog iz dizanog tijesta, slijedi pritiskanje tijesta vrhovima prstiju ili bušenje kako bi se sprječilo pretjerano širenje u pećnici, ali i u dekorativne svrhe (Pasqualone, 2018).

#### 2.4.4. Pečenje

Tijekom pečenja odvija se niz fizičkih, bioloških i kemijskih promjena kao što su povećanje volumena, isparavanje vode, denaturacija proteina, želatinizacija škroba, stvaranje porozne strukture i korice, odnosno dobiva se gotovi proizvod, a pritom temperatura pri kojoj se vrši ovaj proces ovisi o peći, ali i o samom krajnjem proizvodu (Ćurić i sur., 2014). Za dobivanje tankog kruha, temperatura pri kojoj se odvija pečenje je veća u odnosu na kruhove većeg volumena, a vrijeme izlaganja proizvoda visokoj temperaturi je kraće (Gocmen i sur., 2009). Početak želatinizacije intaktnih granula pšeničnog škroba prilikom pečenja određuje receptura, mada započinje na otprilike  $60^{\circ}\text{C}$  i u početku granule škroba apsorbiraju svu slobodnu vodu u tijestu. U tijestu zapravo nema dovoljno slobodne količine vode za potpunu želatinizaciju škroba pa će voda prelaziti s proteinских membrana na škrob prilikom pečenja. Na samu želatinizaciju škroba, osim stupnja oštećenog škroba nastalog tijekom mljevenja, utječe i aktivnost enzima prilikom pečenja (Cauvain, 2015). Proizvodnja ugljikova dioksida od strane kvasca se pritom odvija povećanom brzinom sve do njegove inaktivacije na temperaturi od otprilike  $55^{\circ}\text{C}$ . Potom radi povećanja tlaka usred povišene temperature, mjeđurići plina pucaju pri čemu se oslobođa ugljikov dioksid što čini poroznu strukturu kontinuiranom i otvorenijom prema vanjskoj strani kruha. Tijekom pečenja stvara se i korica sačinjena od osušenog škrobnog gela s dispergiranim komponentama proteina i lipida koja sprječava daljnje širenje tijesta. Stvaranje korice i posmeđivanje kruha tijekom pečenja su zapravo glavni čimbenici koji doprinose formiranju konačnog okusa kruha budući da viša temperatura i smanjenje sadržaja vode radi evaporacije aktiviraju neenzimske reakcije posmeđivanja pritom uključujući

Maillardove reakcije i karamelizaciju. Karamelizacijom dekstrina nastalih od škrobne paste koja želatinizira radi kondenzacije pare na površini kruha se napoljetku dobiva i poželjna boja i sjaj korice. Kako bi se ovaj proces izvršio optimalno, na početku pečenja se dodatno u pećnicu uvodi para (Ćurić i sur., 2014).

#### 2.4.5. Hlađenje

Nakon provedenog procesa pečenja, slijedi i hlađenje dobivenog proizvoda, a pritom su dva različita mehanizma uključena u ovaj postupak. Prvi uključuje prijenos topline, uglavnom konvekcijom u okolni zrak, ali također radijacijom i kondukcijom do strukture uređaja za hlađenje. Drugi način je isparavanje vlage iz kore, a da se pri tome energija za njenu evaporaciju crpi iz mrvica kruha (Cauvain, 2015).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

Osnovni cilj ovog rada bio je razvoj tankog kruha (pogače) djelomičnom zamjenom pšeničnog brašna zobenim, odnosno ječmenim nativnim i pulsirajućim električnim poljem obrađenim brašnima te ispitati njihov utjecaj na fizikalna svojstva kruha.

#### **3.1. MATERIJALI**

Za proizvodnju kontrolnog pšeničnog tankog kruha korištena je mješavina polubijelog pšeničnog brašna T-850 (Čakovečki mlinovi d.d., Hrvatska) i bijelog pšeničnog brašna T-550 (Čakovečki mlinovi d.d., Hrvatska). Polubijelo pšenično brašno T-850 je sadržavalo 10,37 % proteina, 1,11 % masti i 0,81 % pepela, a udio vode je iznosio 11,92 %, dok je bijelo brašno T-550 bilo sastavljeno od 9,35 % proteina, 1,07 % masti i 0,59 % pepela, s udjelom vode od 11,75 %.

Zamjenom 30 % pšeničnog brašna sa zobenim nativnim ili PEP-om obrađenim brašnom (PJ Mlin Farina, Hrvatska) dobio se zobični tanki kruh. Nativno zobeno brašno je sadržavalo 11 % proteina, 7 % masti i 1,83 % pepela, a udio vode je iznosio 12,45 %.

Zamjenom 30 % pšeničnog brašna s ječmenim nativnim ili PEP-om obrađenim brašnom (PP Varga, Hrvatska) dobio se ječmeni tanki kruh. Ječmeno brašno je sadržavalo 11,48 % proteina, 1,57 % masti, 2,33 % pepela, dok je udio vode iznosio 11,89 %

Uz brašno, sirovine koje su činile recepturu bile su destilirana voda (Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Hrvatska), instant kvasac s 95 % suhe tvari (Kvasac d.o.o., Hrvatska), sitna morska sol (Solana Pag, Hrvatska) i suncokretovo jestivo ulje (Zvijezda, Hrvatska).

## **3.2. METODE RADA**

### **3.2.1. Priprema brašna za obradu pulsirajućim električnim poljem**

Prvi korak pri obradi pulsirajućim električnim poljem bila je priprema suspenzije brašna u vodi tako da se 433 g zobenog, odnosno ječmenog brašna pomiješalo s 866 g vode u homogenu masu koja se potom dijelila kako bi se dobio dovoljan broj uzoraka.

### **3.2.2. Obrada pulsirajućim električnim poljem**

Pripremljeni uzorci su obrađeni PEP-om pomoću uređaja za pulsirajuće električno polje (HVG60/1 PEF, Intel d.o.o, Hrvatska) pri odabranim parametrima: jakosti električnog polja od 12 kV/cm i frekvenciji od 150 Hz. Svaki od uzoraka je bio izložen djelovanju PEP-a u vremenu trajanja od 9 minuta, a duljina djelovanja svakog pulsa je pritom iznosila 2 µs. U te svrhe, pulsirajućem električnom polju je podvrgnut uzorak dobiven od 255 g zobenog ili ječmenog brašna i 510 g vode s time da je obrada provođena u dvije paralele.

### **3.2.3. Određivanje aktivnosti enzima $\beta$ -glukanaze i $\beta$ -glukana prisutnih u uzorcima brašna**

*Kemikalije za određivanje aktivnosti  $\beta$ -glukanaze:*

- Supstrat: komercijalni MBG4 set za ispitivanje  $\beta$ -glukanaze tvrtke Megazyme (Bray, Irska) koji, između ostalog, sadrži boćice s reagensima od kojih se u dvije nalazi 4,6-O-benziliden-2-kloro-4-nitrofenil- $\beta$ -(3<sup>1</sup>- $\beta$ -D-celotriozil-glukoza) (BCNPBG4) u 50 % DMSO/H<sub>2</sub>O (5 mL) i natrijev azid (0,02 % w/v)
- Klorovodična kiselina (HCl), 37 %-tna (Carlo Erba, Francuska)
- Natrijev hidroksid (NaOH), 98 %-tni (Lach-Ner, Češka)
- Pufer A – koncentrirani acetatni pufer (1 M natrijev acetatni pufer s pH od 4,5)

Pufer je dobiven otapanjem 60 g ledene octene kiseline (Honeywell Fluka, Njemačka) u 800 mL destilirane vode, podešavanjem pH vrijednosti na 4,5 pomoću 5 M otopine NaOH te volumena na 1 L.

- Pufer B - pufer za ekstrakciju/razrjeđivanje  $\beta$ -glukanaze (100 mM natrijev acetatni pufer s pH vrijednošću od 4,5 i koji sadrži 0,02 % w/v natrijevog azida)

Pufer je dobiven razrjeđivanjem 100 mL pufera A u 850 mL destilirane vode, podešavanjem pH na 4,5 pomoću 2 M otopine HCl-a ili 2 M otopine NaOH i podešavanjem volumena na 1 L te otapanjem 0,2 g natrijeva azida (Sigma Aldrich,

SAD) u pripremljenoj otopini.

- Reagens za zaustavljanje reakcije: 2 % w/v Tris pufer (pH 10)

Pufer je dobiven otapanjem 20 g Tris pufer soli (Trizma base Primary Standard and Buffer > 99,9 %, Sigma Aldrich, SAD) u 900 mL destilirane vode te podešavanjem pH vrijednosti na 10,0 pomoću 1 M NaOH i volumena na 1 L.

*Kemikalije za određivanje količine β-glukana:*

- Komercijalni Megazyme set s reagensima koji između ostalog sadrži bočicu sa lihenaznom ((endo-(1-3)(1-4)-β-D-glukan-4-glukanohidrolaznom) suspenzijom, potom bočicu sa suspenzijom β-glukozidaze, GOPOD reagens pufer pH 7,4 sastavljen od p-hidroksibenzojeve kiseline i natrijevog azida (0,09 %) i bočicu s GOPOD reagens enzimima, odnosno mješavinu glukoza-oksidaze, peroksidaze i 4-aminoantipirina. Dobiveni reagensi se za potrebe ispitivanja dodatno miješaju s puferima prema uputama proizvođača.
- Natrijev fosfatni pufer (20 mM, pH vrijednost 6,5)  
Pufer je dobiven otapanjem 3,12 g natrijeva dihidrogenfosfata dihidrata  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Fischer Chemical, UK) u 900 mL destilirane vode te podešavanjem pH do 6,5 pomoću 100 mM otopine NaOH i volumena na 1 L.
- Natrijev acetatni pufer (50 mM, pH 4,0)  
Pufer je dobiven dodavanjem 2,9 mL ledene octene kiseline u 900 mL destilirane vode te podešavanjem pH na 4,0 pomoću 1 M otopine NaOH i volumena na 1 L.
- Natrijev acetatni pufer (200 mM, pH 4,0)  
Pufer je dobiven dodavanjem 11,6 mL ledene octene kiseline u 900 mL destilirane vode te podešavanjem pH na 4,0 pomoću 1 M otopine NaOH i volumena na 1 L

*Pribor:*

- Staklene epruvete
- Analitička vaga (Kern ALS 220-4N, Njemačka)
- Vortex tresilica (IKA, Kina)
- Centrifuga Rotina 35 (Hettich, Njemačka)
- Mikropipete s nastavcima (Eppendorf, Njemačka)
- Spektrofotometar (PERKIN ELMER Lambda UV/Vis/NIR, SAD)
- Vodena kupelj s postoljem za trešnju (Stuart, Engleska)

- Plastična kiveta za spektrofotometrijsko mjerjenje dimenzije 1x1 cm

*Postupak:*

Ispitivanje enzimske aktivnosti  $\beta$ -glukanaze provedeno je pomoću MBG4 metode (K-MBG4 08/18 metoda). Kako bi se izmjerila aktivnost enzima  $\beta$ -glukanaze u uzorcima, najprije je proveden postupak ekstrakcije i razrjeđivanja enzima. Odvagano je točno 0,5 g brašna u staklene epruvete za centrifugu dimenzija 14 x 120 mm, kapaciteta 17 mL. Nakon toga, u svaku epruvetu je dodano 8,0 mL pufera B (pufer za ekstrakciju/razrjeđivanje  $\beta$ -glukanaze) i sadržaj je temeljito promiješan na vortex tresilici. Kako bi se enzim ekstrahirao, otopina je ostavljena na sobnoj temperaturi u vremenu trajanja od 15 minuta uz povremeno miješanje. Slijedilo je centrifugiranje na 3000 g tijekom 5 minuta.

Alikvoti pripremljene otopine supstrata MBG4 od 0,1 mL su otpipetirani na dno staklenih epruveta kapaciteta 13 mL koje su potom inkubirane na 30 °C, 3 minute. Otopina ekstrakta  $\beta$ -glukanaze je također inkubirana u istim uvjetima temperature i vremena, a potom je 0,5 mL ekstrakta dodano u epruvete koje su sadržavale MBG4 otopinu. Dobivena suspenzija je promiješana na vortex tresilici i inkubirana na 30 °C u vremenu trajanja od točno 20 minuta od trenutka dodavanja ekstrakta u otopinu supstrata. Nakon razdoblja inkubacije, u epruvete je dodan reagens za zaustavljanje reakcije (0,9 mL), a sadržaj epruvete je promiješan. Slijedilo je očitavanje apsorbancije reakcijskih otopina na 400 nm. Za dobivanje točnih vrijednosti, od očitanih apsorbancija reakcijskih otopina oduzele su se vrijednosti slijepih proba određenih za reagens i ekstrakt. Za dobivanje vrijednosti slijepe probe reagensa, dodano je 0,9 mL reagensa za zaustavljanje reakcije u otopinu od 0,1 mL prethodno ekvilibrirane suspenzije reagensa MBG4 i 0,5 mL pufera B te je potom slijedilo očitanje apsorbancije na 400 nm. Za svaki pojedinačni uzorak, potrebna je i slijepa proba ekstrakta kako bi se u obzir uzela i boja prisutna u ekstraktu dobivenom iz brašna na način da je 0,9 mL reagensa za zaustavljanje otpipetirano u otopinu od 0,1 mL pufera B i 0,5 mL specifičnog ekstrakta dobivenog iz brašna. Potom je očitana apsorbancija na 400 nm. Za svaki od uzoraka provedene su dvije paralele.

Nakon dobivanja vrijednosti apsorbancija, izračunata je i aktivnost enzima. Pritom je jedna jedinica aktivnosti definirana kao količina enzima potrebna za oslobođanje jednog mikromola 2-kloro-4-nitrofenola (CNP) iz MBG4 u jednoj minuti pri definiranim uvjetima ispitivanja i naziva se jedinica MBG4 koja se nakon uvrštavanja vrijednosti koje su istovjetne za sve uzorke izračunava na način:

$$\text{MBG4 jedinice/g} = \Delta E_{400} \times 0,145 \times \text{stupanj razrjeđenja} \quad [2]$$

gdje je  $\Delta E_{400}$  – izmjerena vrijednost apsorbancije

S druge strane, određivanje količine  $\beta$ -glukana u uzorcima brašna temeljeno je na AOAC metodi 995.16 (AOAC 995.16, 1996) pomoću komercijalnog Megazyme postupka (K-BGLU 01/21) i kompleta za ispitivanje (Megazyme, Bray, Irska). U staklenu epruvetu kapaciteta 17 mL dodan je uzorak brašna mase 80-120 mg, a potom i 0,2 mL vodene otopine etanola (50 % v/v) i 0,4 mL natrijevog fosfatnog pufera te je cijeli sadržaj promiješan na vortex tresilici. Nakon toga, sadržaj s epruvetom je inkubiran 60 sekundi u vrućoj vodenoj kupelji, ponovo promiješan na vortex tresilici te inkubiran na 100 °C tijekom 2 minute, a potom opet promiješan. Slijedila je inkubacija na 50 °C i ekvilibracija u vremenu trajanja od 5 minuta. Nakon toga, dodana je lihenaza (10 U) volumena 0,2 mL, sadržaj je promiješan i inkubiran sat vremena na temperaturi od 50 °C uz redovito miješanje. Potom je dodano 5,0 mL 200 mM natrijevog acetatnog pufera, a sadržaj snažno promiješan. Nakon ekvilibracije od 5 minuta slijedilo je centrifugiranje sadržaja (1000 g, 10 minuta) te uzimanje alikvota volumena od 0,1 mL koji je potom otpipetiran u 3 različite epruvete. U dvije od njih, dodano je 0,1 mL  $\beta$ -glukozidaze (0,2 U) otopljene u 50 mM natrijevom acetatnom puferu. Treća je činila slijepu probu i u nju je dodano 50 mM natrijev acetatnog pufera volumena 0,1 mL. Epruvete su inkubirane na 50 °C u vremenu trajanja od 10 minuta. Nakon toga, dodano je 3,0 mL GOPOD reagensa i provedena je daljnja inkubacija na 50 °C u vremenu trajanja od 20 minuta da bi se naposljetku odredila apsorbancija uzorka na 510 nm u odnosu na slijepu probu.

Dobivene apsorbancije su preračunane u količinu glukana prema izvedenoj formuli:

$$\beta\text{-glukan (\% w/w)} = \Delta A \times \frac{F}{W} \times FV \times D \times 0,9 \quad [3]$$

gdje se  $\Delta A$  odnosi na apsorbanciju uzorka,  $F$  je faktor za pretvorbu vrijednosti apsorbancije u  $\mu\text{g}$  glukoze,  $FV$  se odnosi na konačni volumen,  $W$  je težina analiziranog uzorka, dok se  $D$  odnosi na daljnje razrjeđivanje prije inkubacije  $\beta$ -glukozidazom.

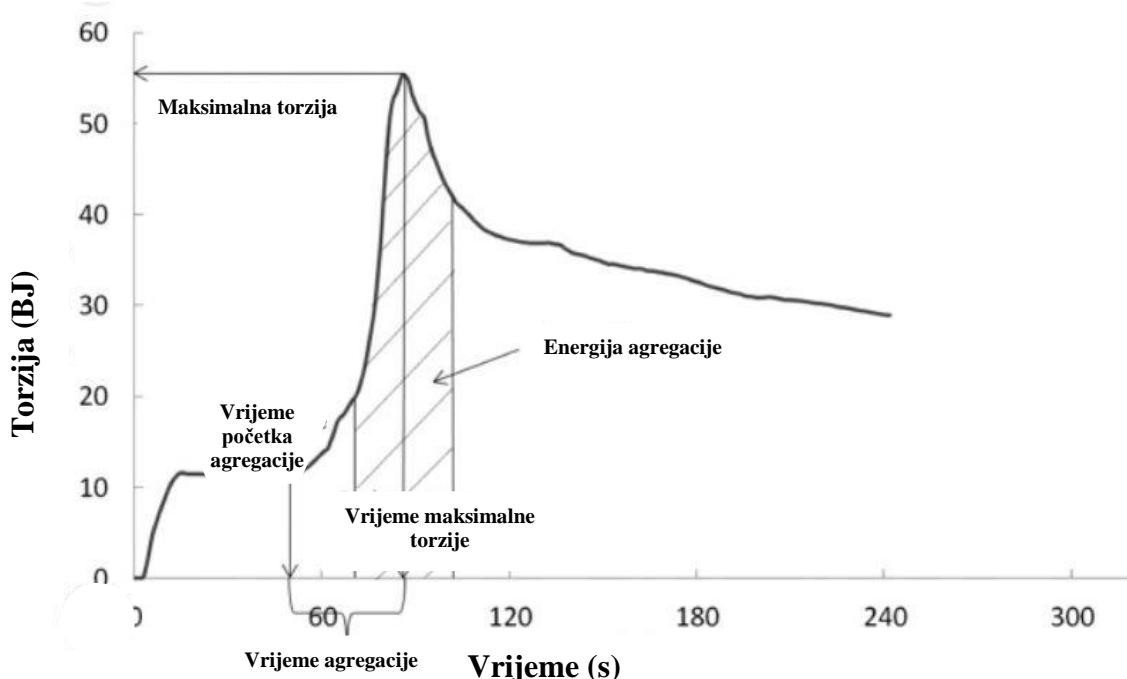
Mjerenja su kao i u slučaju određivanja aktivnosti enzima provedena dva puta za svaki uzorak brašna.

### 3.2.4. Određivanje reoloških svojstava tijesta

#### 3.2.4.1. Određivanje agregacijskog ponašanja glutena

Ispitivanje agregacije glutena provedeno je pomoću uređaja naziva GlutoPeak (Brabender, Njemačka). Pojedinačni uzorci brašna mase 8 g su neposredno prije unošenja u uređaj pomiješani u posudi za analizu s 10 g otapala, točnije  $\text{CaCl}_2$  koncentracije 0,5 mol/L te potom podvrgnuti miješanju koje se vršilo brzinom od 3000 o/min, temperaturom od 20 °C, u vremenu trajanja od 3 minute (Gregov, 2020; Wang i sur., 2018). Podaci koji su posljedično dobiveni

ovom vrstom mjerjenja su uključivali vrijeme maksimalne torzije koje na pripadajućoj krivulji odgovara piku pri stvorenoj glutenskoj mreži, a izraženo je u sekundama, potom maksimalnu torziju izraženu u Brabenderovim jedinicama BJ (eng. Brabender unit BU) i energiju agregacije izraženu u  $\text{cm}^2$ , a koja odgovara površini ispod pika kao što je to i vidljivo na slici 4 (Martin i sur., 2015). Agregacija glutena je provedena u dvije paralele za svaki uzorak.



**Slika 4.** Primjer krivulje dobivene određivanjem agregacijskog ponašanja glutena pomoću GlutoPeaka (*prema Rakita i sur., 2018*)

### 3.2.4.2. Određivanje svojstva želatinizacije škroba

Svojstva želatinizacije škroba su mjerena pomoću mikroviskoamilografa (Brabender, Njemačka) prema standardnoj metodi ICC 162 (1996) s time da su uzorci brašna i vode pomiješani neposredno prije mjerjenja. Mjerjenje je provedeno pri početnoj temperaturi od 30 °C uz zagrijavanje do 90 °C i brzinom od 7,5 °C/min. Slijedilo je zadržavanje na temperaturi od 90 °C u vremenu trajanja od 5 minuta, a potom i hlađenje do temperature od 50 °C brzinom od 7,5 °C/min te naposljetku zadržavanje na temperaturi od 50 °C u vremenu trajanja od 2 minute (Yilmaz Tuncel i sur., 2022). Mjerjenja su provođena u dvije paralele za svaki uzorak. Dobiveni podaci obrađeni su pomoću Brabender Viscograph Data Corelation programa i izraženi u BJ (Gregov, 2020). Naposljetku, dobivene su vrijednosti koje se odnose na maksimalnu viskoznost, viskoznost na kraju perioda hlađenja i povratnu viskoznost.

#### *3.2.4.3. Određivanje metode upijanja vode farinografom*

Potrebna količina vode za recepturu, odnosno, zamjes je određena pomoću farinografa (Brabender, Njemačka) prema standardnoj metodi (ICC 115/1, 1992), ali je pritom konzistencija tjestova umjesto 500 BJ, iznosila 200 BJ za sve zamjese.

#### *3.2.4.4. Određivanje reoloških svojstava tjestova*

Za potrebe određivanja reoloških svojstava uzoraka tjestova sačinjenih od brašna i vode, korišten je MCR 92 oscilacijski reometar (Anton Paar GmbH, Austrija). Mjerena su pritom izvršena u dvije paralele korištenjem paralelnih ploča promjera 50 mm s razmakom od 1 mm između njih, test amplitude je vršen pri konstantnoj frekvenciji od 6,28 rad/s, posmičnoj deformaciji od 0,05 % i tlaku koji se kretao od 0,1 do 100 Pa. Također, proveden je i test frekvencije od 6,28 do 62,8 rad/s pri posmičnoj deformaciji od 0,5 % za uzorke koji su sadržavali samo pšenično i uzorke u kojima se nalazilo zobeno brašno te 0,1 % za uzorke koji su sadržavali ječmeno brašno unutar linearog viskoelastičnog područja. Mjerena su provedena pri temperaturi od 25 °C koja je nadzirana pomoću Peltierovog temperaturnog uređaja P-PTD200/AIR (Anton Paar, Austrija) (Grgić i sur., 2023). Na taj način dobiveni su podaci za kompleksnu viskoznost (Pa.s), maksimalno smično naprezanje  $\tau_{\max}$  te modul elastičnosti (pohrane)  $G'$  i modul viskoznosti (gubitka)  $G''$ .

### 3.2.5. Postupak izrade tankog kruha

Svi sastojci potrebni za izradu pojedine vrste tankog kruha se nalaze u recepturi prikazanoj u tablici 1.

**Tablica 1.** Receptura za svaku pojedinu vrstu kruha

Sirovina (g)	Vrsta kruha				
	Kontrolni	Kontrolni sa zobenim brašnom	S PEF-om obrađenim zobenim brašnom	Kontrolni sa ječmenim brašnom	S PEF-om obrađenim ječmenim brašnom
<b>Pšenično brašno T-850</b>	722,50	505,75	505,75	505,75	505,75
<b>Pšenično brašno T-550</b>	127,5	89,25	89,25	89,25	89,25
<b>Zobeno brašno</b>	0,00	255,00	0,00	0,00	0,00
<b>PEF-om obrađeno zobeno brašno</b>	0,00	0,00	255,00	0,00	0,00
<b>Ječmeno brašno</b>	0,00	0,00	0,00	255,00	0,00
<b>PEF-om obrađeno ječmeno brašno</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	255,00
<b>Destilirana voda</b>	633,25	731,00	221,00*	697	187,00*
<b>Suhi kvasac</b>	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40
<b>Sol</b>	17,00	17,00	17,00	17,00	17,00
<b>Ulje</b>	34,00	34,00	34,00	34,00	34,00

\*budući da se u zobenom i ječmenom uzorku s brašnom koje je bilo podvrgnuto djelovanju PEP-a već nalazi količina vode mase 510 grama, u zamjes se dodaje razlika vrijednosti određene farinografom za kontrolnu vrstu brašna i mase vode koja se već nalazi u obrađenom uzorku (npr. Za PEP-om obrađeni uzorak brašna dobivenog iz zobi to iznosi  $731\text{ g} - 510\text{ g} = 221\text{ g}$ )

Postupak započinje dodatkom točno određene mase pojedinog brašna odvaganog na vazi (Kern KB2000-2N, Njemačka) s preciznošću od 0,01 g i destilirane vode čija je potrebna masa određena pomoću farinografa. Nakon sporog mijesenja u spiralnoj mjesilici (Diosna SP12, Njemačka) u vremenu trajanja od 2 minute na 90 o/min dodana je odvagana količina kvasca i soli te je provedeno brzo mijesenje u trajanju od 5 minuta na 120 o/min. Nakon isteka vremena dodana je i potrebna količina ulja te je nastavljeno brzo mijesenje u vremenu trajanja od 2 minute.

Nakon završetka operacije mijesenja, provedena je fermentacija u masi pri parametrima temperature od 28 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 75 % u komori za fermentaciju (Wiesheu, Njemačka) u vremenu trajanja od 1,5 sati. Tijesto je potom podijeljeno na dijelove mase 350 g koji su stavljeni u okrugle kalupe promjera 20 cm. Nakon toga, provedena je druga fermentacija u komori za fermentaciju u trajanju od jednog sata pri temperaturi od 28 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 75 %. Tijesta u kalupima su potom oblikovana prstima te stavljena na pečenje u etažnu pekarsku peć (Wiesheu, Njemačka) na temperaturu od 240 °C u vremenu trajanja od 30 min sa 650 mL vodene pare dodane na početku pečenja. Na kraju uzorci tankoga kruha su hlađeni (1-1,5 h), a potom i podvrgnuti analizama. Kako bi se održala dosljednost prilikom mjerjenja, korištena su 3 uzorka tankog kruha dobivena iz svakog zamjesa.

### 3.2.6. Određivanje svojstava kvalitete kruha

Vizualni izgled površine svakog pojedinog uzorka zabilježen je pomoću skenera, dok je boja kore određena prijenosnim spektrofotometrom (CM-700d Spectrophotometer, Konika Minolta, Japan). Očitanja su prikazana kao  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  parametri prema CIELAB sustavu mjerjenja boja. Pri tome parametar  $L^*$  označava mjeru svjetlosti u rasponu od 0 što predstavlja crnu boju do 100 što označava bijelu boju, vrijednost parametra  $a^*$  se kreće u rasponu od -100 što je najzelenija boja do 100 što označava najcrveniju boju, dok je vrijednost parametra  $b^*$  između -100 što označava najintenzivniju plavu boju do 100 što predstavlja najintenzivniju žutu boju (Malik i sur., 2015). Potom je određena i ukupna razlika u boji ( $\Delta E$ ) prema formuli:

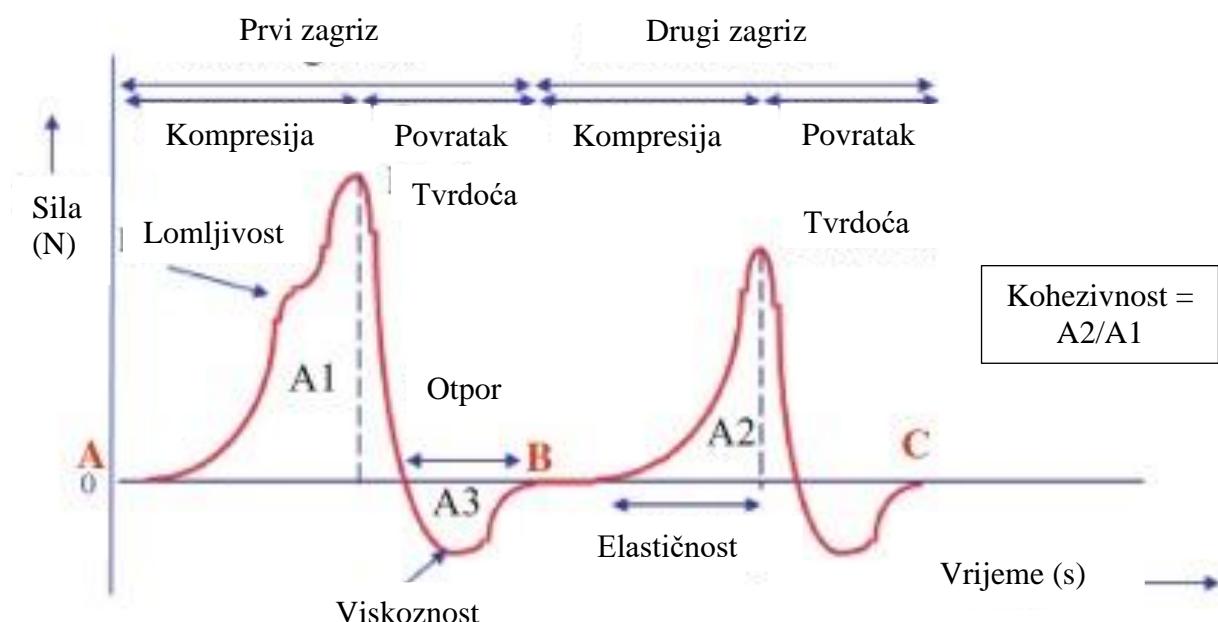
$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad [4]$$

koja služi za usporedbu boje uzorka s bojom standarda s time da dobivene vrijednosti ukazuju na malu ( $\Delta E < 1,5$ ), izrazitu ( $1,5 < \Delta E < 3$ ) ili vrlo izrazitu ( $\Delta E > 3$ ) razliku u boji (Pathare i sur., 2012).

Volumen kruha je određen pomoću uljane repice prema standardnoj metodi AACC 10-05. Također, određena je i masa kruha pomoću vase (Kern KB2000-2N, Njemačka). Iz omjera dobivenih vrijednosti volumena i mase je potom izračunat specifični volumen, a iz omjera razlike mase komada tijesta i volumena kruha te mase komada tijesta izračunata je vrijednost gubitka mase pečenjem kada se dobiveni rezultat pomnožio sa 100. Mjerena su provedena u 3 paralelna određivanja.

Širina, odnosno dijametar kruha i njegova visina su određeni uz pomoć pomičnog mjerila, a prema omjeru dobivenih vrijednosti parametara visine i širine izračunat je i oblik svakog dobivenog proizvoda. Mjerena su pritom provedena u 6 paralelnih određivanja za širinu i 12 za visinu (4 za svaki od 3 uzorka).

Tekstura sredine kruha određena je nad šnitama debljine 12,5 mm narezanim na stroju za rezanje (R504N/01 tip AS8ST, Gorenje, Slovenija) s kojih je prije mjerena uklonjena kora. Dvije pripremljene šnite su tijekom određivanja stavljene jedna na drugu te je proveden TPA test pomoću uređaja za ispitivanje svojstava teksture (TA1 Texture Analyzer, LLOYD, UK). Dvostruka kompresija vršena je pomoću cilindričnog diska promjera 5,5 cm do 50 % visine pojedinih uzoraka, odnosno šnita, testna brzina je pritom iznosila 2 mm/s, a vrijeme čekanja između dvije kompresije 30 s. Rezultati dobivene analize su prikazani pomoću krivulje (Slika 5), a potom i obrađeni na računalnom NEXYGENPlus™ softveru i prikazani kao tvrdoća, elastičnost, kohezivnost i žvakljivost. Mjerena su izvršena na 3 paralelna uzorka.



**Slika 5.** Primjer krivulje dobivene ispitivanjem parametara teksture (prema Liu i sur. 2019)

### 3.2.7. Obrada podataka

Rezultati dobiveni provođenjem eksperimentalnog rada prikupljeni su i statistički analizirani koristeći Microsoft Office Excel 2016. Svi rezultati su pritom izraženi kao sredna vrijednost  $\pm$  standardna devijacija. Za usporedbu rezultata korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) s Tukey post-hoc testom korištenjem *online* alata Astatsa dostupnog pod Creative Commons licencom (Vasavada, 2016). Granica statističke značajnosti iznosila je  $p < 0,05$ .

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

U svrhu razvoja recepture obogaćenog tankog kruha, odnosno pogače, s povećanim udjelom prirodnog prisutnog  $\beta$ -glukana podrijetlom iz brašna zobi i ječma najprije je provedena inaktivacija enzima  $\beta$ -glukanaze pomoću pulsirajućeg električnog polja. U svrhu usporedbe uzoraka brašna obrađenih pulsirajućim električnim poljem u odnosu na nativno brašno, određena je aktivnost enzima  $\beta$ -glukanaze i količina prisutnog  $\beta$ -glukana.

Nadalje, određena su svojstva uzoraka dobivenih od smjese brašna i vode. Istraživanje je provedeno na pet uzoraka s različitim smjesama brašna: smjesom pšeničnog T-850 i T-550 brašna te smjesama u kojem je dio pšeničnog brašna zamijenjen nativnim ili PEP-om obrađenim brašnom zobi ili ječma. Istraživanje je pritom bilo podijeljeno u nekoliko koraka:

1. Određeno je agregacijsko ponašanje glutena pomoću GlutoPeak-a te su dobiveni rezultati koji su se odnosili na maksimalno vrijeme nastanka pika, maksimalnu torziju, energiju aggregacije i viskoznost.
2. Mikroviskoamilografom su određena svojstva želatinizacije škroba, točnije, dobivene su vrijednosti maksimalne viskoznosti, viskoznosti na kraju perioda hlađenja i povratne viskoznosti.
3. Oscilacijskim reometrom određena su reološka svojstva tijesta i dobivene su vrijednosti za kompleksnu viskoznost, maksimalno smično naprezanje te modul elastičnosti (pohrane) i modul viskoznosti (gubitka).

Slijedila je izrada zamjesa prema dobivenim recepturama koje su se razlikovale obzirom na vrstu brašna kojom se zamjenjuje 30 % pšeničnog brašna te posljedično i potrebnu količinu vode koja je prethodno određena farinografom za svaki uzorak. Nakon zamjesa, dijeljenja, oblikovanja, fermentacije, pečenja i hlađenja dobivenog proizvoda, provedene su analize. Vizualno je određen izgled površine svake pojedine vrste kruha, a nakon čega je pomoću prijenosnog spektrofotometra identificirana boja prema CIELAB sustavu mjerena boja. Slijedilo je određivanje volumena pomoću uljane repice te mase kruha vaganjem pri čemu su dobiveni rezultati potrebni za izračunavanje specifičnog volumena i gubitka pečenjem. Uz to, pomičnim mjerilom su određeni parametri širine i visine čime su dobivene potrebne vrijednosti za izračunavanje oblika svakog dobivenog proizvoda. Nапослјетку, određena je i tekstura sredine kruha pomoću uređaja za određivanje svojstava teksture pri čemu su dobivene vrijednosti parametara tvrdoće, kohezivnosti, žvakljivosti i elastičnosti.

#### **4.1. AKTIVNOST ENZIMA $\beta$ -GLUKANAZE I SADRŽAJ $\beta$ -GLUKANA**

U uzorcima nativnog i pulsirajućim električnim poljem obrađenog brašna zobi i ječma određena je aktivnost enzima  $\beta$ -glukanaze i količina prisutnog  $\beta$ -glukana, a dobiveni rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti dvaju različitih mjerjenja za svaki od navedenih uzoraka s pripadajućom standardnom devijacijom (Tablica 2).

**Tablica 2.** Aktivnost  $\beta$ -glukanaze i količina  $\beta$ -glukana u uzorcima brašna

<b>Uzorak</b>	<b><math>\beta</math>-glukan (g/100g s.tv.)</b>	<b><math>\beta</math>-glukanaza (U/MBG4 kg s.tv.)</b>
<b>Nativno ječmeno brašno</b>	$3,41 \pm 0,02^b$	$6,79 \pm 0,23^b$
<b>PEP-om obradeno ječmeno brašno</b>	$4,19 \pm 0,22^a$	$3,65 \pm 0,23^c$
<b>Nativno zobeno brašno</b>	$2,81 \pm 0,19^b$	$8,93 \pm 0,21^a$
<b>PEP-om obradeno zobeno brašno</b>	$3,24 \pm 0,15^b$	$2,10 \pm 0,11^d$

<sup>a-d</sup> srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar iste kolone se prema Tukey post-hoc testu značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

Prema Karim i sur. (2021) ječam kao sirovina sadrži veću količinu  $\beta$ -glukana nego li zobi pa sukladno tome i brašno od ječma u odnosu na ono od zobi, sadrži veću količinu  $\beta$ -glukana, a što je u skladu i s rezultatima dobivenim od strane Andrzej i sur. (2019) i Abou-Raya i sur. (2014). U ovom slučaju dobiveni rezultati ukazuju da je količina  $\beta$ -glukana u ječmenom brašnu veća nego li u zobenom, ali je utvrđeno da se dobivene vrijednosti ne razlikuju značajno. Što se tiče aktivnosti enzima  $\beta$ -glukanaze u nativnim brašnima, vidljivo je da je aktivnost spomenutog enzima u zobenom brašnu veća nego li u ječmenom što je primijećeno i od strane Grgić i sur. (2023) u određivanju aktivnosti ovog enzima u ječmenim i zobenim posijama.

Obradom obje vrste brašna pulsirajućim električnim poljem, aktivnost  $\beta$ -glukanaze, a posljedično i sadržaj  $\beta$ -glukana se značajno promijenio ( $p < 0,05$ ). Kao što je već spomenuto, primjena pulsirajućeg električnog polja utječe na promjene u strukturi enzima što posljedično utječe na promjenu u aktivnosti samog enzima (Sanchez-Reinoso i sur., 2022). Budući da je prema Caseiro i sur. (2022) i Wrigley (2010)  $\beta$ -glukanaza enzim koji katalizira razgradnju  $\beta$ -glukana, pretpostavljalo se da će obrada pulsirajućim električnim poljem utjecati na aktivnost ovog enzima, odnosno da će se njegova aktivnost u obje vrste brašna smanjiti, a samim time, sadržaj  $\beta$ -glukana povećati. Dobiveni rezultati su potvrdili ovu hipotezu. Osim toga, prema

rezultatima je vidljivo da se aktivnost  $\beta$ -glukanaze u uzorcima zobenog brašna smanjila u puno većoj mjeri u odnosu na ječmeno brašno, a to je vjerojatno posljedica položaja spomenutog enzima u česticama ječmenog brašna u odnosu na zobeno što ga čini manje osjetljivim na tretman (Grgić i sur., 2023).

## 4.2. REOLOŠKA SVOJSTVA TIJESTA

### 4.2.1. Agregacijsko ponašanje glutena

U GlutoPeak testu, rotirajuća lopatica uslijed brzine i mehaničkog smicanja omogućuje stvaranje glutenske mreže što dovodi do naglog povećanja vrijednosti torzije, dok daljnje miješanje uzrokuje razbijanje mreže glutena što dovodi do opadanja vrijednosti (Wang i sur., 2021; Cardone i sur., 2020). U ovom radu ispitane su vrijednosti parametara maksimalne torzije izražene u BJ, potom vremena maksimalne torzije u sekundama te energije agregacije izražene u  $\text{cm}^2$ . Dobivene vrijednosti prikazane su u tablici 3.

**Tablica 3.** Kinetika agregacije glutena

Uzorak	Vrijeme maksimalne torzije (s)	Maksimalna torzija (BJ)	Energija agregacije ( $\text{cm}^2$ )
<b>Pšenično brašno (85 % T-850 + 15 % T-550)</b>	$82,51 \pm 1,41^{\text{a}}$	$62,00 \pm 0,00^{\text{a}}$	$1493,00 \pm 25,46^{\text{ab}}$
<b>Pšenično brašno (70 % + nativno ječmeno brašno (30 %))</b>	$87,76 \pm 1,77^{\text{a}}$	$50,00 \pm 1,41^{\text{b}}$	$1601,00 \pm 25,46^{\text{a}}$
<b>Pšenično brašno (70 % + PEP-om obradeno ječmeno brašno (30 %))</b>	$63,77 \pm 1,76^{\text{b}}$	$51,00 \pm 1,41^{\text{b}}$	$1591,00 \pm 5,66^{\text{a}}$
<b>Pšenično brašno (70 % + nativno zobeno brašno (30 %))</b>	$65,76 \pm 3,18^{\text{b}}$	$55,00 \pm 2,83^{\text{b}}$	$1251,00 \pm 162,63^{\text{bc}}$
<b>Pšenično brašno (70 % + PEP-om obradeno zobeno brašno (30 %))</b>	$33,01 \pm 2,11^{\text{c}}$	$63,00 \pm 1,41^{\text{a}}$	$955,00 \pm 50,91^{\text{c}}$

<sup>a-c</sup> srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar iste kolone se značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

Općenito, brašno loše tehnološke kvalitete karakterizira brzo razvijanje glutena, a samim time i pika torzije, a ubrzo nakon toga slijedi i brza razgradnja glutenske mreže. Nasuprot tome, jaka brašna s višim udjelom proteina polako razvijaju konzistenciju tijesta koje je potom stabilnije i prema tome je potrebno više vremena za postizanje pika, odnosno maksimalne torzije (Durmus i sur., 2023). Sumirano, ukoliko je snaga glutena u brašnu slabija, vrijeme za postizanje maksimalne torzije je kraće (Karaduman i sur., 2020). Promatraljući rezultate vidljivo je da se obradom pulsirajućim električnim poljem vrijeme maksimalne torzije smanjilo što je i očekivano budući da su ti uzorci sadržavali veću količinu  $\beta$ -glukana u odnosu na kontrolne uzorce, a prema Cao i sur. (2023) prisutnost  $\beta$ -glukana utječe na promjene vezane uz stvaranje glutenske mreže, odnosno slabi glutensku konzistenciju.

S druge strane, pošto je analizama utvrđeno da ječmeno brašno sadrži čak i veći udio  $\beta$ -glukana nego li zobeno, bilo je očekivano da će vrijednosti vremena maksimalne torzije biti daleko manje u odnosu na kontrolni uzorak. Naime, kontrolni je uzorak sastavljen samo od mješavine pšeničnog brašna koje prema dobivenim visokim vrijednostima pokazuje dobra peciva svojstva što je i očekivano budući da je upravo jedinstvenost stvaranja glutenske mreže povezana sa sirovinama dobivenima iz pšenice (Shewry, 2009; Wrigley, 2010). Rezultati su ipak ukazali da dodatak ječmenog brašna daje vrijednosti vremena maksimalne torzije i energije agregacije koje se ne razlikuju značajno od onih dobivenih kod pšeničnog brašna, a što Amoriello i sur. (2020) povezuju sa sposobnošću prisutnih vlakana da apsorbiraju značajne količine vode i time utječu na same rezultate analize. Ipak, i  $\beta$ -glukan se ubraja u prehrambena vlakna pa djeluje negativno na stvaranje glutenske mreže, a uz to ga sadržava i zobeno brašno koje pak je pokazalo niže vrijednosti u odnosu na pšenično, pa bi dobiveni rezultati mogli ukazivati na utjecaj nekih drugih tvari ili na razlike u strukturama samog  $\beta$ -glukana u ječmu i zobi.

#### 4.2.2. Svojstva želatinizacije škroba

Prema Huen i sur. (2017), viskoznosti dobivene mjeranjem su uglavnom povezane sa želatinizacijom škroba, razgradnjom škroba endogenim  $\alpha$ -amilazama i retrogradacijom škroba. Rezultati dobiveni analizom prikazuju srednje vrijednosti dva paralelna mjerena s pripadajućim standardnim devijacijama, a sažeti su u tablici 4.

**Tablica 4.** Viskoznost uzorka brašna

Uzorak	Maksimalna viskoznost (BU)	Viskoznost na kraju perioda hlađenja (BU)	Povratna viskoznost (BU)
<b>Pšenično brašno (85 % T-850 + 15 % T-550)</b>	$451,50 \pm 4,95^b$	$117,80 \pm 2,97^b$	$410,00 \pm 18,38^b$
<b>Pšenično brašno (70 %) + nativno ječmeno brašno (30 %)</b>	$375,50 \pm 7,78^c$	$106,45 \pm 2,62^c$	$367,50 \pm 10,61^{bc}$
<b>Pšenično brašno (70 %) + PEP-om obrađeno ječmeno brašno (30 %)</b>	$360,00 \pm 5,66^c$	$96,05 \pm 2,33^d$	$333,50 \pm 9,19^c$
<b>Pšenično brašno (70 %) + nativno zobeno brašno (30 %)</b>	$523,50 \pm 12,02^a$	$140,05 \pm 2,19^a$	$483,00 \pm 8,49^a$
<b>Pšenično brašno (70 %) + PEP-om obrađeno zobeno brašno (30 %)</b>	$506,00 \pm 5,66^a$	$132,70 \pm 0,99^a$	$463,00 \pm 0,00^a$

<sup>a-c</sup> srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar iste kolone se prema Tukey post-hoc testu značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

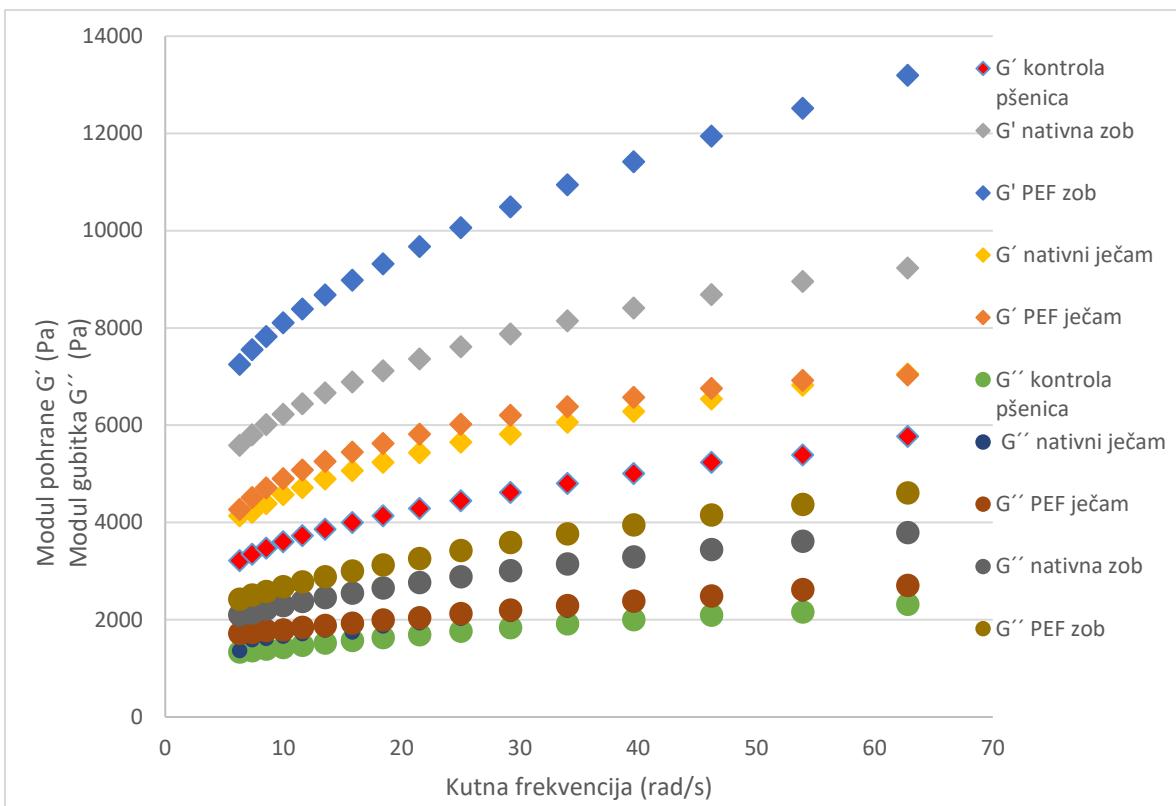
Uzorci s dodatkom zobenog brašna, nativnog ili obrađenog pulsirajućim električnim poljem su pokazali veće vrijednosti viskoznosti od pšeničnog brašna. Na viskoznost suspenzije brašna utječu želatinizacijska svojstva škroba, ali i prisutnost  $\alpha$ -amilaze, enzima koji katalizira hidrolizu škroba pritom stvarajući mješavinu dekstrina i drugih oligosaharida, a maksimalnu aktivnost postiže pri otprilike 60 °C. Razina  $\alpha$ -amilaze se između pojedinih vrsta žitarica i njihovih brašna razlikuje, a osim toga na količinu spomenutog enzima u brašnu utječu i sam uzgoj, klima i uvjeti berbe žitarica (Cauvain, 2012). Uz to, škrobne granule zobi su složenije strukture u odnosu na one koje sadržava pšenica ili ječam te uz to zob sadrži i više lipida

(Wrigley, 2010), a prema Gupta i sur. (2007) na želatinizacijska svojstva škroba utječe i sadržaj amiloze i lipida, ali također i raspodjela amilopektina po duljini lanca. Amilopektin pri tome doprinosi bubrenju škrobnih granula, dok s druge strane amiloza i lipidi inhibiraju bubrenje. Također, duljina lanca amilopektina i veličina molekule amiloze imaju sinergistički utjecaj na viskoznost škrobnih pasta. Stoga, same strukturne značajke su kompleksne, ali imaju i veliki utjecaj na želatinizacijska svojstva škroba. Brennan i Samyue (2007) ističu kako i dodatak prehrambenih vlakana, uključujući i  $\beta$ -glukana, utječe na promjenu svojstava želatinizacije škroba. Naime, topiva prehrambena vlakna utječu na smanjenje želatinizacije škroba te posljedično smanjenje vrijednosti viskoznosti uslijed visokog kapaciteta zadržavanja vode i formiranja umrežene strukture gela.

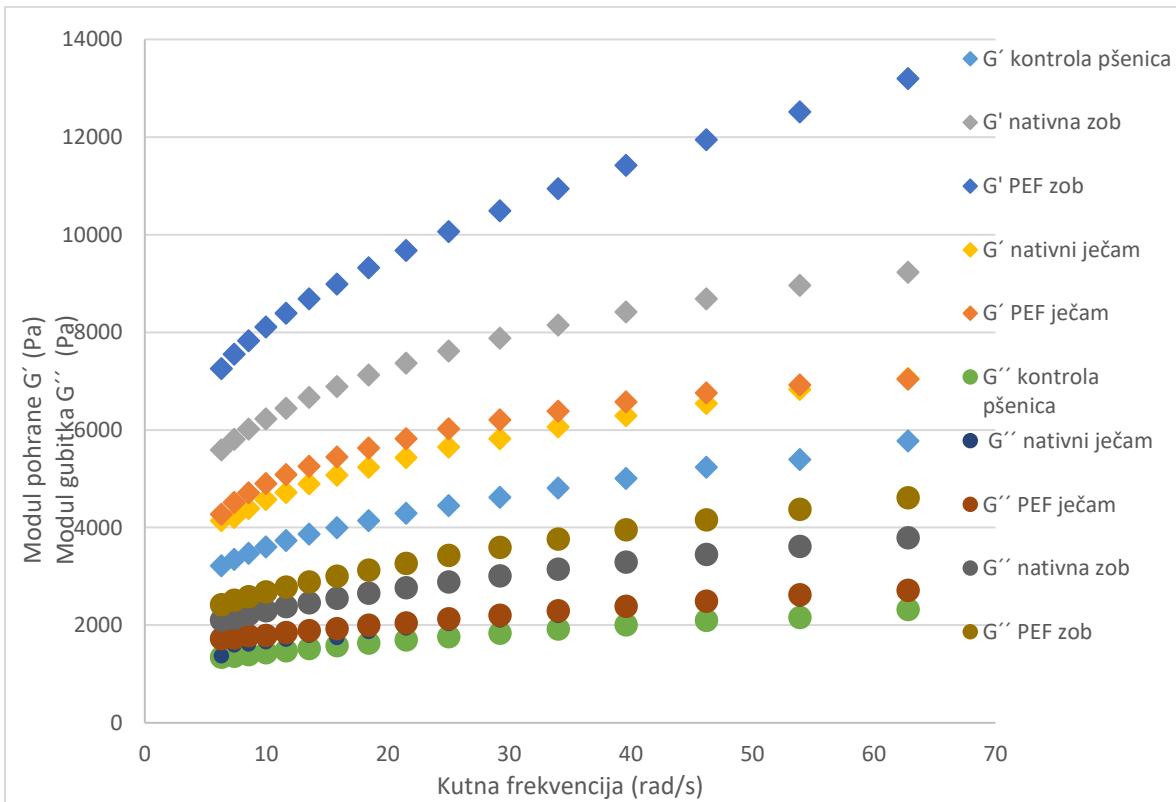
Nadalje, vidljivo je da su brašna obrađena pulsirajućim električnim poljem pokazala nešto manje vrijednosti viskoznosti u odnosu na kontrolna brašna ječma i zobi, no razlike nisu bile značajne.

#### 4.2.3. Reološka svojstva tijesta

Tijesto se može definirati kao viskoelastičan materijal koji se pod pritiskom deformira, dok je kompleksna viskoznost pojam koji se odnosi na otpor viskoznom ili elastičnom strujanju materijala u oscilacijskom gibanju (Habuš i sur., 2021). Na slikama 6 i 7 grafički su prikazane vrijednosti modula elastičnosti (pohrane)  $G'$  koji se odnosi na energiju koja je pohranjena tijekom ciklusa oscilatornog naprezanja, odnosno ukazuje na otpor tvari prema deformaciji prilikom naprezanja i modul viskoznosti (gubitka)  $G''$  koji se odnosi na otpuštanje energije (Iveković, 2022). Vrijednosti  $G'$  modula su u svim uzorcima veće u odnosu na vrijednosti  $G''$  modula što ukazuje da je struktura tijesta više elastična nego što li je viskozna. Također, vrijednosti modula  $G'$  i  $G''$  se u svim uzorcima povećavaju s povećanjem vrijednosti kutne frekvencije. Vidljivo je i da su vrijednosti  $G'$  veće u uzorcima koji su bili obogaćeni brašnom ječma ili zobi u odnosu na kontrolni uzorak, a povećanjem udjela  $\beta$ -glukana vrijednosti još više rastu što je u skladu s rezultatima dobivenim od strane Torbica i sur. (2019), a razlog tome je što na  $G'$  vrijednosti utječu elastičnost proteina i sadržaj prehrambenih vlakana. Prema tome, povećanjem udjela prehrambenih vlakana, u ovom slučaju  $\beta$ -glukana, povećavaju se i vrijednosti  $G'$  modula.



Slika 6. Grafički prikaz ovisnosti  $G'$  i  $G''$  modula o kutnoj frekvenciji



Slika 7. Grafički prikaz ovisnosti  $G'$  i  $G''$  modula o kutnoj frekvenciji

U tablici 5 su prikazane vrijednosti za kompleksnu viskoznost i maksimalno smično naprezanje.

**Tablica 5.** Vrijednosti dobivene oscilacijskim mjeranjima tijesta

Uzorak	Kompleksna viskoznost (Pa.s)	Maksimalno smično naprezanje $\tau_{\max}$
<b>Pšenično brašno (85 % T-850 + 15 % T-550)</b>	$102,62 \pm 5,07^d$	$2,02 \pm 0,07^b$
<b>Pšenično brašno (70 %) + nativno ječmeno brašno (30 %)</b>	$121,04 \pm 1,65^c$	$0,49 \pm 0,01^c$
<b>Pšenično brašno (70 %) + PEP-om obrađeno ječmeno brašno (30 %)</b>	$118,21 \pm 2,59^c$	$0,42 \pm 0,01^c$
<b>Pšenično brašno (70 %) + nativno zobeno brašno (30 %)</b>	$157,59 \pm 1,81^b$	$3,54 \pm 0,17^a$
<b>Pšenično brašno (70 %) + PEP-om obrađeno zobeno brašno (30 %)</b>	$218,85 \pm 5,13^a$	$4,15 \pm 0,30^a$

<sup>a-d</sup> srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar iste kolone se prema Tukey post-hoc testu značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

Iz rezultata je vidljivo da se zamjenom određenog udjela pšeničnog brašna s ječmenim ili zobenim, vrijednost kompleksne viskoznosti povećala. Prema Sullivan i sur. (2010), razlog tome je veći afinitet  $\beta$ -glukana za upijanje vode u odnosu na gluten ili škrob što posljedično dovodi do promjene distribucije vode u strukturi tijesta. Za razliku od Grgić i sur. (2023) gdje je provedbom analize viskoelastičnih svojstava na posijama utvrđeno da kontrolni uzorci ječma pokazuju veće vrijednosti kompleksne viskoznosti nego li oni od zobi, ovdje to nije slučaj.

Rezultati su također pokazali da se vrijednosti maksimalnog smičnog naprezanja koje može podnijeti uzorak ( $\tau_{\max}$ ) smanjuju obradom pulsirajućim električnim poljem kada je u pitanju ječmeno brašno, a učinak je suprotan u slučaju zobenog brašna. To znači da je tijekom analize viskoelastičnih svojstava, uzorak koji je sadržavao obrađeno ječmeno brašno postao mekši i posljedično mogao izdržati manju silu bez deformacije u strukturi u odnosu na svoju kontrolu, dok je uzorak s obrađenim zobenim branom postao tvrdi i posljedično mogao podnijeti veću silu u odnosu na svoju kontrolu. Dobivene razlike u rezultatima, mogle bi ukazati na drugačiji kemijski sastav žitarica korištenim tijekom analiza, budući da je odabir sirovina, između ostalog, ključan za dobra reološka svojstva (Grgić i sur., 2023). Također, škrobne granule ječma su manje složene strukture nego li one od zobi, pa je do niže izmjerene viskoznosti moglo doći

i radi oštećenja škroba uslijed sila smicanja što naposlijetku dovodi do poremećaja u kemijskim interakcijama i organizaciji glavnih sastojaka (Grgić i sur., 2023; Wrigley, 2010). Oštećenje škroba bi također moglo objasniti i značajno niže vrijednosti viskoznosti uzoraka s ječmenim brašnom dobivenih na mikroviskomilografu. Naime, oštećene granule škroba apsorbiraju veću koncentraciju vode nego li neoštećene pa je moguće da nisu želatinizirale u potpunosti uslijed nedostatka vode, a uz to, oštećeni škrob je podložan brzoj hidrolizi amilazama u dekstrine i druge oligosaharide (Cauvain, 2012).

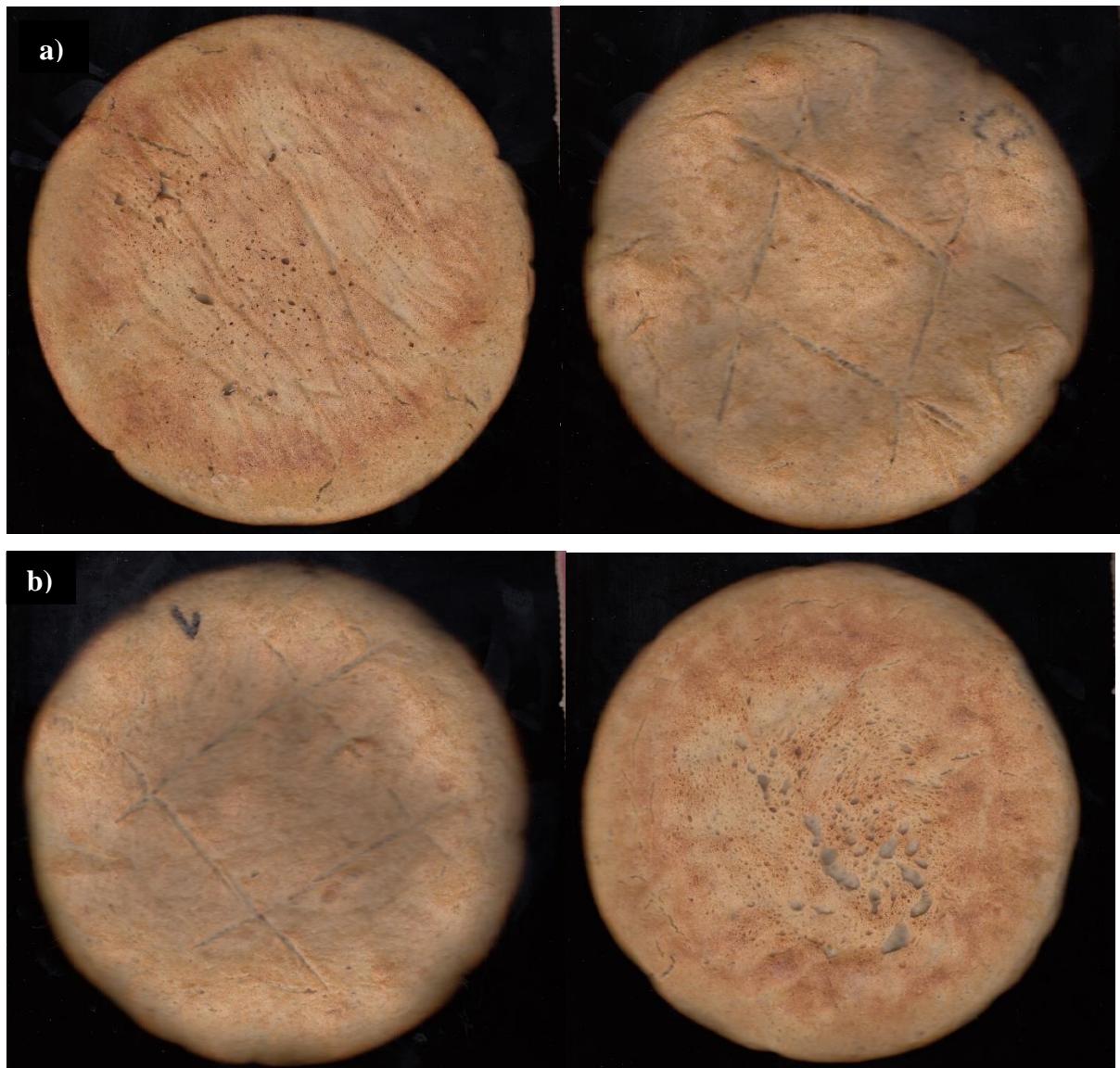
### **4.3. SVOJSTVA KVALITETE KRUHA**

Svojstva kvalitete kruha se određuju pomoću parametara kao što su boja, specifični volumen, oblik i tvrdoća. Budući da se pod pojmom kruh svrstavaju proizvodi vrlo različitih oblika, veličina, tekstura i boja, vrijednosti parametara kvalitete ponajprije ovise o vrsti proizvoda kojem se određuju (Cauvain, 2012) s time da vanjska svojstva najviše utječu na prihvatljivost kod potrošača, a posljedično i na uspješnost proizvodnje određenog proizvoda. Radi toga, u svrhu dobivanja što preciznijih rezultata analize su vršene paralelno na svakom od tri dobivena primjerka.

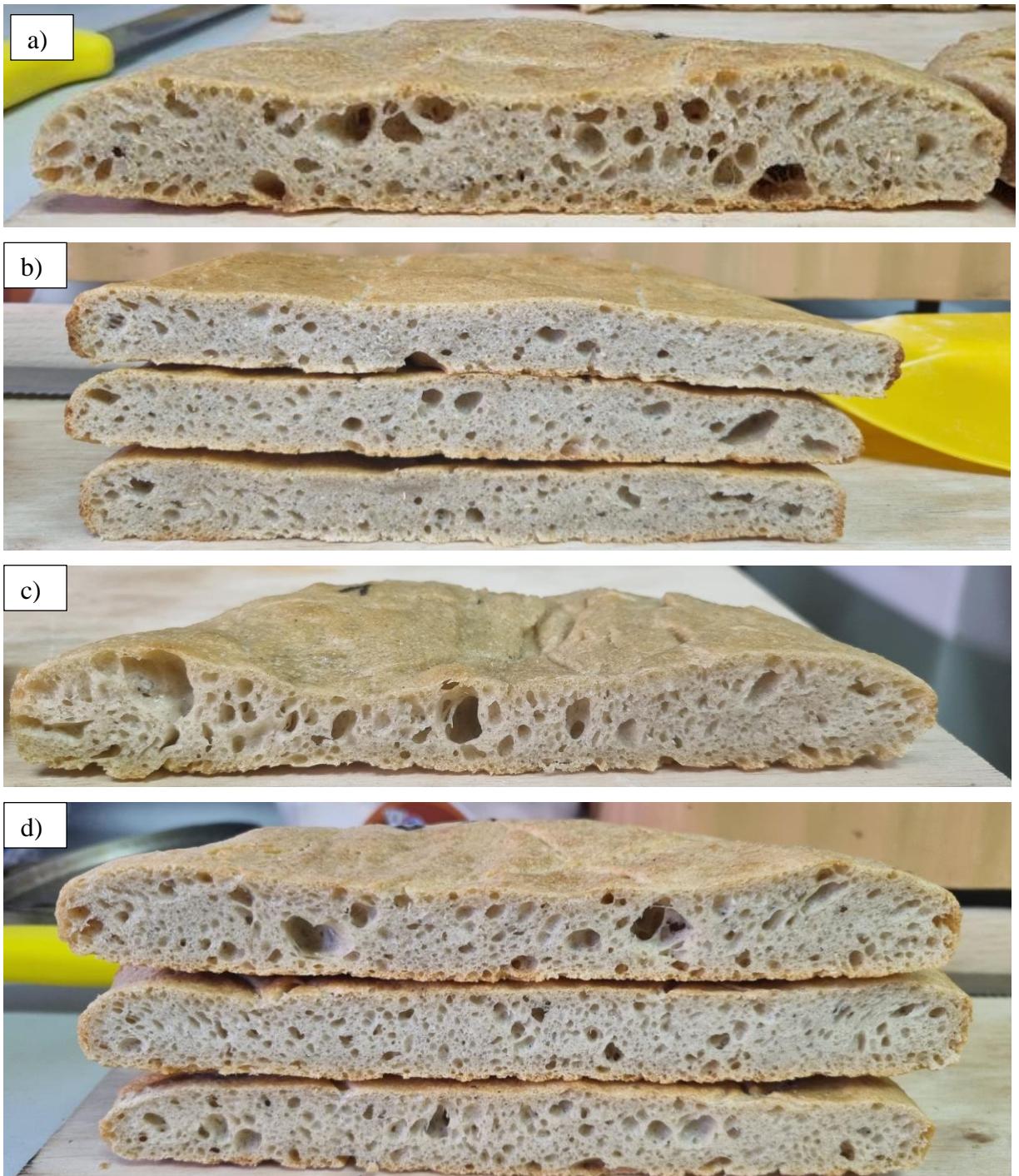
#### **4.3.1. Vanjski izgled i boja kruha**

Na slici 8 nalaze se primjeri gornje i donje površine kruhova dobivenih pečenjem oblikovanog tijesta u čijim se zamjesima nalazilo pulsirajućim električnim poljem obrađeno ječmeno, odnosno zobeno brašno. Na uzorcima je vidljivo da je boja površine neravnomjerno raspoređena, odnosno pojedini dijelovi kruha su jače pečeni od drugih, pa se u svrhu dobivanja što točnijih rezultata, određivanje boje prijenosnim spektrofotometrom na svim uzorcima vršilo i na gornjoj i donjoj površini, s time da je na svakoj od njih izvršeno četiri mjerenja na različitim mjestima, a vrijednosti ( $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ ) su potom prikazane kao srednje vrijednosti svih mjerena s pripadajućom standardnom devijacijom što je sumarno prikazano u tablici 6. Budući da je boja zapravo jedna od najvažnijih senzorskih karakteristika koja izravno utječe na preferencije potrošača prema bilo kojem proizvodu pa tako i kruhu, valja obratiti pozornost na ovu karakteristiku prilikom razvoja optimalnih receptura (Zaki i Hussien, 2018).

Na slici 9 prikazani su presjeci kruhova u čijim se sastavima nalazilo nativno i PEP-om obrađeno ječmeno brašno te nativno i PEP-om obrađeno zobeno brašno. Vidljiva je porozna sredina uzorka, a prema Petrauskas (2011), poroznost je jedno od najvažnijih svojstava kvalitete proizvoda od žitarica dok je konačna struktura sredine ključna za prihvatanje pekarskih proizvoda od strane potrošača.



**Slika 8.** Vizualni prikaz gornje i donje površine: a) kruha u čijem se zamjesu nalazilo PEP tretirano ječmeno brašno i b) kruha u čijem se zamjesu nalazilo PEP obrađeno zobeno brašno (vlastita fotografija)



**Slika 9.** Presjek tankih kruhova u čijim se zamjesima nalazilo: a) nativno ječmeno brašno, b) PEP-om obrađeno ječmeno brašno c) nativno zobeno brašno i d) PEP-om obrađeno zobeno brašno (vlastita fotografija)

**Tablica 6.** Boja kore pečenih kruhova

Uzorak	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	$\Delta E^*$
<b>Pšenično brašno (85 % T-850 + 15 % T-550)</b>	$53,47 \pm 0,34^b$	$1,34 \pm 0,12^b$	$3,53 \pm 0,21^b$	/
<b>Pšenično brašno (70 %) + nativno ječmeno brašno (30 %)</b>	$54,17 \pm 0,46^{ab}$	$1,51 \pm 0,18^{ab}$	$3,88 \pm 0,09^b$	$0,85 \pm 0,34^b$
<b>Pšenično brašno (70 %) + PEP- om obrađeno ječmeno brašno (30 %)</b>	$54,50 \pm 0,24^{ab}$	$1,27 \pm 0,05^b$	$3,57 \pm 0,17^b$	$1,04 \pm 0,25^b$
<b>Pšenično brašno (70 %) + nativno zobeno brašno (30 %)</b>	$55,03 \pm 0,86^a$	$1,60 \pm 0,27^{ab}$	$5,13 \pm 0,37^a$	$2,30 \pm 0,78^a$
<b>Pšenično brašno (70 %) + PEP- om obrađeno zobeno brašno (30 %)</b>	$53,44 \pm 0,37^b$	$1,82 \pm 0,06^a$	$3,56 \pm 0,24^b$	$0,60 \pm 0,06^b$

<sup>a,b</sup> srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar iste kolone se prema Tukey post-hoc testu značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

Prema Baik i Ulrich, inkorporacija ječma u proizvode rezultira tamnom diskoloracijom nepoželjnom za potrošače, a koja je posljedica odvijanja enzimskih ili neenzimskih reakcija. Pritom je neenzimsko posmeđivanje rezultat polimerizacije endogenih fenolnih spojeva i Maillardovih reakcija, dok je enzimsko posmeđivanje uglavnom uzrokovanu aktivnošću polifenol oksidaze koja oksidira polifenolne spojeve, čiji je sadržaj u zrnu ječma veći u odnosu na druge žitarice, u o-kinone koji poslijedično kondenziraju i reagiraju s drugim fenolnim spojevima ili aminokiselinama pritom uzrokujući diskoloraciju. Također, i dodatak zobenog brašna rezultira dobivanjem tamnjeg proizvoda u odnosu na kontrolni uzorak s pšenicom (Krochmal-Marczak i sur., 2020).

Iz tih razloga, bilo je očekivano da će L\* vrijednosti za kontrolne uzorke s pšenicom biti najveće, odnosno da će oni biti najsvjetlijci, ali to nije bio slučaj. Isto tako smatralo se da će uzorci koji sadržavaju zobeno brašno biti tamniji (imati nižu L\* vrijednost) u odnosu na uzorke ječma budući da su rezultati od strane Andrzej i sur. (2019) pokazali niže vrijednosti što su obrazložili činjenicom da je  $\beta$ -glukan iz zobi imao veću molekulsku masu što rezultira većom apsorpcijom vode pa se reakcije poput neenzimskog posmeđivanja odvijaju brže. Dobiveni rezultati su bili suprotni od očekivanog budući da su L\* vrijednosti za kontrolne uzorke pšenice bile nešto, ali opet ne i značajno niže u odnosu na kontrolne uzorke ječma i zobi što se ipak poklapa s rezultatima dobivenim od strane Sullivan i sur. (2010).

Isto tako, povećanje vrijednosti parametara a\* i b\* kao što je to na primjer bilo u uzorcima s PEP-om obrađenim ječmenim brašnom odgovaraju povećanju crvenila, odnosno žutila što se odvija na početku neenzimskog posmeđivanja, dok proizvodi intenzivnjom zelenom i plavom bojom nastaju tek kasnije kao rezultat sekundarnih reakcija (Zaki i sur., 2018).

Proučavanjem dobivenih vrijednosti vezanih uz ukupnu razliku boje  $\Delta E$  vidljivo je da uzorci s nativnim i PEP-om obrađenim ječmenim brašnom kao i oni s PEP-om obrađenim zobenim brašnom ukazuju na malu razliku u boji u odnosu na kontrolni pšenični uzorak ( $\Delta E < 1,5$ ), dok uzorak s nativnim zobenim brašnom ukazuje na izrazitu razliku u boji ( $1 < \Delta E < 3$ ) u odnosu na kontrolni pšenični uzorak (Pathare i sur., 2012).

Na kraju, budući da boja nije bila jednaka duž cijelih gornjih i donjih površina kruhova, moguće je da bi u potpunosti realni rezultati blago odudarali od izmjerениh vrijednosti koje pak ovise o području koje je bilo zahvaćeno prijenosnim spektrofotometrom. Također, ukoliko bi se umjesto kore određivao utjecaj inkorporacije zobenog i ječmenog brašna na boju sredine kruha, rezultati bi mogli pokazati drugačije vrijednosti kao što je to i bilo u slučaju Andrzej i sur. (2019).

#### 4.3.2. Specifični volumen, gubitak mase pečenjem i oblik kruha

Kao što je već rečeno, specifični volumen i oblik kruha se povezuju s procjenom kvalitete krušnih proizvoda, a vrijednosti dobivene analizom uzorka, zajedno s određenim gubicima mase koji su nastupili prilikom pečenja su prikazani u tablici 7.

**Tablica 7.** Fizikalna svojstva tankog kruha

Uzorak	Specifični volumen (cm <sup>3</sup> /g)	Gubitak mase pečenjem (%)	Promjer (cm)	Visina (cm)	Oblik
<b>Kontrola (85 % T-850 + 15 % T-550)</b>	3,14 ± 0,03 <sup>a</sup>	16,95 ± 0,74 <sup>a</sup>	19,25 ± 0,13 <sup>ab</sup>	3,46 ± 0,05 <sup>a</sup>	5,56 ± 0,05 <sup>c</sup>
<b>Pšenično brašno (70 %) + nativno ječmeno brašno (30 %)</b>	2,38 ± 0,00 <sup>bc</sup>	17,23 ± 1,02 <sup>a</sup>	18,83 ± 0,13 <sup>b</sup>	2,56 ± 0,08 <sup>b</sup>	7,36 ± 0,28 <sup>b</sup>
<b>Pšenično brašno (70 %) + PEP-om obrađeno ječmeno brašno (30 %)</b>	1,82 ± 0,11 <sup>d</sup>	18,49 ± 0,48 <sup>a</sup>	19,37 ± 0,25 <sup>a</sup>	1,64 ± 0,08 <sup>d</sup>	11,82 ± 0,65 <sup>a</sup>
<b>Pšenično brašno (70 %) + nativno zobeno brašno (30 %)</b>	2,48 ± 0,08 <sup>b</sup>	17,32 ± 0,76 <sup>a</sup>	19,30 ± 0,20 <sup>a</sup>	2,62 ± 0,01 <sup>b</sup>	7,38 ± 0,06 <sup>b</sup>
<b>Pšenično brašno (70 %) + PEP-om obrađeno zobeno brašno (30 %)</b>	2,25 ± 0,10 <sup>c</sup>	17,59 ± 0,06 <sup>a</sup>	19,12 ± 0,06 <sup>ab</sup>	2,33 ± 0,04 <sup>c</sup>	8,21 ± 0,14 <sup>b</sup>

a-d srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar iste kolone se prema Tukey post-hoc testu značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

Iz dobivenih rezultata, vidljivo je da se obogaćivanjem kruha ječmenim ili zobenim brašnom specifični volumen smanjuje, a što je utvrđeno ANOVA i Tukey testom ( $p < 0,01$ ) te je u skladu i s rezultatima istraživanja vođenih od strane Sullivan i sur. (2010) i Amoriello i sur. (2020), a vezanih za obogaćivanje brašna ječmenim sirovinama te s rezultatima dobivenim od strane Krochmal-Marczak i sur. (2020) vezanih uz dodatak zobenog brašna u zamjes za kruh. Prema Andrzej i sur. (2019), smanjenje specifičnog volumena kruha je povezano s prisutnošću

$\beta$ -glukana u brašnima ječma i zobi. Naime, frakcije topljivih vlakana kao što je primjerice  $\beta$ -glukan otežavaju zadržavanje plinova radi interakcije s mrežom glutena, a u isto vrijeme čine tjesto previše krutim za inkorporaciju plinova prilikom miješanja i fermentacije. Što se tiče interakcije s glutenom, kao što je već i bilo spomenuto,  $\beta$ -glukan veže vodu pri čemu je čini manje dostupnom za proteine glutena što posljedično dovodi do otežanog stvaranja glutenske mreže te poremećaja u strukturi uzrokujući, između ostalog, smanjenje specifičnog volumena. Amoriello i sur. (2020) i Krochman-Marczak i sur. (2020) su također naveli ovo obrazloženje. Dobiveni rezultati se pri tom mogu povezati i s rezultatima dobivenim određivanjem kinetike agregacije glutena. Naime, vrijednosti maksimalne torzije se smanjuju ukoliko je pšenično brašno obogaćeno ječmenim ili zobenim što ukazuje na utjecaj  $\beta$ -glukana na stabilnost glutenske mreže. Uz to, brašno loše tehnološke kvalitete karakterizira brzo razvijanje glutenske mreže, a ubrzo nakon toga slijedi i njena brza razgradnja što se posljedično odražava i na specifični volumen, odnosno on se smanjuje. Isto tako, prema Gómez i sur. (2003), povećanje udjela vlakana u zamjesu uzrokuje sve veće smanjenje specifičnog volumena kruha što je vidljivo na dobivenim rezultatima budući da su uzorci u kojima su brašna bila obrađena PEP-om pokazivala značajno manje vrijednosti specifičnog volumena u odnosu na njihove kontrolne nativne uzorke. Andrzej i sur. (2019) uz to još ukazuju da na specifičan volumen kruha ne utječe samo koncentracija već i molekularna masa  $\beta$ -glukana.

Iz dobivenih rezultata koji se podudaraju s rezultatima autora Krochman-Marczak i sur. (2020), vidljivo je da se gubitak mase pečenjem nešto povećao ukoliko se pšenično brašno djelomično zamijenilo zobenim, odnosno ječmenim, s time da su uzorci koji su sadržavali PEP-om obrađeno brašno i zobi i ječma ukazali na veći gubitak mase uslijed pečenja u odnosu na uzorke koji su sadržavali nativne oblike toga brašna. Međutim, ANOVA analizom je utvrđeno da se vrijednosti ne razlikuju značajno pa stoga dobivenim rezultatima ne može potvrditi da veći sadržaj  $\beta$ -glukana u brašnu utječe na povećanje gubitka mase prilikom pečenja kao što je to utvrđeno od strane Hager i sur. (2011). Gubitak mase pečenjem je zapravo vrlo važan parametar određivanja tehnološke vrijednosti kruha, a ovisi o količini vode i hlapljivih tvari kao što su ugljikov dioksid, alkohol i hlapljive kiseline izgubljenih tijekom termalne obrade. Sa stajališta tehnologije pečenja kruha, to je gubitak koji se nastoji minimalizirati, premda se s druge strane ne može u potpunosti ukloniti budući da se u tom slučaju površina kruha ne bi razvila pravilno što bi dovelo do neadekvatnog pečenja (Krocman-Maczak i sur., 2020).

Što se tiče oblika kruhova (promjer/visina), dobiveni rezultati ukazuju, a provedene dodatne analize utvrđuju ( $p < 0,01$ ) da obogaćivanje kruhova ječmenim odnosno zobenim brašnom utječe na povećanje vrijednosti što je i u skladu s rezultatima dobivenim od strane Levent i Bilgiçli (2012). Također, Baumgartner i sur. (2018) su u promatranjima fizioloških svojstava keksa obogaćenih zobenim mekinjama došli do jednakog zaključka. Vidljivo je i da su kruhovi u čijem su se sastavu nalazila brašna zobi, odnosno ječma obrađena pulsirajućim električnim poljem pokazivala veće vrijednosti oblika nego li ona koja nisu bila obrađena pa je prema tome moguće da na oblik kruha utječe prisutna količina  $\beta$ -glukana. Uz to, razlika u vrijednosti promjera i visine, a posljedično i oblika kruha je bila znatno veća između uzoraka dobivenih nativnim i PEP-om obrađenim ječmenim brašnom u odnosu na nativno i PEP-om obrađeno zobeno brašno.

#### 4.3.3. Tekstura

Tekstura je osjetilna i funkcionalna manifestacija površinskih, strukturnih i mehaničkih svojstava hrane otkrivena osjetilima dodira, vida, sluha i kinestetike (Szczesniak, 2002). Objektivno se tekstura procjenjuje instrumentalnim uređajem, točnije teksturometrom, pri čemu se simulacijom kretanja gornje vilice pri zagrizu dobiva tipična krivulja pomoću koje se mogu pratiti brojni parametri teksture što je u ovom slučaju uključivalo tvrdoću, kohezivnost, otpor i elastičnost (Liu i sur., 2019), a sve dobivene srednje vrijednosti su zajedno s pripadajućim standardnim devijacijama potom prikazane u tablici 8.

**Tablica 8.** Profil teksture sredine kruha

Uzorak	Tvrdoća (N)	Kohezivnost	Žvakljivost (Nmm)	Elastičnost
<b>Pšenično brašno (85 % T-850 + 15 % T-550)</b>	$51,56 \pm 2,64^a$	$0,86 \pm 0,01^a$	$158,95 \pm 6,80^a$	$0,85 \pm 0,04^a$
<b>Pšenično brašno (70 %) + nativno ječmeno brašno (30 %)</b>	$39,58 \pm 3,68^{bc}$	$0,72 \pm 0,04^b$	$96,82 \pm 11,74^b$	$0,71 \pm 0,01^b$
<b>Pšenično brašno (70 %) + PEP-om obradeno ječmeno brašno (30 %)</b>	$35,47 \pm 1,93^c$	$0,63 \pm 0,03^c$	$70,54 \pm 9,28^b$	$0,61 \pm 0,03^c$
<b>Pšenično brašno (70 %) + nativno zobeno brašno (30 %)</b>	$45,68 \pm 3,85^{ab}$	$0,81 \pm 0,03^a$	$148,89 \pm 20,49^a$	$0,80 \pm 0,05^{ab}$
<b>Pšenično brašno (70 %) + PEP-om obradeno zobeno brašno (30 %)</b>	$45,42 \pm 4,31^{ab}$	$0,80 \pm 0,03^a$	$144,57 \pm 17,24^a$	$0,78 \pm 0,03^{ab}$

a-c srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar iste kolone se prema Tukey post-hoc testu značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

Tvrdoća je prema Carocho i sur. (2019) definirana kao sila koju zubi moraju primijeniti na hranu, a na temelju dobivenih rezultata vidljivo je da se tvrdoća uzorka značajno smanjila dodatkom ječmenog brašna ( $p < 0,05$ ). Tvrdoća se smanjila i dodatkom zobenog brašna, ali ne značajno. Obrada brašna PEP-om posljedično je uzrokovala nešto veće, ali ne i značajno smanjenje vrijednosti tvrdoće u odnosu na nativno brašno. Dobiveni rezultati se poklapaju s rezultatima analize provedene od strane Hu i sur. (2022) te Hager i sur. (2011) gdje je inkorporacija  $\beta$ -glukana izoliranog iz zobi u zamjes uzrokovala smanjenje tvrdoće gotovog proizvoda. Mogući razlog tome je što  $\beta$ -glukan može stvarati gelove koji imaju meku strukturu što posljedično utječe na tvrdoću kruha (Andrzej i sur., 2019). Suprotno tome, vrijednosti parametra tvrdoće su povećanjem udjela zobenog brašna u recepturi porasle u istraživanju autora Astiz i sur. (2022).

Nadalje, kohezivnost je pojam koji se odnosi na uspješnost hrane da izdrži drugu deformaciju u odnosu na njenu otpornost prema prvoj deformaciji (Carocho i sur., 2019). Povećanje kohezivnosti odražava smanjenu tendenciju kruha na mravljenje (Ortiz de Erive i sur.,

2020). Rezultati ovog rada su pokazali da obogaćivanje kruha ječmenim brašnom uzrokuje značajno smanjenje vrijednosti parametra kohezivnosti ( $p < 0,01$ ). Obogaćivanje kruha zobenim brašnom je također utjecalo na smanjenje vrijednosti kohezivnosti, ali ne i značajno kao što je bilo u slučaju ječmenog brašna. Pregledom rezultata je također vidljivo da je obrada ječmenog, odnosno zobenog brašna PEP-om posljedično utjecala na smanjenje kohezivnosti uzoraka u usporedbi s nativnim brašnom istih izvora. Rezultati se poklapaju s rezultatima dobivenih od strane Sullivan i sur. (2010) koji su isto tako utvrdili da obogaćivanje recepture kruha ječmenim brašnom dovodi do smanjenja vrijednosti parametra kohezivnosti.

Žvakljivost se obično definira kao energija potrebna za žvakanje hrane, a proizlazi iz vrijednosti tvrdoće, odnosno kohezivnosti te elastičnosti. Prema tome, najtvrdi kruh bi trebao biti i onaj koji pokazuje i najveće vrijednosti žvakljivosti što znači da je potrebno više uložene energije da bi se pojeo, a to i je očekivano budući da je potrebno uložiti veću snagu za žvakanje tvrdih u odnosu na meke tvari (Carocho i sur., 2019). Dobiveni rezultati se podudaraju s navedenom izjavom te su osim povezanosti s tvrdoćom ukazali da su se vrijednosti parametra žvakljivosti smanjile obogaćivanjem kruha ječmenim ili zobenim brašnom te da se dodatkom PEP-tretiranog ječmenog, odnosno zobenog brašna još više pridonijelo smanjenju vrijednosti prethodno spomenutog parametra što se poklapa i s rezultatima istraživanja provedenog od strane Hu i sur. (2022) gdje je dodatak  $\beta$ -glukana izoliranog iz zobi utjecao na niže dobivene vrijednosti žvakljivosti.

Elastičnost se odnosi na tendenciju određenog proizvoda da povrati svoju izvornu visinu (Carocho i sur., 2019). Pregledom dobivenih rezultata, vidljivo je da se zamjenom 30 % pšeničnog brašna s ječmenim nativnim brašnom vrijednosti elastičnosti značajno smanjuju ( $p < 0,01$ ). Vrijednosti se smanjuju i zamjenom pšeničnog brašna sa zobenim, ali ne značajno. Uz to, obogaćivanje PEP-om obrađenim brašnom još je više utjecalo na smanjenje vrijednosti u odnosu na nativno ječmeno ( $p < 0,05$ ), odnosno zobeno brašno. Smanjenje vrijednosti elastičnosti povećanjem udjela zobenog brašna primjetili su i Tiwari i sur. (2013) što su objasnili kao posljedicu promjene u glutenskoj mreži prilikom inkorporacije zobenog brašna. S druge strane, Hu i sur. (2022) su uočili da se dodatkom  $\beta$ -glukana vrijednost elastičnosti povećala u odnosu na kontrolni uzorak što se kosi s dobivenim rezultatima ovog rada.

## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata analiza, a potom i provedene rasprave može se zaključiti da:

1. Primjena PEP-a na suspenziju ječmenog i zobenog brašna smanjuje aktivnost enzima  $\beta$ -glukanaze za 46,24 % u ječmenom i 76,48 % u zobenom brašnu. Posljedično, količina ekstrahiranih  $\beta$ -glukana u tretiranim uzorcima se povećava, pa bi se obrada PEP-om potencijalno mogla koristiti u razvoju receptura obogaćenih proizvoda.
2. Promjena recepture utječe na tehnološka svojstva tijesta. Vrijeme maksimalne torzije se povećava dodatkom nativnog ječmenog (za 6,36 %), ali smanjuje dodatkom nativnog zobenog (za 20,30 %), PEP-ječmenog (za 22,71 %) i PEP-zobenog (za 59,99 %) brašna u odnosu na kontrolne pšenične uzorke što upućuje na slabljenje glutenske mreže.
3. Pri određivanju želatinizacijskih svojstva škroba, maksimalna viskoznost se smanjuje dodatkom nativnog ječmenog (za 16,83 %) i PEP-ječmenog (za 20,27 %) brašna, a povećava dodatkom nativnog zobenog (za 15,95 %) i PEP-zobenog (za 12,07 %) brašna.
4. Kompleksna viskoznost uzoraka tijesta se povećava dodatkom nativnog (za 17,95 %) i PEP-ječmenog (za 15,19 %) te nativnog (za 53,57 %) i PEP-zobenog (za 113,26 %) brašna. Maksimalno smičnog naprezanje se smanjuje dodatkom nativnog (za 75,74 %) i PEP-ječmenog (za 79,21 %) brašna, a povećava dodatkom nativnog (za 75,25 %) i PEP-zobenog brašna (za 105,44 %). Prema tome, uzorci tijesta s ječmenim brašnom su mekši, a sa zobenim brašnom tvrđi u odnosu na kontrolne pšenične uzorke.
5. Povećanje udjela  $\beta$ -glukana u brašnu smanjuje specifični volumen kruha: za 24,47 % dodatkom nativnog ječmenog, 21,03 % dodatkom nativnog zobenog te za 42,10 % dodatkom PEP-ječmenog, odnosno 28,50 % PEP-zobenog brašna.
6. Djelomičnom zamjenom pšeničnog brašna smanjuje se tvrdoća i žvakljivost kruha. Tvrdoća se smanjuje za 23,23 % upotrebom nativnog i 31,21 % upotrebom PEP-ječmenog brašna te za 14,40 % u slučaju nativnog zobenog, odnosno 11,91 % u slučaju PEP-zobenog brašna. Žvakljivost se smanjuje za 39,09 % upotrebom nativnog i za 55,62 % upotrebom PEP-ječmenog brašna te za 6,33 % upotrebom nativnog i za 9,05 % upotrebom PEP-zobenog brašna u odnosu na kontrolne pšenične uzorke.

Sveukupno, obrada brašna PEP-om utječe na povećanje sadržaja  $\beta$ -glukana što dovodi do promjene reoloških svojstava brašna i tijesta u koje se dodaje, a naposlijetku i gotovog proizvoda koji je nutritivno obogaćen, no za adekvatnu procjenu kvalitete dobivenog proizvoda, neophodna je još i senzorska analiza od strane treniranih panelista.

## 6. LITERATURA

AACC 10-05:2000 Approved methods of the American Association of Cereal Chemists.

Abou-Raya MA, Rabiae MM, El-Shazly AS, El-Fadaly ES (2014) Effect of adding barley and oat flour on the rheological properties of bread dough. *J food & dairy sci* **5**, 641-652. <https://doi.org/10.21608/JFDS.2014.53085>

Amoriello T, Mellara F, Galli V, Amoriello M, Ciccoritti R (2020) Technological Properties and Consumer Acceptability of Bakery Products Enriched with Brewers' Spent Grains. *Foods* **9**, 1492. <https://doi.org/10.3390/foods9101492>

Andrzej KM, Małgorzata M, Sabina K, Horbańczuk OK, Rodak E (2019) Application of rich in  $\beta$ -glucan flours and preparations in bread baked from frozen dough. *Food Sci Technol Int* **26**, 53-64. <https://doi.org/10.1177/1082013219865379>

Angersbach A, Heinz V, Knorr, D. (1999) Electrophysiological Model of Intact and Processed Plant Tissues: Cell Disintegration Criteria. *Biotechnol Progr* **15** 753–762. <https://doi.org/10.1021/bp990079f>

Astiz V, Guardianelli LM, Salinas MV, Brites C, Puppo MC (2023) High  $\beta$ -Glucans Oats for Healthy Wheat Breads: Physicochemical Properties of Dough and Breads. *Foods* **12**, 170. <https://doi.org/10.3390/foods12010170>

Baik B, Ullrich SE (2008) Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. *J Cereal Sci* **48**, 233-242. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.02.002>

Baumgartner B, Özkan B, Saka I, Özkan H (2018) Functional and physical properties of cookies enriched with dephytinized oat bran. *J Cereal Sci* **80**, 24–30. <http://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.01.011>

Boukid, F (2022) Flatbread - A canvas for innovation: A review. *Appl Food Res* **2**, 100071. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100071>

Brennan CS i Samyue E (2004) Evaluation of Starch Degradation and Textural Characteristics of Dietary Fiber Enriched Biscuits, *Int J Food Prop* **7**, 647-657, <https://doi.org/10.1081/JFP-200033070>

Cao H, Gao F, Shen H, Su Q, Guan X, Sun Z, Yu Z (2023) Influence of partial substitution of wheat flour with sprouted oat flours on physicochemical and textural characteristics of wheat bread. *J Cereal Sci* **110**, 103649. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103649>

Cardone G, D'Incecco P, Casiraghi MC, Marti A (2020) Exploiting Milling By-Products in Bread-Making: The Case of Sprouted Wheat. *Foods* **9**, 260. <https://doi.org/10.3390/foods9030260>

Carocho M, Morales P, Ciudad-Mulero M i sur. (2019) Comparison of Different Bread Types: Chemical and Physical Parameters. *Food Chem* **310**, 125954. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125954>

Caseiro C, Dias JNR, de Andrade Fontes CMG, Bule P (2022) From Cancer Therapy to Winemaking: The Molecular Structure and Applications of  $\beta$ -Glucans and  $\beta$ -1, 3-Glucanases. *Int J Mol Sci* **23**, 3156. <https://doi.org/10.3390/ijms23063156>

Cauvain S (2012) Breadmaking: an overview. U: Cauvain S (ured.) Breadmaking improving quality, 2.izd., Woodhead Publishing, Oxford/Cambridge/Philadelphia/New Delhi, str. 9-29.

Cauvain S (2015) Technology of Breadmaking, 3. izd., Springer, Witney, str. 1-57.

Ćurić D, Novotni D, Smerdel B (2014) Bread making. U: Guiné RDPF, dos Reis Correia PM (ured.). Engineering aspects of cereal and cereal-based products, CRC Press, Boca Raton, str. 149-175.

Du B, Meenu M, Liu H, Xu B (2019) A concise review on the molecular structure and function relationship of  $\beta$ -glucan. *Int J Mol Sci* **20**, 4032-4050. <https://doi.org/10.3390/ijms20164032>

Durmus Y, Anil M, Simsek S (2023) Discrimination of Glutopeak Test and Mixograph Parameters for Evaluation of Wheat Flour Supplemented with Hazelnut Skin, Cross-Linked Starch, and Oxidized Starch. *Foods* **12**, 328. <https://doi.org/10.3390/foods12020328>

EFSA Povjerenstvo o prehrani, novoj hrani i alergenima u hrani (NDA) (2011a). Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to barley beta-glucans and lowering of blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J* **9**, 2470. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2471>  
EFSA - European Food Safety Authority

EFSA Povjerenstvo o prehrani, novoj hrani i alergenima u hrani (NDA) (2011b). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to beta-glucans from oats and barley and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1236, 1299), increase in satiety leading to a reduction in energy intake (ID 851, 852), reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 821, 824), and “digestive function”(ID 850) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J* **9**, 2207. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2207>

EFSA Povjerenstvo o prehrani, novoj hrani i alergenima u hrani (NDA) (2010); Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to oat beta-glucan and lowering blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J* **8**, 1885. <http://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1885>

Garzon R, Gasparre N, Pasqualone A, Papageorgiou M, Grgic T, Le-Bail P i sur.(2022). Flatbreads on the Rise, What about their Nutritional Quality? The Current State of the Mediterranean Market. *Med Res Arch* **10**, <https://doi.org/10.18103/mra.v10i7.2920>

Gocmen D, Inkaya AN, Aydin E (2009) Flat breads. *Bulg J Agric Sci* **15**, 298-306.

Goel S, Singh M, Grewal S, Razzaq A, Wani SH (2021) Wheat proteins: a valuable resources to improve nutritional value of bread. *Front sustain food syst* **5**, 769681. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.769681>

Gómez M, Ronda, Blanco CA, Caballero PA, Apesteguía A (2003) Effect of dietary fibre on dough rheology and bread quality. *Eur Food Res Techol* **216**, 51-56.

<http://doi.org/10.1007/s00217-002-0632-9>

Grgić T, Pavišić Z, Maltar-Strmečki N, Voučko B, Čukelj Mustač N, Ćurić, D i sur. (2023) Ultrasound-assisted Modification of Enzymatic and Antioxidant Activities, Functional and Rheological Properties of Oat and Barley Bran. *Food Bioprocess Tech*, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03074-5>

Gregov M (2020) Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta ne enzimsku aktivnost i tehnološka svojstva pšeničnih posija (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Gupta M, Bawa AS, Semwal AD (2009) Morphological, thermal, pasting, and rheological properties of barley starch and their blends. *Int J Food Prop* **12**, 587-604. <https://doi.org/10.1080/10942910801947763>

Habuš M, Golubić P, Vukušić Pavičić T i sur. (2021) Influence of Flour Type, Dough Acidity, Printing Temperature and Bran Pre-processing on Browning and 3D Printing Performance of Snacks. *Food Bioprocess Technol* **14**, 2365–2379. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02732-w>

Hackenberg S, Verheyen C, Jekle M, Becker T (2017) Effect of mechanically modified wheat flour on dough fermentation properties and bread quality. *Eur Food Res Technol* **243**, 287-296. <http://doi.org/10.1007/s00217-016-2743-8>

Hager AS, Ryan LAM, Schwab C, Gänzle MG, O'Doherty JV, Arendt EK (2011). Influence of the soluble fibres inulin and oat  $\beta$ -glucan on quality of dough and bread. *Eur Food Res Technol* **232**, 405–413. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1409-1>

Hu H, Lin H, Xiao L, Guo M, Yan X, Su X, Liu L, Sang S (2022) Impact of Native Form Oat  $\beta$ -Glucan on the Physical and Starch Digestive Properties of Whole Oat Bread. *Foods* **11**, 2622. <https://doi.org/10.3390/foods11172622>

Huen J, Börsmann J, Matullat I i sur. (2018) Wheat flour quality evaluation from the baker's perspective: comparative assessment of 18 analytical methods. *Eur Food Res Technol* **244**, 535–545. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2974-3>

Ibrahim UK, Salleh R, Maqsood-ul-Haque SNS (2015) Bread towards functional food: an overview. *Int J Food Eng* **1**, 39-43. <https://doi.org/10.18178/ijfe.1.1.39-43>

ISO 115/1:1992 Method for using the Brabender Farinograph

Iveković, S (2022) Svojstva kvalitete trodimenzijski tiskanoga snack proizvoda obogaćenog s fermentiranim posijama pšenice i amaranta (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Jayachandran M, Chen, J, Chung SSM, Xu B (2018) A critical review on the impacts of  $\beta$ -glucans on gut microbiota and human health. *J Nutr Biochem* **61**, 101-110. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.06.010>

Jacob JP, Pescatore AJ (2014) Barley  $\beta$ -glucan in poultry diets. *Ann. Transl. Med.*, **2**, 20.

<http://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2014.01.02>

Karaduman Y, Sayaslan A, Akın A (2020) GlutoPeak parameters of whole wheat flours for gluten quality evaluation in soft wheat breeding programs. *J Cereal Sci* **95**, 103031. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103031>

Karim HS, Zainulabidden MW, Sabir DA (2021) Comparison of the responsibility to extract and purify  $\beta$ -glucan of some cereal grains for specific method. *Iraqi J Agric Sci* **52**, 1238-1247. <https://doi.org/10.36103/ijas.v52i5.1461>

Kaur R, Sharma M, Ji D, Xu M, Agyei D (2019) Structural features, modification, and functionalities of beta-glucan. *Fibers* **8**, 1-29. <http://doi.org/10.3390/fib8010001>

Knorr D, Angersbach A (1998) Impact of high-intensity electric field pulses on plant membrane permeabilization. *Trends Food Sci Tech* **9**, 185–191. [http://doi.org/10.1016/s0924-2244\(98\)00040-5](http://doi.org/10.1016/s0924-2244(98)00040-5)

Krochmal-Marczak B, Tobiasz-Salach R, Kaszuba J (2020) The effect of adding oat flour on the nutritional and sensory quality of wheat bread. *Brit Food J* **122**, 2329–2339. <http://doi.org/10.1108/bfj-07-2019-0493>

Kurek MA, Wyrwisz J, Piwińska M, Wierzbicka A (2015) Influence of the wheat flour extraction degree in the quality of bread made with high proportions of  $\beta$ -glucan. *Food Sci Technol* **35**, 273-278. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6537>

Lazaridou A, Biliaderis CG (2007) Molecular aspects of cereal  $\beta$ -glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *J Cereal Sci* **46**, 101-118. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.05.003>

Lebovka N, Bazhal M, Vorobiev E (2002) Estimation of characteristic damage time of food materials in pulsed-electric fields. *J Food Eng* **54**, 337–346. [https://doi.org/10.1016/s0260-8774\(01\)00220-5](https://doi.org/10.1016/s0260-8774(01)00220-5)

Lee NY i Ha KY (2011) Quality characteristics of bread added with oat flours. *Korean J Crop Sci* **56**, 107-112. <https://doi.org/10.7740/kjcs.2011.56.2.107>

Levent H, Bilgiçli N (2012) Evaluation of physical, chemical and sensory properties of Turkish flat breads (bazlama and yufka) supplemented with lupin, buckwheat and oat flours. *Int j food sci nutr* **2**, 89-95. <http://doi.org/10.5923/j.food.20120205.04>

Li Z, Dong Y, Zhou X, Xiao X, Zhao Y, Yu L (2014) Dough Properties and Bread Quality of Wheat-Barley Composite Flour as Affected by  $\beta$ -Glucanase. *Cereal Chem* **91**, 631-638. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-01-14-0019-R>

Liu YX, Cao MJ, Liu GM (2019) Texture analyzers for food quality evaluation. U: Zhong J, Wang X (ured.) Evaluation technologies for food quality, Woodhead Publishing. Duxford/Cambridge/Kidlington, str. 441-463.

Malik H, Nayik GA, Dar BN (2015) Optimisation of process for development of nutritionally enriched multigrain bread. *J Food Process Technol* **7**, 2. <http://dx.doi.org/10.4172/2157->

## 7110.1000544

Marti A, Ulrici A, Foca G, Quaglia L, Pagani MA (2015) Characterization of common wheat flours (*Triticum aestivum* L.) through multivariate analysis of conventional rheological parameters and gluten peak test indices. *LWT - Food Sci Technol* **64**, 95–103. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.05.029>

Martin-Belloso O, Elez-Martínez P (2005) Enzymatic Inactivation by Pulsed Electric Fields. U: Sun DW (ured.) Emerging Technologies for Food Processing, Elsevier Ltd., San Diego/London, str. 155-177.

Murphy EJ, Rezoagli E, Major I, Rowan N, Laffey JG (2021)  $\beta$ -Glucans. *Encyclopedia* **1**, 831-847. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia1030064>

Naliyadhara N, Kumar A, Girisa S, Daimary UD, Hegde, M, Kunnumakkara, AB (2022). Pulsed electric field (PEF): Avant-garde extraction escalation technology in food industry. *Trends Food Sci Tech* **122**, 238-255.

Ohshima T, Tanino T, Guionet A, Takahashi K, Takaki K (2021) Mechanism of pulsed electric field enzyme activity change and pulsed discharge permeabilization of agricultural products. *Jpn J Appl Phys* **60**, 060501-1 – 060501-12. <https://doi.org/10.35848/1347-4065/abf479>

Othman RA, Moghadasian MH, Jones PJ (2011) Cholesterol-lowering effects of oat  $\beta$ -glucan, *Nutr Rev* **69**, 299–309. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2011.00401.x>

Ortiz de Erive M, He F, Wang T, Chen G (2020) Development of  $\beta$ -glucan enriched wheat bread using soluble oat fiber. *J Cereal Sci* **95**, 103051. <http://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103051>

Pasqualone, A (2018) Traditional flat breads spread from the Fertile Crescent: Production process and history of baking systems. *J Ethn Foods* **5**, 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.jef.2018.02.002>

Pasqualone A, Vurro F, Summo C, Abd-El-Khalek MH, Al-Dmoor HH, Grgic T i sur. (2022) The Large and Diverse Family of Mediterranean Flat Breads: A Database. *Foods* **11**, 2326. <https://doi.org/10.3390/foods11152326>

Pathare PB, Opara UL, Al-Said FAJ (2012) Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol* **6**, 36–60. <http://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>

Petrauskas A (2011).The application of the ultrasonic method for evaluating the porosity of bread. *Ultragarsas* **16**, 20-27. <https://www.ndt.net/?id=10941>

Pourafshar S, Rosentrater KA i Krishnan PG (2015) Using alternative flours as partial replacement of barbari bread formulation (traditional Iranian bread). *J Food Sci Technol* **52**, 5691–5699. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1640-z>

Pravilnik (2022) Pravilnik o žitaricama i proizvodima od žitarica. Narodne novine 101, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2022\\_09\\_101\\_1495.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2022_09_101_1495.html) Pristupljeno 10. kolovoza 2023.

Rakita S, Dokić L, Dapčević Hadnađev T, Hadnađev M, Torbica A (2018) Predicting rheological behavior and baking quality of wheat flour using a GlutoPeak test. *J Texture Stud* **49**, 339-347. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12308>

Režek Jambrak A (2009) Procesiranje hrane pulsirajućim električnim poljem (PEP). U: Herceg Z (ured.) Procesi konzerviranja hrane: Novi postupci, Golden marketing, Zagreb, str. 68 -79.

Roberfroid MB (2000) Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am J Clin* **71**, 1660S-1664S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.6.1660S>

Sanchez-Reinoso Z, Todeschini S, Thibodeau J, Ben Said L, Fliss I, Bazinet L, Mikhaylin S (2022) Impact of Pulsed Electric Fields and pH on Enzyme Inactivation and Bioactivities of Peptic Hydrolysates Produced from Bovine and Porcine Hemoglobin. *Foods* **11**, 3313. <https://doi.org/10.3390/foods11213313>

Schlörmann W, Glei M (2017) Potential health benefits of β-glucan from barley and oat. *Ernahr Umsch* **64**, 145–149. <https://doi.org/10.4455/eu.2017.039>

Shvachko NA, Loskutov IG, Semilet TV, Popov VS, Kovaleva ON, Konarev AV (2021). Bioactive Components in Oat and Barley Grain as a Promising Breeding Trend for Functional Food Production. *Molecules* **26**, 2260. <https://doi.org/10.3390/molecules26082260>

Szczesniak AS (2002). Texture is a sensory property. *Food Qual Prefer* **13**, 215–225. [https://doi.org/10.1016/s0950-3293\(01\)00039-8](https://doi.org/10.1016/s0950-3293(01)00039-8)

Shewry PR (2009) Wheat. *J Exp Bot* **60**, 1537–1553. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp058>

Sullivan P, O'Flaherty J, Brunton N i sur. (2010) Fundamental rheological and textural properties of doughs and breads produced from milled pearled barley flour. *Eur Food Res Technol* **231**, 441–453. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1297-4>

Taha A, Casanova F, Šimonis P, Stankevič V, Gomaa MAE, Stirkė A (2022) Pulsed Electric Field: Fundamentals and Effects on the Structural and Techno-Functional Properties of Dairy and Plant Proteins. *Foods* **11**, 1556. <https://doi.org/10.3390/foods11111556>

Tiwari U, Cummins E, Brunton N, O'Donnell C, Gallagher E (2013) A comparison of oat flour and oat bran-based bread formulations. *Brit Food J* **115**, 300–313. <https://doi.org/10.1108/00070701311302258>

Toepfl S, Heinz V, Knorr D (2005) Overview of Pulsed Electric Field Processing for Food. U: Sun DW (ured.) Emerging Technologies for Food Processing, Elsevier Ltd., San Diego/London, str. 69-91.

Torbica A, Belović M, Tomić J (2019) Novel breads of non-wheat flours. *Food Chem* **282**, 134-140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.11>

Vanga SK, Wang J, Jayaram S, Raghavan V (2021) Effects of Pulsed Electric Fields and Ultrasound Processing on Proteins and Enzymes: A Review. *Processes* **9**, 722 - 738. <https://doi.org/10.3390/pr9040722>

[https://astatsa.com/OneWay\\_Anova\\_with\\_TukeyHSD/](https://astatsa.com/OneWay_Anova_with_TukeyHSD/) Pristupljeno 15. kolovoza 2023.

Wang J, Hou GG, Liu T, Wang N, Bock J (2018) GlutoPeak method improvement for gluten aggregation measurement of whole wheat flour. *LWT-Food Sci. Technol* **90**, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.059>

Wang K, Sangha J, Cuthbert R, Fu BX (2021) Effectiveness and biochemical basis of wholemeal GlutoPeak test in predicting water absorption and gluten strength of Canadian hard red spring wheat. *Cereal Chem* **98**, 878-890. <https://doi.org/10.1002/cche.10430>

Wang Z, Ma S, Sun B, Wang F, Huang J, Wang X, Bao Q (2021) Effects of thermal properties and behavior of wheat starch and gluten on their interaction: A review. *Int J Biol Macromol* **177**, 474–484. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.175>

Wrigley CW (2010) Cereal Grains: Assessing and Managing Quality, Woodhead Publishing Limited, Oxford/Cambridge/New Delhi, str. 3-24, 59-103, 141-183.

Yılmaz Tunçel N, Korkmaz F, Polat H, Barış Tunçel N (2022) Monitoring starch hydrolysis with micro visco-amyo-graph for the production of chickpea milk and optimization of the parameters with response surface methodology. *J Food Sci Technol* **59**, 3448–3457. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05332-w>

Zaki H, Elshawaf AM, Makhzangy AEI, Hussien AMS (2018) Chemical, rheological and sensory properties of wheat-oat flour composite cakes and biscuits. *J Product & Dev* **23**, 287-306. <https://doi.org/10.21608/jpd.2018.42018>

## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Martina Novak izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.



Vlastoručni potpis