

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2017.

Valentina Kovač
844/USH

**RAZVOJ TESTA I SENZORSKA
ANALIZA MIRISA
BEZGLUTENSKOG KRUHA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji na Zavodu za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom dr. sc. Marine Krpan, doc. Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te uz pomoć asistentice Saše Drakule, mag. ing.

Diplomski rad izrađen je u okviru znanstveno-istraživačkog projekta: Od nusproizvoda u preradi žitarica i uljarica do funkcionalne hrane primjenom inovativnih procesa (IP-2016-06-3789), financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda

Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

RAZVOJ TESTA I SENZORSKA ANALIZA MIRISA BEZGLUTENSKOG KRUHA

Valentina Kovač, 844/USH

Sažetak: Danas potreba za bezglutenskim proizvodima raste te se stoga sve više obraća pažnja na njihove senzorske karakteristike. Cilj ovog rada bio je razviti deskriptivni test i provesti deskriptivnu i hedonističku senzorsku analizu mirisa bezglutenskih kruhova pripremljenih sa ili bez dodatka brašna graška i kiselog tijesta pripremljenog s različitim bakterijama mliječne kiseline. Dobiveni rezultati ukazuju da sredinu analiziranog bezglutenskog kruha najviše karakterizira miris po grašku, kukuruzu, kiselom tijestu i sirovom tijestu, a koru kruha miris po svježem pečenom kruhu, kikirikiju, pečenom i kukuruzu. Miris kore kruha po svježem kruhu i pečenom je u pozitivnoj, a miris po kukuruzu i kikirikiju u negativnoj korelaciji s rezultatima hedonističke analize. Dodatak brašna graška pojačava miris sredine po grašku i sirovom tijestu te miris kore kruha po grašku i pečenom u kori te negativno utječe na prihvatljivost mirisa. Dodatak kiselog tijesta pozitivno utječe na prihvatljivost mirisa. Miris bezglutenskog kruha pripremljenog bez dodatka brašna graška i s dodatkom kiselog tijesta pripremljenog s *Lactobacillus reuteri* se pokazao najbližiji mirisu pšeničnog bijelog kruha.

Ključne riječi: brašno graška, bezglutenski kruh, deskriptivna senzorska analiza, hedonistička senzorska analiza, kiselo tijesto

Rad sadrži: 45 stranica, 17 slika, 12 tablica, 38 literaturnih navoda, 1 prilog

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: Doc. dr. sc. Marina Krpan

Pomoć pri izradi: Saša Drakula, mag. ing., asistent

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Prof.dr.sc. Mirjana Hruškar
2. Doc.dr.sc. Marina Krpan
3. Doc.dr.sc. Dubravka Novotni
4. Prof.dr.sc. Ines Panjkota Krbavčić

Datum obrane: 22. rujna 2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Quality Control
Laboratory for Food Quality Control

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

TEST DEVELOPMENT AND SENSORY ANALYSIS OF THE ODOUR OF GLUTEN-FREE BREAD

Valentina Kovač, 844/USH

Abstract: The need for gluten-free products increases nowadays, so the attention for their sensory characteristics is growing. The aim of this paper was to develop a descriptive test and to conduct a descriptive and hedonic sensory analysis of the odour of gluten-free bread samples made with or without addition of pea flour and sourdough prepared with different lactic acid bacteria. The obtained results showed that the gluten-free bread crumb of analysed samples was most characterized by the odour attributes peas, corn, sourdough and raw dough like, while crust was characterized by odour attributes freshly baked bread, peanut, roasted and corn like. Fresh bread and baked like odour was positively correlated, while corn and peanut like odour was negatively correlated with hedonic analysis scores for bread crust. The addition of pea flour increased intensity of pea, and raw dough like odour of bread crumb and intensity of pea, baked like odour of bread crust which negatively affected odour acceptability. The sourdough addition positively affected the odour acceptability. The odour of gluten-free bread prepared without pea flour addition and with the addition of sourdough prepared with *Lactobacillus reuteri* showed to be the most similar to the odour of wheat bread.

Keywords: descriptive sensory analysis, gluten-free bread, hedonic sensory analysis, pea flour, sourdough

Thesis contains: 45 pages, 17 figures, 12 tables, 38 references, 1 supplement

Original in: Croatian

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

Mentor: PhD. Marina Krpan, Assistant professor

Technical support and assistance: Saša Drakula, BSc, Research Assistant

Reviewers:

1. PhD. Mirjana Hruškar, Full professor
2. PhD. Marina Krpan, Assistant professor
3. PhD. Dubravka Novotni, Assistant professor
4. PhD. Ines Panjkota Krbavčić, Full Professor

Thesis defended: 22 September 2017

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. MIRIS SVJEŽEG PŠENIČNOG KRUHA.....	2
2.2. BEZGLUTENSKI KRUH.....	4
2.3. BRAŠNO ŽUTOG GRAŠKA (<i>Pisum sativum L.</i>).....	6
2.4. KISELO TIJESTO.....	8
2.5. SENZORSKE ANALIZE.....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	15
3.1. MATERIJALI I METODE.....	15
3.1.1. Uvodna senzorska analiza za prepoznavanje mirisnih atributa	15
3.1.2. Prva rasprava panelista za definiranje mirisnih atributa	16
3.1.3. Druga rasprava panelista za definiranje mirisnih atributa	18
3.1.4. Definiranje intenziteta mirisnih atributa asocijacija pripremljenih za senzorsku analizu	20
3.1.5. Provođenje senzorske analize mirisa uzoraka kruha	21
3.1.6. Obrada dobivenih rezultata	23
4. REZULTATI I RASPRAVA	24
4.1. UVODNA SENZORSKA ANALIZA.....	24
4.2. PRVA RASPRAVA PANELISTA ZA DEFINIRANJE MIRISNIH ATRIBUTA	24
4.3. DRUGA RASPRAVA PANELISTA ZA DEFINIRANJE MIRISNIH ATRIBUTA... 26	
4.4. INTENZITET MIRISNIH ATRIBUTA ASOCIJACIJA PRIPREMLJENIH ZA SENZORSKU ANALIZU	27
4.5. DESKRIPTIVNA I HEDONISTIČKA SENZORSKA ANALIZA MIRISA KRUHA 28	
5. ZAKLJUČCI	41
6. LITERATURA	42
7. PRILOZI	

1. UVOD

Bezglutenska prehrana je tema o kojoj se danas puno govori i s time broj bezglutenskih proizvoda raste. To je vrsta prehrane gdje se izbjegavaju sve namirnice i proizvodi u kojima se nalazi protein gluten, strukturni protein koji se nalazi u žitaricama (pšenica, raž, ječam, zob). Nažalost taj oblik prehrane se vrlo često konzumira iz krivih razloga i radi neinformiranosti potrošača. Njena popularizacija doprinijela je pojavi mnogih bezglutenskih proizvoda na tržištu, s čime se povećao izbor hrane za brojnu populaciju koja pati od kronične intolerancije na gluten, celijakije.

Kruh kao namirnica spada među najstarije proizvode ljudskog roda, i danas je jedan od najviše konzumiranih na svijetu. Postupak proizvodnje pšeničnog kruha je dobro poznat prehrambenoj industriji, dok postupak proizvodnje bezglutenskog kruha zahtijeva još mnogo usavršavanja zbog brojnih nedostataka. Neki od izazova u proizvodnji takvog kruha predstavljaju izostanak glutena jer on, osim svojih nutritivnih vrijednosti, ima i važna svojstva kohezivnosti, elastičnosti i viskoznosti. Izostanak glutena daje proizvod puno lošije kvalitete i senzorskih svojstava.

U svrhu poboljšanja kvalitete bezglutenskog kruha danas se provode brojna istraživanja o utjecaju sastojaka i procesa proizvodnje na povećanje njegove nutritivne vrijednosti i poboljšanje senzorskih svojstava. Kako bi se povećala nutritivna vrijednost bezglutenskog kruha, u tijesto se dodaje brašno mahunarki kao što je brašno žutog graška (*Pisum sativum L.*), koje je bogato škrobom, proteinima, vlaknima i mineralnim tvarima. Osim pozitivnog učinak na nutritivni sastav takvih proizvoda, dodatak brašna graška može nepovoljno utjecati na miris kruha i time smanjiti njegovu prihvatljivost od strane potrošača. Usto, dodatak kiselog tijesta utječe na kvalitetu kruha, točnije na njegovu teksturu, okus, miris, trajnost te nutritivnu vrijednost. Kiselo tijesto se može definirati kao mješavina brašna i vode, fermentirana s bakterijama mliječne kiseline (BMK).

Cilj ovog rada bio je razviti deskriptivni test i provesti deskriptivnu i hedonističku senzorsku analizu mirisa bezglutenskih kruhova napravljenih sa i bez dodatka brašna graška te kiselog tijesta pripremljenog s različitim bakterijama mliječne kiseline, kako bi se utvrdio njihov utjecaj na mirise bezglutenskog kruha.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MIRIS SVJEŽEG PŠENIČNOG KRUHA

Proizvodnja kruha spada u jednu od najstarijih aktivnosti ljudskog roda, i danas se on svrstava međunamirnice koje se najviše konzumiraju na svijetu (Pico i sur., 2015). Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*, WHO) preporuča unos od 250 g kruha dnevno po osobi (Pico i sur., 2015). Kruh je, pojednostavljeno, mješavina brašna, vode i kvasca koja je fermentirala i ispečena je u pećnici (Pico i sur., 2015). Može se još definirati i kao proizvod dizanog tijesta od pšenice (Hager i sur., 2012). Pšenica je žitarica koja se ističe iznad ostalih u proizvodnji kruha upravo zbog udjela glutena koji je odgovoran za jedinstvene viskoelastične osobitosti pšeničnog tijesta i time potencijal za proizvodnju kruha (Hager i sur., 2012).

Doživljaj svježine namirnice tijekom konzumiranja je kompleksan proces koji uključuje međudjelovanje senzorskih svojstava. Upravo zato trenirani panel koristi senzorska svojstva kako bi definirao kvalitetu kruha, a koja mogu biti podijeljena u četiri grupe: izgled, miris, tekstura i okus (Kihlberg i sur., 2006). Kod individualnih potrošača, na percepciju svježine mogu utjecati i sociološki te demografski čimbenici (Heenan i sur., 2008).

Miris kruha je definiran tvarima arome koje se percipiraju putem nosne šupljine (Callejo, 2011). One se stvaraju u različitim fazama proizvodnje kruha: uslijed enzimske aktivnosti tijekom miješanja, tijekom fermentacije, uslijed oksidacije lipida, reakcija tijekom pečenja, Maillard-ovih reakcija i reakcija karamelizacije (Callejo, 2011). Kvaliteta mirisa ovisi o nekoliko čimbenika koji uključuju recepturu kruha (brašno i ostale sirovine), vrstu fermentacije, dodatak enzima, uvjete pečenja i druge. Skladištenje također može utjecati na profil tvari arome (Pico i sur., 2015).

U kruhu se može naći oko 540 hlapivih spojeva, no samo mali dio njih značajno pridonosi njegovom okusu i mirisu (Cho i Peterson, 2010). Kvantitativno najvažnije grupe spojeva koji nastaju tijekom pripreme kruha su: aldehidi, alkoholi, ketoni, esteri, kiseline, pirazini, pirolidi, furani, laktoni i ugljikovodici (Callejo, 2011), od kojih su pirazini najvažniji za aromu kruha (Pacyński i sur., 2015). Važno je napomenuti kada se govori o spojevima koji pridonose mirisu da oni istovremeno pridonose i okusu samog kruha (Callejo, 2011).

Spojeve koji utječu na miris možemo podijeliti na one koji nastaju u kori kruha i one koji nastaju u sredini kruha. Miris sredine pšeničnog kruha je ponajviše definiran s tri spoja –

2-feniletanolom, (E)-non-2-enalom i (2E,4E)-deka-2,4-dienalom, koji su odgovorni za miris po masti. Cvjetno-kvasnom mirisu pridonosi 2-feniletanol, dok slatnom mirisu pridonosi spoj 3-metilbutan-1-ol, a oba djeluju pozitivno na miris (a i okus) kruha te nastaju tijekom fermentacije tijesta, ali i kod kruha napravljenog s dodatkom kiselog tijesta (Grosch i Schieberle, 1997). Ugodni miris kore kruha ovisi o formiranju spojeva tijekom procesa pečenja te o njihovoj stabilnosti tijekom skladištenja. Spojevi kore koji najviše pridonose ugodnom mirisu po pečenom su dva N-heterociklička spoja, 6-acetiltetrahidropiridin i 2-acetil-1-pirolin (Grosch i Schieberle, 1997). Smatra se da je upravo 2-acetil-1-pirolin ključni spoj koji najviše pridonosi karakterističnom mirisu kore (Cho i Peterson, 2010) čiji su prekursori za stvaranje ornitin, citrulin i prolin (Grosch i Schieberle, 1997).

Postoji i mogućnost prijelaza spojeva iz kore u sredinu kruha i obrnuto te su klasificirani u pet skupina (Oinishi i sur., 2011):

- a) hlapivi spojevi formirani u kori koji odmah ishlape,
- b) hlapivi spojevi formirani u kori koji djelomično ishlape, a ostali prelaze u sredinu kruha,
- c) hlapivi spojevi formirani u kori koji djelomično ostanu, a jedni djelomice prelaze u sredinu dok drugi ishlape,
- d) hlapivi spojevi koji svi ishlape iz sredine (bez akumulacije u kori),
- e) hlapivi spojevi formirani u sredini koji se djelomično zadržavaju, a većina se transportira u koru, ali dio i ishlapi.

Količina spojeva koja će nastati u sredini kruha te ishlapati, ovisi o fazi pečenja. Dok se kora ne formira, visoko hlapivi spojevi (2-metilpropan-1-ol, 2-metilbutan-1-ol i 3-metilbutan-1-ol) hlape zajedno s vodom tijekom pečenja. Formiranjem kore nastaje barijera koja sprječava hlapivim spojevima nastalima u sredini da ishlape u potpunosti (Oinishi i sur., 2011).

Kruh je proizvod u kojem svježina ima veliku ulogu pa s time i svi atributi koji tome pridonose. Upravo je olfaktorno određivanje svježine i privlačnosti proizvoda najvažniji senzorski osjet (važnije od vizualnog) (Fenko i sur., 2009).

U tablici 1. se nalaze neki od senzorskih atributa mirisa koji se koriste u deskriptivnoj analizi kruha (Callejo, 2011).

Tablica 1. Mirisni atributi za miris kruha (Callejo, 2011)

Mirisni atributi	Definicija
<i>Miris po pšenici</i>	Tipičan za integralno pšenično brašno pomiješano s kipućom vodom u omjeru 1:2
<i>Pšenični miris</i>	Karakterističan miris za proizvod napravljen kompletno od pšeničnog zrna
<i>Puna pšenična aroma</i>	Karakterističan miris cjelozrnate pšenice
<i>Brašnasti miris</i>	Miris povezan sa standardnim brašnom za pečenje, npr. pšenično brašno
<i>Zrnati miris</i>	Miris karakterističan za žitarice poput pšenice, ječma, zobi, kukuruza
<i>Miris po zobi</i>	Miris karakterističan za žitarice pomiješane s kipućom vodom u omjeru 1:3
<i>Sladni miris</i>	Slatki miris tipičan za mlijeko u prahu, karamelu i/ili slad
<i>Miris po sirutki</i>	Karakterističan miris za sirutku
<i>Miris po kvascu</i>	Miris svježeg ispečenog kruha, miris tipičan za fermentaciju kvasca
<i>Miris po fermentiranom</i>	Karakterističan miris fermentiranog tijesta
<i>Mliječni miris</i>	Miris povezan mliječnim proizvodima
<i>Miris po sijenu</i>	Miris karakterističan za svježeg sijeno
<i>Užegli miris</i>	Miris tipičan za užeglo ulje oraha
<i>Miris po zemlji</i>	Miris tipičan za zemlju
<i>Ustajali miris</i>	Miris asociran s vlažnim žitaricama i/ili vlažnim zrakom
<i>Orašasti miris</i>	Miris karakterističan za mješavinu orašastih plodova
<i>Slatki miris</i>	Karakterističan miris po „ <i>bread egg sponge</i> “
<i>Miris po maslacu</i>	Miris maslaca s lagano užeglom aromom
<i>Masni miris</i>	Slatki miris proizvoda s maslacem npr. lisnato tijesto
<i>Miris po tostiranom</i>	Miris kruha nakon pečenja/tostiranja
<i>Miris po prženim žitaricama</i>	Tipičan miris za pržene žitarice
<i>Miris po tostiranim žitaricama</i>	Miris povezan sa žitaricama koje su posmeđene tako što su bile izložene toplini dovoljnoj da uzrokuje lagano pečenje
<i>Miris po tostiranom</i>	Miris povezan s prženom pšenicom
<i>Miris po pečenoj kori</i>	Miris prženog kruha

2.2. BEZGLUTENSKI KRUH

Bezglutenska prehrana se odnosi na vrstu prehrane gdje se izbjegavaju sve namirnice i proizvodi u kojima se nalazi protein gluten. Sve većim porastom populacije s dijagnozom celijakije, raste i potreba za njima adekvatnom prehranom (Laureati i sur., 2012).

Celijakija je kronična bolest intolerancije na neprobavljive peptide proteina glutena pšeničnog endosperma i sličnih proteina od taksonomski sličnih vrsta (Laureati i sur., 2012).

Konzumacija glutena kod osoba s celijakijom dovodi do upale tankog crijeva koja vodi do slabe apsorpcije važnih nutrijenata poput željeza, folne kiseline, kalcija i vitamina topivih u masti (Gallagher i sur., 2004).

Tržište bezglutenske hrane i pića sve više raste, čak i brže od očekivanog (Matos i Rosell, 2014). Pekarska industrija pred sobom ima veliki izazov i sve više se pokušava boriti s poteškoćama i nedostacima u proizvodnji bezglutenskih proizvoda, a time i bezglutenskog kruha.

Gluten je protein koji se nalazi u žitaricama poput pšenice, raži, ječma i zobi. Građen je od proteina glutenina i gliadina. U proizvodnji kruha gluten se smatra kao „strukturnim“ proteinom, odnosno ima kohezivne, elastične i viskozne osobine (Gallagher i sur., 2004). Tako su bezglutenska tijesta slabo kohezivna i slabo elastična, jako su glatka, još su i puno više ljepljiva te je teško raditi s takvim tijestom (Houben i sur., 2012). Izostanak glutena utječe na kvalitetu gotovog proizvoda, točnije na reologiju tijesta i proces proizvodnje (Matos i Rosell, 2014). Kao posljedicu kruh ima lošiju teksturu, boju i specifičan volumen, kraću trajnost, ostavlja osjećaj suhih usta te ima nezadovoljavajući okus (Matos i Rosell, 2014).

Osvrćući se na senzorsku kvalitetu bezglutenskog kruha, ona je lošija u odnosu na pšenični bijeli kruh i ne može se usporediti s mirisom i okusom svježe pečenog pšeničnog kruha (Pacyński i sur., 2015). Problematika loših senzorskih svojstava bezglutenskog kruha nije nova i do sada je bila jako zanemarena. Trenutni izazov je proizvesti bezglutenski kruh koji je po teksturi, mirisu i okusu što sličniji pšeničnom kruhu (Pacyński i sur., 2015).

Kao što je već spomenuto, na miris kruha utječu točno poznati hlapivi spojevi koji nastaju kemijskim reakcijama tijekom procesa proizvodnje kruha. U istraživanju iz 2015. g. koje su proveli Pacyński i sur., uspoređujući bezglutenski kruh s pšeničnim kruhom došli su do zaključka kako u bezglutenskom kruhu ne nastaju pojedini hlapivi spojevi koji uvelike pridonose željenom karakterističnom mirisu. Tako su otkrili kako u bezglutenskom kruhu nema pirazina koji jako utječu na modificiranje mirisa kruha te nisu detektirali spoj 2-acetil-1-pirolin koji se smatra ključnim. Isto tako, pokazalo se kako metionala u bezglutenskom kruhu ima 3 puta više nego u pšeničnom kruhu, a on negativno utječe na senzorska svojstva kruha, što se može povezati sa sumporastim nepoželjnim i nespecifičnim senzorskim atributima (Pacyński i sur., 2015).

Uz samu važnost glutena u proizvodnji kruha, kod osoba oboljelih od celijakije postoji i problematika nutritivne deficijencije konzumacijom takve prehrane. Bezglutensku prehranu

općenito karakterizira preveliki unos masti te smanjeni unos složenih ugljikohidrata, vlakana, vitamina, mineralnih tvari (Matos i Rosell, 2014), kao i proteina (Segura i Rosell, 2011). U usporedbi s proizvodima od pšenice, proizvodi od bezglutenskih žitarica sadrže niske koncentracije tiamina, riboflavina, niacina (Thompson, 1999), folata i željeza (Thompson, 2000).

Najčešća metoda povećanja nutritivne vrijednosti bezglutenskog kruha, jest dodatak nutritivno vrjednijih brašna poput brašna pseudožitarica (amaranta, kvinoje), heljde, brašna od krumpira, tapioke, jama, tara, kao i brašna mahunarki (slanutaka, leće, suhog graha, graška i soje) (Matos i Rosell, 2014). Još jedan način poboljšanja kvalitete bezglutenskog kruha je njegova proizvodnja uz dodatak kiselog tijesta. Ono uveliko utječe pozitivno na teksturu, okus, miris, kao i trajnost pšeničnog bijelog kruha, a ti se utjecaji mogu iskoristiti i kod proizvodnje bezglutenskog kruha (Moroni i sur., 2009).

2.3. BRAŠNO ŽUTOG GRAŠKA (*Pisum sativum L.*)

Pisum sativum L., poznat kao grašak, poput drugih vrsta porodice mahunarki (*Leguminosea*) dugo se koristi u ljudskoj prehrani zbog svoje visoke nutritivne vrijednosti. U posljednje vrijeme raste zanimanje za nutritivnu dobrobit konzumacije graška (Dahl i sur., 2012). Koncentracija i svojstva škroba, proteina, vlakana, mineralnih tvari i fitokemikalija u grašku imaju pozitivan utjecaj na zdravlje. U tablici 2. je vidljiv njihov prosječan udjel (Dahl i sur., 2012) iz kojeg se može zaključiti kako sadrže visok udio proteina, škroba i vlakana te nizak udio lipida.

Tablica 2. Prosječan kemijski sastav graška (Dahl i sur., 2012)

Sastav	Udjel (%)*
Protein (% N x 6,5)	21,2–32,9
Škrob	36,9–49,0
Otporni škrob	2,1–6,3
Amiloza	20,7–33,7
Ukupna vlakna	14–26
Neprobavljiva vlakna	10–15
Probavljiva vlakna	2–9
Probavljivi šećeri	5,3–8,7
Ukupni lipidi	1,2–2,4
Pepeo	2,3–3,4

* Vrijednosti su izražene na suhu tvar, osim amiloze koja je izražena na temelju škroba

Vlakna iz opne graška doprinose pozitivnom utjecaju na gastrointestinalni trakt te smanjuju probavljivost škroba graška, što doprinosi smanjenju glikemijskog indeksa namirnice. Isto tako, količina amiloze smanjuje glikemijski indeks, kao i probavljivost škroba (Dahl i sur., 2012). Proteini graška su bogat izvor esencijalnih aminokiselina (Heng, 2005), a kada su hidrolizirani pokazuju antioksidativnu aktivnost (Dahl i sur., 2012). Bogat je vitaminima i mineralnim tvarima zbog čega može pripomoći kod nutritivne deficijencije. Sadrži i fitokemikalije poput polifenola koji imaju antioksidativnu i antikancerogenu aktivnost, saponine koji imaju antikancerogeno djelovanje i galaktoza oligosaharid koja povećava utjecaj probiotika u debelom crijevu (Dahl i sur., 2012).

Poznavajući pozitivan utjecaj graška na zdravlje, jasno je zašto njegova implementacija, u obliku brašna, u bezglutenskoj prehrani djeluje kao dobar odabir. Upravo povećavajući nutritivnu vrijednost bezglutenskog kruha može se djelovati pozitivno na osobe oboljele od celijakije koje pate od nutritivne deficijencije.

No, osvrćući se na miris graška, pojavljuje se problematika pojave negativnih, neželjenih mirisa. U samom grašku oni nastaju djelomično radi genetskog utjecaja, a djelomično tijekom žetve, procesiranja i skladištenja (Ronald i sur., 2017). Grašak sadrži hlapive i nehlapive spojeve koji utječu na miris i okus (Heng, 2005), a hlapivi spojevi koji doprinose neželjenom mirisu se mogu podijeliti u skupine aldehida, alkohola, ketona, kiselina, pirazina i sumpornih spojeva (Ronald i sur., 2017). U tablici 3. su prikazani glavni atributi neželjenih mirisa povezanih sa skupinom spojeva koja joj doprinosi (odnosi se na okus, miris i trpkou) (Ronald i sur., 2017).

Tablica 3. Pregled glavnih neželjenih aroma i povezani spojevi koji uzrokuju nepoželjne mirise kod graška (Ronald i sur., 2017)

Hlapivost	Opis mirisa	Spojevi
Hlapivi spojevi	Zeleni	Aldehidi
	Grahorasti	Ketoni
	Na grašak	Alkoholi
	Zemljasti	Pirazini
	Na sijeno	Ostali
Nehlapivi spojevi	Gorki	Izoflavoni
	Trpki	Saponini

Provedeno je istraživanje od strane Kamaljit i sur. (2010) u kojem je ispitivan dodatak brašna graška u smjesu za proizvodnju kruha u postotku od 5 % i 10 % te njegov utjecaj na svojstva tijesta tijekom oblikovanja, kao i na senzorsku kvalitetu kruha. Koncentrirajući se na senzorska svojstva, rezultati određivanja sveukupnog dojma su pokazali kako dodatak više od 5 % brašna graška (dodatak od 10 %) negativno utječe na senzorska svojstva. Promatrajući zasebna senzorska svojstva (okus, miris i boju kore), nije bilo značajne razlike između kruha sa 5 % i 10 % brašna graška. Ipak, zaključili su da brašno graška treba biti dodano do 5 % kako ne bi bilo negativnog utjecaja na senzorska svojstva.

Jedan od načina kako se može umanjiti neželjen miris i okus graška je fermentacija pomoću bakterija mliječne kiseline, čime ih je moguće sveukupno popraviti (Schindler i sur., 2012). Uspoređujući fermentirani i nefermentirani ekstrakt proteina graška (EPG) pokazalo se kako je miris fermentiranog EPG bio opisan kao ugodniji sa slabije izraženim mliječnim svojstvima. Pozitivna promjena kod fermentiranog EPG-a, odnosno maskiranje neželjene zelene arome, može se povezati s malim promjenama u koncentraciji hlapivih spojeva. Kod graška za zelenu, grahorastu aromu odgovoran je aldehid n-heksanal te upravo fermentacijom dolazi do pada njegove koncentracije (Schindler i sur., 2012).

Postoji još načina kojima se može umanjiti negativni utjecaj brašna graška na miris bezglutenskog kruha. Jedan od njih je postupak berbe graška budući da oštećivanje zrna graška pokreće lipidnu oksidaciju što posljedično dovodi do nastanka brojnih spojeva koji kasnije mogu utjecati negativno na miris proizvoda (Ronald i sur., 2017). Način čuvanja graška nakon berbe isto može utjecati na formiranje neželjenih spojeva te se preporuča njegovo čuvanje na temperaturi do +4°C (Azarnia i sur., 2011). Također pokazalo se kako klijanje graška u trajanju od 2 do 4 dana (sa ili bez svjetla) znatno poboljšava organoleptička svojstva, kao i nutritivnu vrijednost graška (Urbano i sur., 2005).

2.4. KISELO TIJESTO

Kiselo tijesto se može definirati kao mješavina brašna i vode fermentirana s bakterijama mliječne kiseline (BMK), odnosno nastaje kao posljedica fermentacije u prisutnosti BMK i kvasaca. Uglavnom se koristi u pekarskoj industriji kao jedan od sastojaka u proizvodnji tijesta i kruha. Može se pripremiti svježe ili se može nabaviti od komercijalnih dobavljača (De Vuyst i Neysens, 2005). Pokazalo se kako povoljno utječe na teksturu, okus, miris, trajnost, nutritivnu vrijednost i prihvatljivost pšeničnog i raženog kruha (Moroni i sur., 2009).

U kiselom tijestu pronađeno je više od 50 vrsta BMK i to uglavnom roda *Lactobacillus* (od kojih su neki navedeni u tablici 4.), kao i više od 20 vrsta kvasaca, uglavnom roda *Saccharomyces* i *Candida*. Kvantitativni odnos BMK i kvasca u tijestu uglavnom iznosi 100 : 1. BMK su najčešće heterofermentativne (za razliku od većine fermentirane hrane u kojoj veću ulogu imaju homofermentativne BMK) koje stvaraju mliječnu i octenu kiselinu što dovodi do karakterističnog kiselijeg okusa gotovog proizvoda (De Vuyst i Neysens, 2005).

Tablica 4. Bakterije iz roda *Lactobacillus* koje se povezuju s kiselim tijestom ili se mogu naći u fermentiranom kiselom tijestu (Corsetti i Settanni, 2007)

Obligatni heterofermentativni mikroorganizmi	Fakultativni heterofermentativni mikroorganizmi	Obligatni homofermentativni mikroorganizmi
<i>L. acidifarinae</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. amylovorus</i>
<i>L. brevis</i>	<i>L. pentosus</i>	<i>L. acidophilus</i>
<i>L. buchneri</i>	<i>L. alimentarius</i>	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>L. paralimentarius</i>	<i>L. farciminis</i>
<i>L. fructivorans</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. mindensis</i>
<i>L. frumenti</i>		<i>L. crispatus</i>
<i>L. hilgardii</i>		<i>L. johnsonii</i>
<i>L. panis</i>		<i>L. amylolicticus</i>
<i>L. pontis</i>		
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. rossiae</i>		
<i>L. sanfranciscensis</i>		
<i>L. siliginis</i>		
<i>L. spicher</i>		
<i>L. zymae</i>		

Obzirom na vrstu tehnologije upotrijebljenu za proizvodnju kiselog tijesta, kiselatijesta su podijeljena u tri kategorije (Böcker i sur., 1995):

1. Tip I – proizveden tradicionalnim postupkom na način da mikroorganizmi ostaju aktivni, pri temperaturi između 20 °C i 30 °C te pri pH od 4,0.
2. Tip II – je polutekuća priprema u silosu. Priprema takvog kiselog tijesta odvija se pri višoj temperaturi fermentacije, obično > 30 °C, kako bi se proces proizvodnje ubrzao. Nakon 24 h fermentacije imaju niski pH i to < 3,5. Proces proizvodnje takvog tijesta traje 2 do 5 dana.

3. Tip III – je osušeno tijesto koje je u obliku praha. Sadrži mikroorganizme koji su otporni na proces sušenja. Uz to što je ovakav oblik tijesta praktičan i jednostavan za upotrebu, i sam proces proizvodnje omogućuje dulji rok trajanja samog kiselog tijesta.

Unutar Tipa I postoji podjela na tri podtipa kiselog tijesta koje može biti pripremljeno iz čiste kulture mikroorganizama (Ia), iz spontano razvijene miješane kulture kroz više faza fermentacije (Ib) i kisela tijesta pripremljena u tropskim područjima uz fermentaciju pri visokim temperaturama (Ic). Karakteristični mikroorganizmi za tip (Ia) su obligatni heterofermentativni mikroorganizmi *L. sanfranciscensis* i kvasci *Candida humilis* i *S. exiguus*, za tip (Ib) obligatni heterofermentativni mikroorganizmi poput *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. pontis*, *L. reuteri*, *L. fructivorans* i dr., obligatni homofermentativni mikroorganizmi *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. mindensis* i dr., kao i kvasac *Candida humilis*. Kod vrste tijesta (Ic) karakteristične su vrste obligatnih heterofermentativnih i homofermentativnih mikroorganizama poput *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. amylovorus* te kvasac *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*).

Karakteristični mikroorganizmi za tip II su obligatni hetero- i homofermentativni mikroorganizmi poput *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. pontis*, *L. ponis*, *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. farciminis* i dr. te uz mogućnost dodatka kvasca *S. cerevisiae*.

Kod tipa III pojavljuju se obligatni heterofermentativni mikroorganizam *L. brevis* te fakultativni heterofermentativni mikroorganizam *L. plantarum* i *P. pentosaceus* (De Vuyst i Neysens, 2005).

Priprema kiselog tijesta pomoću BMK, točnije bakterije iz roda *Lactobacillus*, pridonosi određenim pozitivnim učincima na gotov proizvod. Uz povećanje nutritivne vrijednosti samog proizvoda (kruha) i uz utjecaj na miris i okus, mogu utjecati pozitivno i sa svojim antimikrobnim tvarima, ali pod uvjetom da se nalaze u dovoljnoj koncentraciji i da njihov utjecaj nije onemogućen radi prisutnosti drugih spojeva u hrani. Neki od takvih spojeva su bakteriocini koji imaju bakteriocinsko djelovanje. Postoji mogućnost i antifungalnog djelovanja kod nekih bakterijskih sojeva iz roda *Lactobacillus* (Corsetti i Settanni, 2007).

Miris je također jedan od elemenata na koje djeluje kiselo tijesto odnosno BMK. Njihov utjecaj je takav da može doći do povećanja ili smanjenja koncentracije određenih hlapivih spojeva. To je potvrđeno na primjeru brašna cjelozrnate pšenice i bijelog brašna, gdje je došlo do povećanja koncentracije važnih spojeva mirisa poput octene kiseline i 3-metilbutanala, dok su se povišene koncentracije aldehida koje nastaju lipidnom peroksidacijom brašna smanjile

(Czerny i Schieberle, 2002). Za pripremu kiselog tijesta uz adekvatan izbor brašna veliku ulogu ima izbor soja bakterije te način provođenja fermentacije jer sve to utječe na sastav spojeva pa tako i na sam doživljaj mirisa (Czerny i Schieberle, 2002).

Svi navedeni pozitivni učinci kiselog tijesta mogu se iskoristiti u proizvodnji bezglutenskog kruha u svrhu proizvodnje kruha povećane kvalitete u koji se ne bi trebali dodavati aditivi. Dodatak kiselog tijesta u bezglutenski kruh utječe na njegovu teksturu, aromu, nutritivnu vrijednost, kao i na trajnost (Moroni i sur., 2009). Upotreba BMK ima pozitivne učinke na fizikalno-kemijske parametre i reološku kvalitetu bezglutenskog kruha (Moore i sur., 2007). Tako određene bakterije iz roda *Lactobacillus* mogu stvarati egzopolisaharide koji pozitivno djeluju na teksturu, odnosno omekšavaju bezglutenski kruh (Arendt i sur., 2011). Dodatkom kiselog tijesta povećava se i koncentracija poželjnih tvari arome što dovodi do poboljšavanja senzorske prihvatljivosti bezglutenskog kruha, usporava se starenje i sprječava mikrobiološko kvarenje tj. produžuje trajnost kruha (Moroni i sur., 2009).

Istraživanje provedeno od strane Novotni i sur. (2012) je pokazalo kako dodatak 15,0-22,5 % kiselog tijesta pozitivno djeluje na svojstva polupečenog smrznutog bezglutenskog kruha – dovodi do smanjenja glikemijskog indeksa, smanjenja tvrdoće kruha i povećanja njegovog specifičnog volumena. Također, fermentacija omogućuje bolju ekstrakciju bioaktivnih spojeva iz sirovina, odnosno omogućuje oslobađanje funkcionalnih biomolekula uslijed metabolizma primijenjenih bakterija i kvasaca. Takvo povećanje koncentracije bioaktivnih spojeva omogućuje proizvodnju funkcionalnog bezglutenskog kruha (Naqash i sur., 2017).

2.5. SENZORSKE ANALIZE

Senzorske analize se definiraju kao znanstvena disciplina koja potiče, mjeri, analizira i interpretira reakcije onih karakteristika hrane i tvari koje se zapažaju osjetilima vida, mirisa, okusa, dodira i sluha. Za analize i interpretaciju u senzorskoj analizi koristi se panel ljudi koji mogu biti i profesionalni senzorski analitičari (Stone i Sidel, 2004).

One se provode kako bi se odredio senzorski doživljaj određenog proizvoda i njegova prihvatljivost od strane potrošača te se na taj način u poslovnom svijetu mogu umanjiti rizici stavljanja proizvoda na tržište, kao i uočavanje potrebe za njegovim poboljšanjem (Lawless i Heymann, 2012).

Od navedenih osjetila (vid, miris, okus, dodir i sluh) u ovom radu od interesa je upravo senzorsko svojstvo mirisa. Prenošeni zrakom, mirisi uzrokuju podražaje u olfaktornom epitelu smještenom vrlo visoko u nosnoj šupljini. Molekule mirisa (spojevi) podražuju milijune njušnih čunjića koji su prožeti njušnim dlačicama. Postoji također i pojam retronazalnog mirisa koji se često pridodaje okusu, jer nastaje unosom uzorka proizvoda u usta, njegovim žvakanjem i gutanjem pri čemu dio hlapivih spojeva kroz unutarnji kanal dolazi do olfaktornog epitela (Meeilgard i sur., 2006).

Testovi za senzorske analize se mogu podijeliti u tri skupine (tablica 5.) (Lawless i Heymann, 2012):

1. Testovi diskriminacije (testovi razlike)
2. Opisni (deskriptivni) testovi
3. Testovi sklonosti (hedonistički testovi)

Tablica 5. Klasifikacija testova za senzorske analize (Lawless i Heymann, 2012)

Vrsta testa	Područje interesa	Tip testa	Karakteristike panela
Diskriminacijski	Ima li razlike u percipiranju proizvoda	„ANALITIČKI“	Senzorska osjetljivost, orijentirani prema test metodi, ponekad uvježbani
Deskriptivni	Kako se proizvodi razlikuju po specifičnoj senzorskoj karakteristici	„ANALITIČKI“	Senzorska osjetljivost i motiviranost, uvježbani ili jako dobro uvježbani
Test sklonosti	Kako su proizvodi prihvaćeni, i koji proizvodi se preferiraju	„HEDONISTIČKI“	Neuvježbani

Deskriptivna analiza omogućuje kvantitativni opis uzorka koji se bazira na percepciji dobro uvježbanog senzorskog panela. Uzimajući u obzir sve senzorske karakteristike tijekom procjene uzorka, takva analiza daje potpuni senzorski opis proizvoda i pouzdane i precizne rezultate analize (Stone i Sidel, 2004).

Kvantitativni deskriptivni test uključuje kompletan opis svih senzorskih karakteristika nekog uzorka, ograničeni broj panelista za svaki test, trening panelista prije provedbe testa, sposobnost panela za evaluaciju više uzoraka u individualnim odjelcima, upotrebu/razvoj

jezičnog opisa, nužnost kvantitativnih informacija, mogućnost ponavljanja testa te adekvatan sustav analize podataka (najbolja analiza varijance, ANOVA) (Stone i Sidel, 2004). Za razvoj jezičnog opisa može pomoći i senzorski rječnik, odnosno međunarodna norma koja definira nazive vezane za senzorske analize, HRN EN ISO 5492:2010.

Unatoč treningu panelista kod deskriptivnog testa postoji problematika neujednačenosti rezultata panelista. Tome može pridonijeti različita razina motiviranosti i raspoloženja, a greške kod senzorske procjene mogu biti pojedinačne, ali isto tako mogu biti rezultat zajedničke odluke panelista (Kermit i Lengrad, 2006).

Greške pojedinca panelista se mogu kategorizirati u 3 skupine (Kermit i Lengrad, 2006):

1. panelist ne određuje rezultate po istoj skali kao i drugi panelisti,
2. panelist ne može razlikovati dva ili više uzorka,
3. panelist nije dosljedan svojim odlukama tijekom ponavljanja analize.

Upravo je poznavanje mogućnosti panela tj. njihovih slabosti i snaga važno za organiziranje po potrebi još dodatnih treninga kako bi im se povećala kvaliteta rezultata, ali isto tako prepoznati je li i koga je od panelista potrebno isključiti iz provođenja analize (Kermit i Lengrad, 2006).

Hedonistički test, tj. test sklonosti, koristi se kako bi se definirala prihvaćenost uzorka (proizvoda) i njegova preferencija od strane potrošača. Za tu metodu se najčešće koristi hedonistička ljestvica od devet točaka. Ljestvica je lako razumljiva i zahtjeva minimalne upute, a daje rezultate koji su vjerodostojni. Uvelike je korištena od različitih strana i kompanija s velikim uspjehom radi pouzdanosti rezultata (Stone i sur., 2012).

Kod provođenja senzorskih testova, postoje određene stavke koje su od velike važnosti za što bolje provođenje analize. One su podijeljene u tri kategorije (Meeilgard i sur., 2006):

1. Prostor za senzorsku procjenu – mora biti odgovarajućeg, točno definiranog rasporeda stolova, ulaza i izlaza, odjeljaka, čistoće, zraka i sl.
2. Protokol testiranja – priprema proizvoda (uzorka), numeriranje, serviranje i sl.
3. Panel senzorskih analitičara – jesu li trenirani ili ne, vrijeme provođenja analize, interakcija panelista s okolinom.

Kod provođenja senzorske analize osobit izazov predstavlja statistička obrada prikupljenih podataka, čemu pridonosi problematika neujednačenih rezultata iz već spomenutih razloga. Jedna od analiza koja pomaže pri određivanju usklađenosti rezultata je analiza glavnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA). Ona daje učinkovit uvid na rad i rezultate panela te ima mogućnost grafičkog prikaza rezultata iz kojih se mogu jasno vidjeti odstupanja rezultata pojedinih panelista (Kermit i Lengrad, 2006).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI I METODE

3.1.1. Uvodna senzorska analiza za prepoznavanje mirisnih atributa

Uvodnoj senzorskoj analizi za prepoznavanje mirisnih atributa pristupio je 21 panelist, a analiza je provedena između 11 i 12 sati. Demografske karakteristike senzorskog panela prikazane su u tablici 6.

Tablica 6. Senzorski panel u prvoj senzorskoj analizi

<i>Spol</i>	<i>Dob</i>	<i>Karakteristika panela</i>
20 žena 1 muškarac	26 g. – 54 g.	Obučeni i motivirani senzorski panel

Panelistima je prezentirano nekoliko različitih uzoraka kruha za koje su trebali prepoznati što više mirisnih atributa. Uzorci koji su im prezentirani bili su:

1. Pšenični bijeli kruh, Pan-pek (uzorak 1.)
2. Kukuruzni miješani kruh, Pan-pek (uzorak 2.)
3. Bezglutenski kruh, nedovoljno pečen (uzorak 3.)
4. Bezglutenski kruh, prejako pečen (uzorak 4.)

Uzorci dva bezglutenska kruha su pečena 10 i 20 min, odnosno 5 min kraće od potrebnog i 5 min dulje od potrebnog kako bi u prvoj senzorskoj analizi bili primjeri „ekstrema“.

Od svakog uzorka pripravljena je kora i sredina kruha te poslužena u Petrijevim zdjelicama, što je ukupno iznosilo 8 uzoraka po setu. Također, uz uzorke se nalazila čaša sa zrcima kave kako bi panelisti mogli „odmoriti“ olfaktorne receptore. Senzorski panel je zasebno bilježio doživljaje mirisnih atributa, posebno za sredinu i posebno za koru, za svaki uzorak kruha. Pripremljeni uzorci su prikazani na slikama 1. i 2.



Slika 1. Prikaz seta uzorka kruha pripremljenog za senzorski panel



Slika 2. Prikaz mjesta za analizu u senzorskom laboratoriju

3.1.2. Prva rasprava panelista za definiranje mirisnih atributa

Cilj prve rasprave bio je, na temelju rezultata provedene uvodne senzorske analize, definirati ključne mirisne attribute i dodijeliti im odgovarajuće asocijacije. Panelisti su raspravljali o mirisnim atributima koje su zabilježili na uvodnoj senzorskoj analizi za prepoznavanje mirisnih atributa. Od 21 panelista na prvu raspravu odazvalo se njih 18. Rasprava se odvijala između 11 i 12 sati u sobi za rasprave.

Za prvu raspravu panelista pripremljen je isti set uzoraka kao i za uvodnu senzorsku analizu za prepoznavanje mirisnih atributa (opisano u poglavlju 3.1.1.). Također su pripremljene predložene asocijacije (tablica 7., slika 3.) i čaše sa zrcima kave.

Tablica 7. Popis pripremljenih asocijacija s obzirom na mirisne atribute s prve senzorske analize

Predloženi nazivi mirisnih atributa	Pripremljene asocijacije	Proizvođači sirovina
Miris po svježe pečenom kruhu	Pšenični bijeli kruh	Pan-Pek d.o.o.
Miris po kvascu	Svježi kvasac	Digo d.o.o.
Miris po tijestu	Krušno tijesto	Pripremljeno u laboratorijskim uvjetima
Miris po kukuruzu	Kukuruzni ekstrudat	Naše klasje d.o.o.
Miris po orašastom	Bademi, lješnjaci, orasi, kikiriki	U rinfuzi
Miris po vlažnom	_*	_*
Miris po plijesni	_*	_*
Miris po zemlji	Zemlja za cvijeće	S-budget, SPAR Hrvatska d.o.o.
Miris po grašku	Brašno žutog graška	Fuszerhaz
Miris po sijenu	Sijeno za hrčke	Witte Molen
Miris po žitaricama	Ječam u toploj vodi	Božajkovina d.d.
Miris po slatkom	Karamel bomboni	Werther's original, Storck
	Cvjetni med	Podravka d.d.
	Malt ekstrakt	Difco
Miris po kiselom	Kiselo tijesto	Pripremljeno u laboratorijskim uvjetima
	Alkoholni ocat	Zvijezda d.o.o.
	Jogurt	Bioaktiv lgg, Dukat d.d.
Miris po alkoholu	10 % etanol	
Miris po mliječnom	Mlijeko 2,5% m.m.	Meggle d.o.o.
	Jogurt	Bioaktiv lgg, Dukat d.d.
Miris po krumpiru	_*	_*
Miris po kuhanim žitaricama	Rižino brašno u vrućoj vodi	Integralno, Advent d.o.o.
Miris po užeglom	Užeglo suncokretovo ulje	Zvijezda d.o.o.
Miris po masnom	Maslac	Meggle d.o.o.
Miris po kokicama	_*	_*
Miris po zelenom	Svježe ubrana zelena trava	
Miris po prženom, pečenom, tostiranom, zagorenom	_*	_*

*- Nije bilo pripremljene asocijacije



Slika 3. Prikaz pripremljenih mirisnih asocijacija za raspravu

Panelisti su prvo pomirisali uzorke kruha za podsjećanje, potom su raspravljali o jednom po jednom mirisnom atributu sa svrhom razvijanja odgovarajuće terminologije i prepoznavanja mirisnih atributa u ispitivanim uzorcima. Za sastavljanje senzorskog testa i provođenje senzorskog ocijenjivanja bitno je da panelisti prvo prođu obuku tijekom koje se razvija terminologija.

3.1.3. Druga rasprava panelista za definiranje mirisnih atributa

Cilj druge rasprave panelista bio je definirati konačne mirisne attribute i pripadajuće im asocijacije te terminologiju koja će biti korištena pri senzorskoj analizi. Druga rasprava senzorskog panela provedena je također u vremenu od 11 do 12 sati te se odazvalo 13 panelista (od početnih 21). Provedena je u istim kontroliranim uvjetima kao i prva, u sobi za raspravu.

U odnosu na prvu raspravu, pripremljene su modifikacije asocijacija mirisnih atributa (tablica 8.), dok je priprema seta uzoraka bila jednaka kao i za prvu raspravu (slika 4.)

Tablica 8. Prikaz pripremljenih asocijacija s obzirom na mirisne attribute s prve rasprave

Predloženi nazivi mirisnih atributa	Pripremljene asocijacije	Proizvođači sirovina
Miris po svježe pečenom kruhu	Pšenični bijeli kruh	Pan-Pek d.o.o.
Miris po kvascu	Svježi kvasac (Digo), narezana dva listića 5 % vodena otopina svježeg kvasca 10 % vodena otopina svježeg kvasca	Digo d.o.o.
	Instant kvasac, u prahu 10 % vodena otopina instant kvasca	Digo d.o.o.
Miris po tijestu	Sirovo pšenično tijesto (brašno + voda)	Pripremljeno u laboratorijskim uvjetima
	Sirovo bezglutensko tijesto s dodatkom graška i kvasca	Pripremljeno u laboratorijskim uvjetima
Miris po kukuruзу	Sjeme kukuruза	U rinfuzi
	Kukuruzna krupica 10 % vodena otopina kukuruzne krupice 20 % otopina kukuruzne krupice	Naše klasje d.o.o.
	Kikiriki (bez ljuske)	U rinfuzi
Miris po kikirikiju	Mješavina nasjeckanih lješnjaka, badema i oraha	U rinfuzi
	Kiselom tijesto	Pripremljeno u laboratorijskim uvjetima
Miris po kiselim	Kefir	Vindija d.d.
	Brašno graška Brašno graška u toploj vodi	Fuszerhaz
Miris po kuhanim žitaricama	Rižino brašno u vrućoj vodi Rižino brašno	Integralno, Advent d.o.o.
	Riža u vrućoj vodi	Bijela dugozrna, S-budget, SPAR Hrvatska
Miris po slatkim	Karamel bomboni	Werther's original, Storck
	Cvjetni med	Podravka d.d.
	Prženi bijeli šećer	Viro d.d., pržen u laboratorijskim uvjetima
Miris po masnom	Dekadienal 1,742 mg ml ⁻¹ Dekadienal 0,1742 mg ml ⁻¹	Pripremljeno u laboratorijskim uvjetima
	Kefir	Vindija d.d.
	Biljna mast	Zvijezda d.d.
Miris po pečenom	-*	-*
Miris po zagorenim	Izgoren pšenični bijeli kruh	Pan-Pek d.o.o., izgoren u laboratorijskim uvjetima
Miris po kokicama	Kokice ispečene netom prije rasprave Kokice ispečene 12 h prije	U rinfuzi, pripremljene u laboratorijskim uvjetima

-* Nije pripremljena asocijacija



Slika 4. Prikaz pripremljenog stola za drugu raspravu

Panelisti su prvo pomirisali uzorke (za prisjećanje) potom raspravljali o jednom po jednom mirisnom atributu.

3.1.4. Definiranje intenziteta mirisnih atributa asocijacija pripremljenih za senzorsku analizu

Definiranje intenziteta mirisnih atributa pripremljenih asocijacija provedeno je samo za one attribute koji su prihvaćeni od strane panela kao konačni i bitni za ciljane uzorke. Za tu svrhu okupilo se 7 panelista. Ispitivanje je provedeno u sobi za raspravu u kontroliranim uvjetima.

Na stolu za raspravu pripremljene su asocijacije, kao i čaše sa zrnima kave. Asocijacije su pripremljene u staklene bočice i Petrijeve zdjelice. Određene asocijacije (kvasac, kukuruznu krupicu, rižu i grašak) bilo je potrebno otopiti u vodi u omjeru 1:4. Kukuruzna krupica, riža i grašak su pripremljeni s vrućom vodom, dok je kvasac otopljen u hladnoj vodi, neposredno prije provođenja analize kako bi uozrci koji su otopljeni s vrućom vodom ostali topli. Na slici 5. su prikazane pripremljene asocijacije.



Slika 5. Prikaz pripremljenih asocijacija mirisa

Panelisti su nakon mirisanja asocijacije samostalno i zasebno odredili intenzitet mirisnog atributa koji osjećaju na skali od 1 do 10, potom su međusobno raspravljali i zajednički odlučili koja će ocjena biti prihvaćena te su definirani konačni intenziteti mirisa za svaku pojedinu asocijaciju.

3.1.5. Provođenje senzorske analize mirisa uzoraka kruha

Senzorska analiza mirisa kruhova provedena je u dva termina (dva različita dana). Analiza je provedena u vremenu između 13 i 15 sati, u kontroliranim uvjetima laboratorija.

Test kojeg su panelisti ispunjavali sastojao se od dva dijela: deskriptivnog testa i hedonističkog testa. Ocjenjivalo se 10 uzoraka, podijeljenih na uzorke sredine kruha i uzorke kore kruha (po 5 uzoraka sredine i pet uzoraka kore kruha). U deskriptivnom dijelu testa tražilo se od panelista da ocijene na skali od 0 do 10 intenzitet mirisnih atributa (0 izostanak intenziteta mirisa, a 10 najjači intenzitet mirisa), prema istraživanju Heitmann i sur. (2017), dogovorenih na predhodnim senzorskim raspravama u uzorcima, s mogućnošću izražavanja ocjene intenziteta na jednu decimalu. Kod hedonističkog dijela testa tražilo se od panelista da ocijene sviđanje mirisa uzoraka na skali od 1 do 9, pri čemu je opis ocjena bio točno definiran (1 izrazito mi se ne sviđa, 5 niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa, 9 izrazito mi se sviđa) (tražili su se cijeli brojevi) prema istraživanju Hager i sur. (2012). Primjer testa priložen je u prilogu 7.1.

Od svakog uzorka pripremljena je kora i sredina kruha u Petrijevim zdjelicama pod troznamenkastim kodnim brojevima. Pripremljeno je 8 setova, 4 seta kora uzoraka i 4 seta sredina uzoraka kruha. Također sa strane su pripremljene asocijacije s navedenim intenzitetima

mirisa kako bi se panelisti u svakom trenutku mogli prisjetiti traženog mirisnog atributa. Slika 6. prikazuje pripremljene asocijacije, te je na slici vidljiva magnetna mješalica koja je služila za održavanje topline asocijacija otopljenih u vrućoj vodi (graška, kukuruzne krupice, riže) i masti kako se ona ne bi skrutila.



Slika 6. Prikaz pripremljenih asocijacija

U tablici 9. se nalazi opis analiziranih uzoraka.

Tablica 9. Popis analiziranih uzoraka

Oznaka	Opis uzorka
PBK	Pšenični bijeli kruh, Pan-pek
LB+G	Bezglutenski kruh s dodatkom brašna graška i kiselog tijesta pripremljenog s bakterijom <i>Lactobacillus brevis</i>
LF+G	Bezglutenski kruh s dodatkom brašna graška i kiselog tijesta pripremljenog s bakterijom <i>Lactobacillus fermentum</i>
LR+G	Bezglutenski kruh s dodatkom brašna graška i kiselog tijesta pripremljenog s bakterijom <i>Lactobacillus reuteri</i>
0+G	Bezglutenski kruh s dodatkom brašna graška i bez dodatka kiselog tijesta
LB-G	Bezglutenski kruh bez dodatka brašna graška i s dodatkom kiselog tijesta pripremljenog s bakterijom <i>Lactobacillus brevis</i>
LF-G	Bezglutenski kruh bez dodatka brašna graška i s dodatkom kiselog tijesta pripremljenog s bakterijom <i>Lactobacillus fermentum</i>
LR-G	Bezglutenski kruh bez dodatka brašna graška i s dodatkom kiselog tijesta pripremljenog s bakterijom <i>Lactobacillus reuteri</i>
0-G	Bezglutenski kruh bez dodatka brašna graška i bez dodatka kiselog tijesta

U prvom terminu analizirani su uzorci bezglutenskog kruha s dodatkom graška, dok su u drugom terminu analizirani uzorci bez dodatka brašna graška. Uzorak pšeničnog bijelog kruha analiziran je u oba termina. U prvom terminu se odazvalo 20 panelista, a u drugom njih 18.

3.1.6. Obrada dobivenih rezultata

Iz prikupljenih ocjena intenziteta mirisnih atributa izračunata je srednja vrijednost ocjene za svaki uzorak po pojedinom mirisnom atributu. Analiza korelacije mirisnih atributa i PCA provedene su pomoću programa Statistika 8.0..

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. UVODNA SENZORSKA ANALIZA

Okupljen je izobražen senzorski panel za provođenje uvodne senzorske analize kako bi se prepoznalo što više mirisnih atributa. Zadatak panelistima bio je zabilježiti i opisati što više mirisnih atributa koje osjećaju kod uzoraka. Uzorci bezglutenskih kruhova su namjerno pripremljeni premalo i prejako pečeni kao primjer ekstremnih intenziteta određenih mirisnih atributa.

Prikupljeni rezultati obrađeni su na način da su mirisni atributi sumirani i podjeljeni na karakteristične attribute za koru ili sredinu kruha. Potom su u usporedbi sa senzorskim atributima iz literature (Callejo, 2001; Heenan i sur., 2008; Cho i Peterson, 2010; Pacyński i sur., 2015) izdvojeni oni najkarakterističniji.

Izdvojeni mirisni atributi su miris po:

- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| 1. svježe pečenom kruhu, | 13. kokicama, |
| 2. kvascu, | 14. kiselom, |
| 3. tijestu, | 15. alkoholu, |
| 4. kukuruzu, | 16. mliječnom, |
| 5. orašastom, | 17. krumpiru, |
| 6. vlažnom, | 18. kuhanim žitaricama, |
| 7. plijesni, | 19. užeglom, |
| 8. zemlji, | 20. masnom, |
| 9. grašku, | 21. pečenom, |
| 10. slami, | 22. prženom, |
| 11. žitaricama, | 23. tostiranom, |
| 12. slatkom, | 24. zagorenim. |

4.2. PRVA RASPRAVA PANELISTA ZA DEFINIRANJE MIRISNIH ATRIBUTA

Na prvoj raspravi, koja se provodila u sobi za raspravu, panelisti su razgovarali o izdvojenim atributima s uvodne senzorske analize kako bi se razvila odgovarajuća jezična terminologija. Pripremljene su asocijacije (tvari koje su po svom mirisu što sličnije određenom mirisnom atributu) čija je svrha pripomoći razvoju terminologije. Panelisti su određivali koja asocijacija

najviše odgovara kojem mirisnom atributu i koja je najsličnija mirisu koju osjećaju u uzorku te su zajednički prihvaćali ili odbacivali određene mirisne attribute i asocijacije.

Zaključci prve rasprave senzorskog panela o senzorskim atributima mirisa po:

1. svježe pečenom kruhu – senzorski atribut je prihvaćen od strane panela i povezan s korom uzorka 1.,
2. kvascu – senzorski atribut je prepoznat i prihvaćen od strane panela, no pripremljena asocijacija nije odgovarala te je predloženo da se kao asocijacija pripreme instant kvasac ili vodena otopina kvasca,
3. tijestu – senzorski atribut je prepoznat od strane panela, iako pripremljena asocijacija nije odgovarala te je predloženo pripremanje pšeničnog tijesta bez kvasca i brašna graška za asocijaciju,
4. kukuruzu – senzorski atribut je prepoznat i prihvaćen od strane panela, prepoznat kao miris po palenti te je još predloženo pripremanje kukuruznog brašna i krupice za asocijaciju,
5. orašastom – senzorski atribut je odbačen tj. od predloženih orašastih uzoraka najviše je prepoznat kikiriki te je senzorski atribut miris po orašastom panel promijenio u miris po kikirikiju,
6. vlažnom – senzorski atribut nije prepoznat te je odbačen od strane panela,
7. plijesni – senzorski atribut nije prepoznat te je odbačen od strane panela,
8. zemlji – senzorski atribut je pripojen atributu miris po grašku,
9. grašku – senzorski atribut je prepoznat od strane panela, prihvaćena je i asocijacija (brašno graška) te su tom atributu pripojeni i atributi po sjenu, travi, zemlji, zelenom, krumpiru,
10. sjenu – senzorski atribut nije prepoznat te je odbačen od strane panela,
11. žitaricama – senzorski atribut je pripojen atributu miris po kuhanim žitaricama,
12. slatkom – senzorski atribut je prepoznat i od predloženih asocijacija panel je prihvatio med, ali je i predloženo da se pripremi još i prženi šećer,
13. kokicama – senzorski panel ga nije mogao prepoznati, ali nije odbačen te je predloženo pripremanje asocijacije za bolju preciznost,
14. kiselom – senzorski atribut je prihvaćen od strane panela iako nije prepoznat u niti jednoj asocijaciji,
15. alkoholu – senzorski atribut nije prepoznat i odbačen je od strane panelista,
16. mliječnom – senzorski atribut nije prepoznat i odbačen je od strane panelista,
17. krumpiru – senzorski atribut nije prepoznat te je odbačen od strane panela (jer je pripojen atributu miris po grašku),

18. kuhanim žitaricama – senzorski atribut je odbačen, ali je prepoznat miris kuhane riže te je predloženo promijena imena u miris po kuhanoj riži,
19. užeglom – senzorski atribut nije prepoznat te je odbačen od strane panela,
20. masnom – senzorski atribut je prepoznat, ali asocijacija nije odgovarala te je predloženo pripremanje nove asocijacije od biljne masti i spojeva heksanala i dekadianala,
21. pečenom – senzorski atribut je prihvaćen i pripojen mu je atribut miris po tostiranom,
22. prženom – senzorski atribut nije prepoznat i odbačen je od strane panela,
23. tostiranom – senzorski atribut je pripojen atributu miris po pečenom,
24. zagorenom – senzorski atribut je prihvaćen od strane panela.

Nakon provedene analize mirisnih atributa, od pripremljenih 24 asocijacija, senzorski panel je odabrao 13 asocijacija koje će se nadalje koristiti u drugoj raspravi panelista za definiranje mirisnih atributa.

4.3. DRUGA RASPRAVA PANELISTA ZA DEFINIRANJE MIRISNIH ATRIBUTA

Cilj druge rasprave jest bio konačno definirati ključne mirisne attribute i terminologiju za izradu testa za senzorsku analizu te pripadajuće asocijacije. Izdvojeni su atributi koji su prihvaćeni iz prve rasprave, to su miris po:

- | | |
|-------------------------|------------------------|
| 1. svježe pečenom kruhu | 8. kokicama |
| 2. kvascu | 9. kiselom |
| 3. tijestu | 10. kuhanim žitaricama |
| 4. kukuruzu | 11. masnom |
| 5. kikirikiju | 12. pečenom |
| 6. grašku | 13. zagorenom |
| 7. slatkom | |

Asocijacije su pripremljene ponovno, a za neke mirisne attribute su dodane i nove asocijacije na prijedlog panela s prve rasprave, a sve u svrhu što preciznijeg definiranja mirisnog atributa panelistima.

Zaključci druge rasprave senzorskog panela o senzorskim atributima mirisa po:

1. svježe pečenom kruhu – senzorski atribut je prihvaćen jednako kao i na prvoj raspravi panela,
2. kvascu – senzorski atribut je prihvaćen, a od ponuđenih asocijacija prihvaćena je 5 % vodena otopina svježeg kvasca,
3. tijestu – ime senzorskog atributa panel je promijenjeno u miris po sirovom tijestu, a prihvaćena asocijacija je sirovo bezglutensko tijesto,
4. kukuruzu – senzorski atribut je prihvaćen, a od ponuđenih asocijacija prihvaćena je 20 % vodena otopina kukuruzne krupice,
5. kikirikiju – senzorski atribut je prepoznat i prihvaćen od strane panela,
6. grašku – senzorski atribut je prihvaćen od strane panela,
7. slatkom – ime senzorskog atributa panel je promijenio u miris po prženom šećeru, a od ponuđenih asocijacija prihvaćen je prženi šećer,
8. kokicama – senzorski atribut je prihvaćen od strane panela, bez odvajanja svježih i odstajalih kokica kao asocijacija,
9. kiselom – ime senzorskog atributa panel je promijenjeno u ime miris po kiselom tijestu, a od ponuđenih asocijacija prihvaćeno je kiselo tijesto,
10. kuhanj riži – senzorski atribut je prihvaćen od strane panela,
11. masnom – senzorski atribut je prihvaćen, a od ponuđenih asocijacija prihvaćeno je zagrijano biljno ulje,
12. pečenom – senzorski atribut je prihvaćen od strane panela,
13. zagorenom – senzorski atribut je prihvaćen od strane panela.

Panelisti su prihvatili prethodno navedenih 13 senzorskih atributa koji će se koristiti kod provođenja senzorske analize bezglutenskog kruha i definirane su njima pripadajuće asocijacije.

4.4. INTENZITET MIRISNIH ATRIBUTA ASOCIJACIJA PRIPREMLJENIH ZA SENZORSKU ANALIZU

Intenziteti asocijacija određivani su od strane senzorskog panela na skali od 0 do 10, gdje je 0 izostanak mirisnog atributa (nije detektirano), a 10 najjači intenzitet mirisa. Intenzitet mirisa je određivan kako bi panelisti tijekom provođenja senzorske analize imali orijentaciju na skali intenziteta za pripremljene asocijacije mirisa tj. kako bi znali ocijeniti prema njemu

intenzitet mirisa u analiziranim uzorcima. U tablici 10. su prikazani rezultati određivanja intenziteta mirisnih atributa asocijacija.

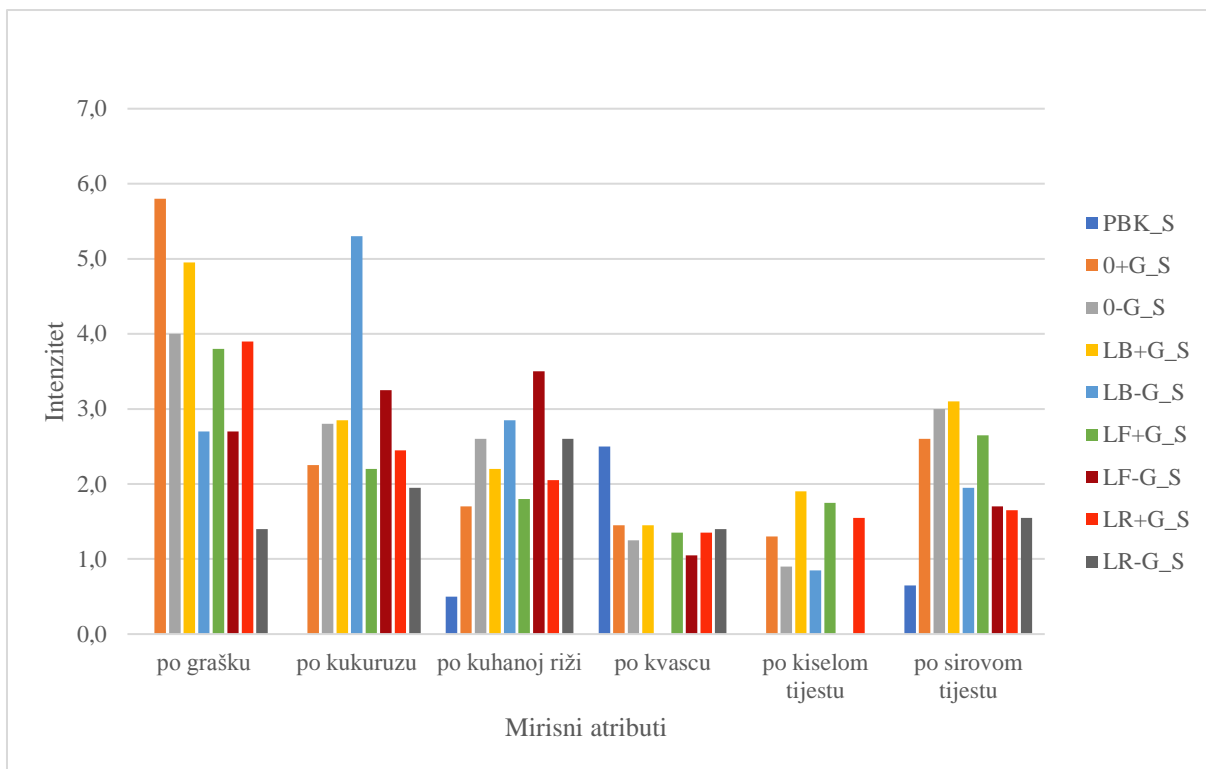
Tablica 10. Određeni intenziteti mirisnih atributa asocijacija

Mirisni atribut	Intenzitet asocijacije
miris po svježe pečenom kruhu	10
miris po kvascu	10
miris po sirovom tijestu	10
miris po kukuruzu	9
miris po kikirikiju	8
miris po grašku	10
miris po prženom šećeru	7
miris po kokicama	10
miris po kiselom tijestu	10
miris po kuhanoj riži	10
miris po masnom	9
miris po zagorenom	8

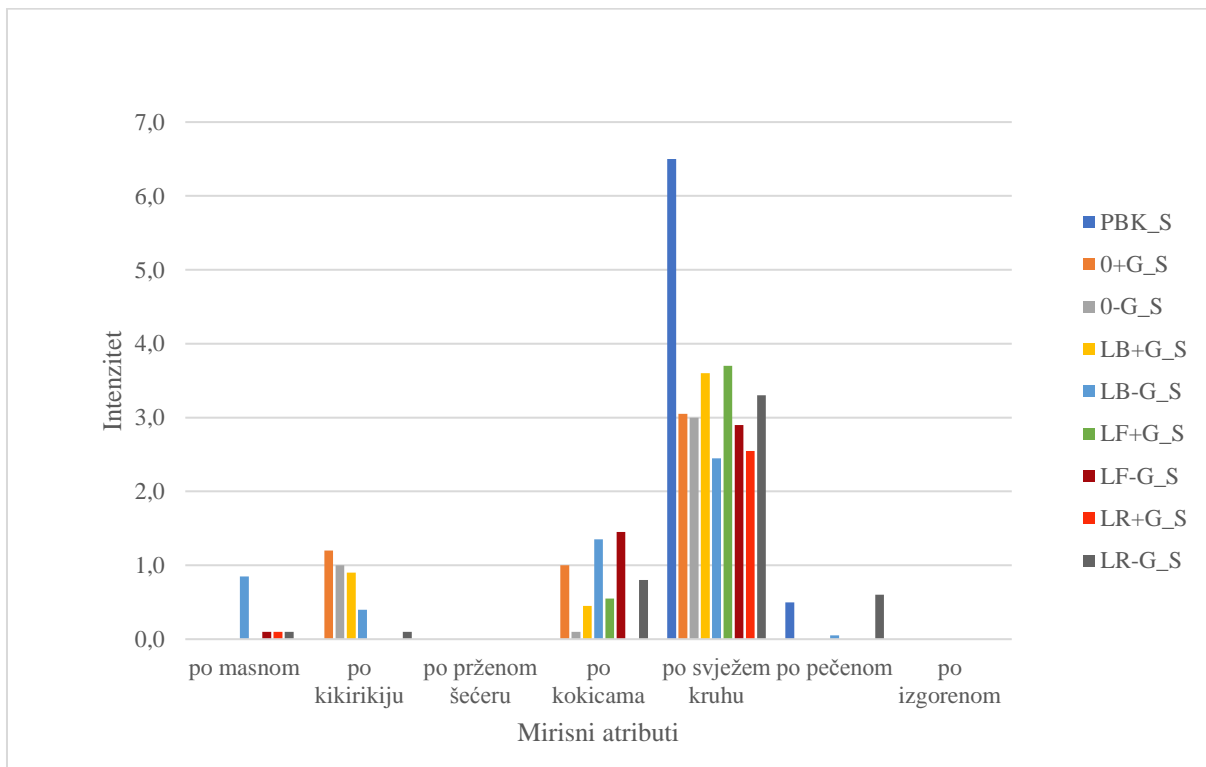
4.5. DESKRIPTIVNA I HEDONISTIČKA SENZORSKA ANALIZA MIRISA KRUHA

Provedena je deskriptivna i hedonistička senzorska analiza mirisa 9 uzoraka kruha – jednog uzorka pšeničnog bijelog kruha i 8 uzoraka bezglutenskog kruha pripremljenog sa i bez dodatka brašna graška te sa i bez dodatka kiselog tijesta pripremljenog s različitim bakterijama mliječne kiseline (*L. reuteri*, *L. fermentum* i *L. brevis*). Panelisti su u deskriptivnoj analizi ocijenjivali intenzitet mirisa 13 mirisnih atributa na skali 0 do 10 (0 izostanak intenziteta mirisa, a 10 najjači intenzitet mirisa), a u hedonističkoj analizi su dodijeljivali svakom uzorku ocjenu sviđanja na skali 1 do 9 (1 izrazito mi se ne sviđa, 5 niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa, 9 izrazito mi se sviđa). Nakon provedbe senzorskih analiza, odabrane su ocjene 10 panelista pomoću kojih su izračunate srednje vrijednosti intenziteta pojedinih mirisnih atributa i ocjene sviđanja, određena je korelacija između pojedinih mirisnih atributa i provedena je PCA analiza.

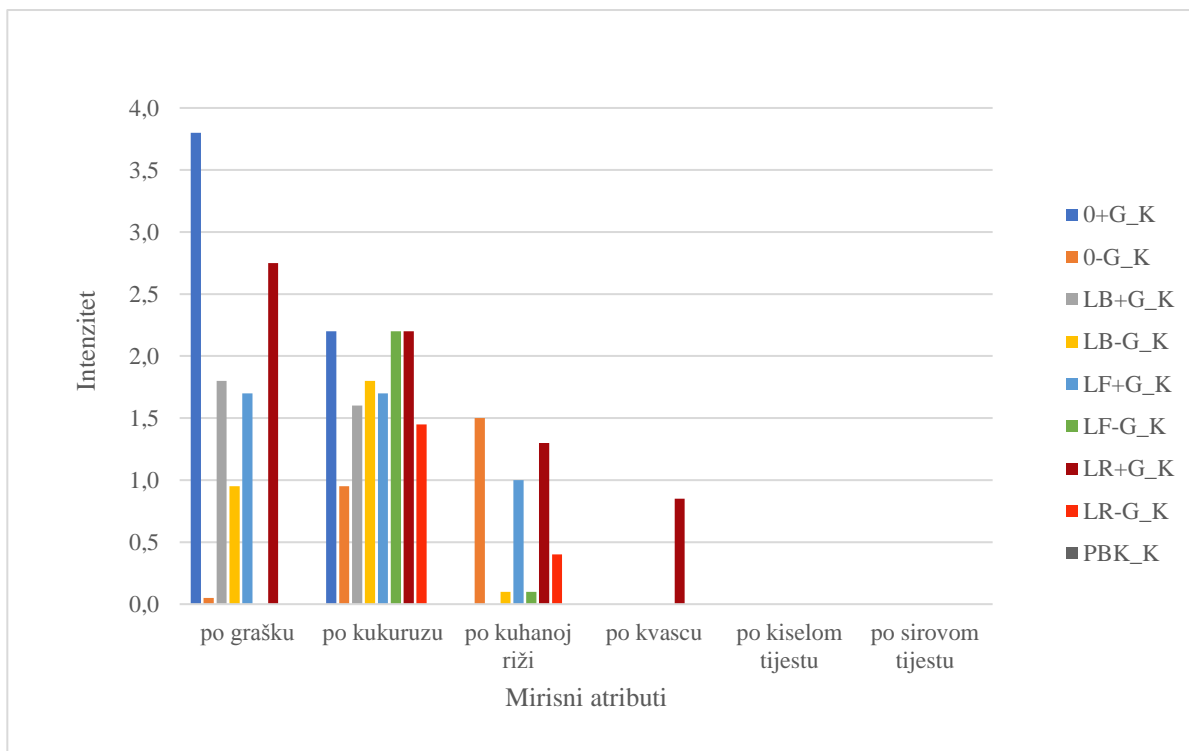
Srednje vrijednosti intenziteta mirisnih atributa, kao rezultat deskriptivne senzorske analize, prikazane su na slikama 7. i 8. za uzorke sredine (S) te na slikama 9. i 10. za uzorke kore (K).



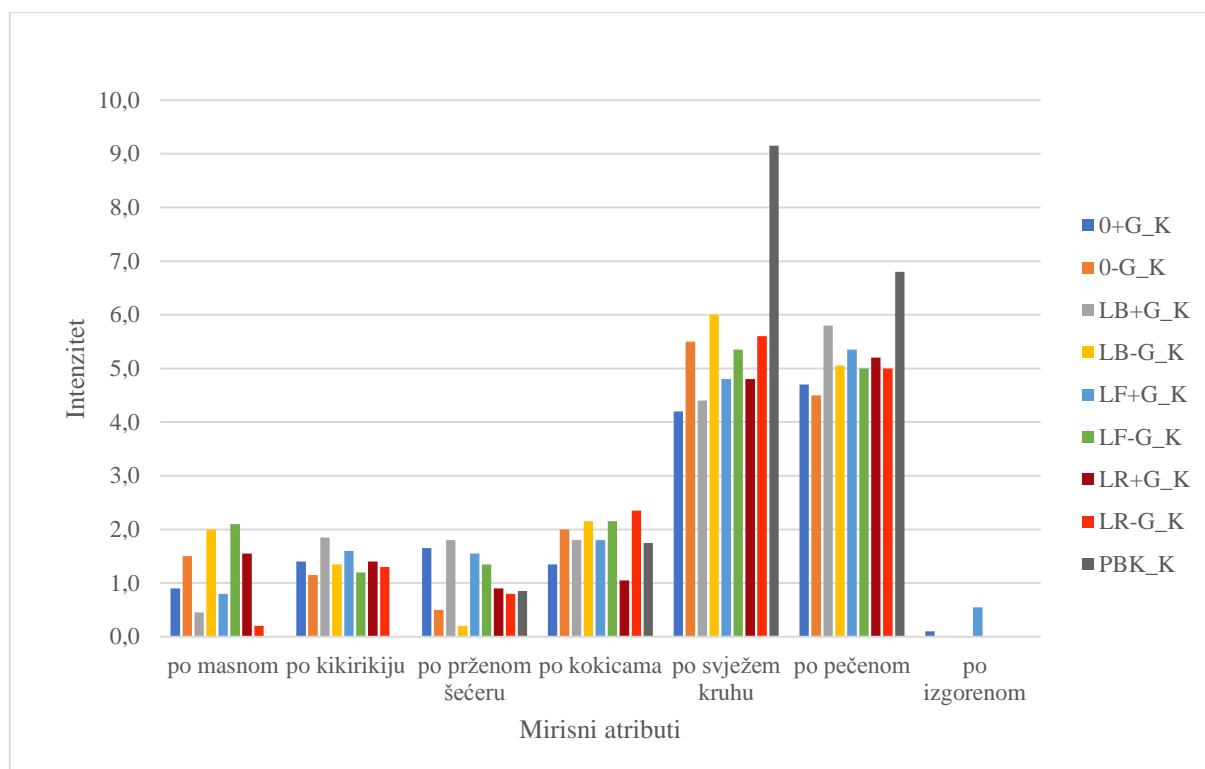
Slika 7. Prikaz srednjih vrijednosti ocjena intenziteta uzoraka sredine (S) po mirisnim atributima



Slika 8. Prikaz srednjih vrijednosti ocjena intenziteta uzoraka sredine (S) po mirisnim atributima



Slika 9. Prikaz srednjih vrijednosti ocjena intenziteta uzoraka kore (K) po mirisnim atributima



Slika 10. Prikaz srednjih vrijednosti ocjena intenziteta uzoraka kore (K) po mirisnim atributima

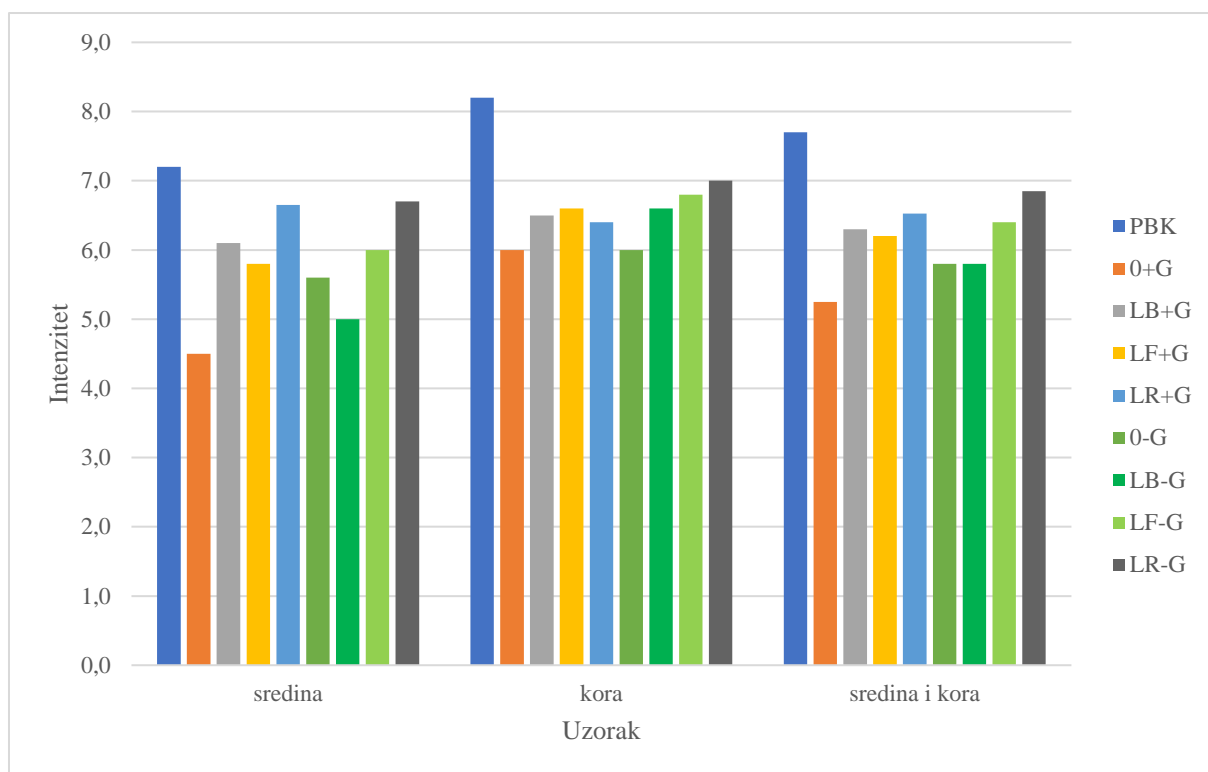
Uspoređujući rezultate ocjena intenziteta mirisa za sredinu i koru jasno je vidljivo kako postoji razlika u intenzitetima između uzoraka bezglutenskih kruhova s dodatkom brašna graška i bez njega. Dodatak brašna graška, kod uzoraka sredine (slike 7. i 8.), dovodi do povećanja intenziteta mirisa po grašku, kiselom tijestu, sirovom tijestu, kvascu i po svježem kruhu (uz izuzetak uzorka LR), a do smanjenja intenziteta mirisa po kuhanoj riži, kukuruzu i po kokicama. Izostanak brašna graška dovodi do povećanja intenziteta mirisa po kukuruzu, kuhanoj riži i po kokicama, a do smanjenja intenziteta mirisa po grašku, kvascu, sirovom tijestu i po kiselom tijestu.

Kod kore uzoraka (slike 9. i 10.), dodatak brašna graška dovodi do povećanja intenziteta mirisa po grašku, kikirikiju (uz izuzetak uzorka LR) i po pečenom, a do smanjenja intenziteta mirisa po masnom, prženom šećeru, uz izuzetak uzorka LR za ta dva mirisna atributa, te po kokicama i po svježem kruhu. Izostanak brašna graška kod uzoraka kore dovodi do povećanja intenziteta mirisa po masnom, kokicama i po svježem kruhu, a do smanjenja intenziteta mirisa po grašku, kikirikiju, prženom šećeru i po pečenom.

Jedan od mirisnih atributa koji nije zapažen niti kod kore niti kod sredine je miris po izgorenom (uz izuzetak uzorka LF+G kod uzorka kore).

Može se zaključiti kako dodatak brašna graška utječe na intenzitete pojedinih mirisnih atributa, od kojih se, sumirano, najviše ističu miris po grašku i po sirovom tijestu kod uzorka sredine, a kod uzoraka kore miris po grašku i po pečenom. Isto tako može se zaključiti kako veliku ulogu u formiranju intenziteta mirisa ima dodatak kiselog tijesta pripremljenog s različitim bakterijama iz roda *Lactobacillus* te da postoji razlika u mirisu ovisno o primijenjenom soju bakterija. Uzorak koji se najviše ističe je LR-G, i u usporedbi s uzorkom 0-G jasno je vidljivo kako dodatak bakterije *Lactobacillus reuteri* utječe pozitivno na smanjivanje intenziteta mirisa po grašku i po sirovom tijestu kod sredine i pojačavanje intenziteta mirisa po pečenom kod kore.

Na slici 11. prikazani su rezultati provedene hedonističke analize izraženi u obliku srednjih vrijednosti ocjena sviđanja za uzorke kore, sredine te kore i sredine ukupno.



Slika 11. Rezultati hedonističke analize – ocjene sviđanja za pojedine uzorke

Promatrajući sliku 11. vidljivo je kako uzorak kruha bez dodatka kiselog tijesta i s dodatkom brašna graška ima najniže ocjene (0+G) te kako su bez obzira na dodatak brašna graška uzorci s dodatkom kiselog tijesta bolje ocijenjeni od onih bez njegovog dodatka, što ukazuje na njegovo pozitivno djelovanje na miris kruha.

Ujedno je vidljivo kako je uzorak LR-G ima najbliže ocjene intenziteta mirisa PBK-u i to za sve tri kategorije (za sredinu, koru i sredinu i koru) te se ističe kao najbolja kombinacija za približavanje mirisa bezglutenskog kruha mirisu pšeničnog bijelog kruha.

Provedeno je određivanje korelacije između mirisnih atributa posebno za uzorke kore te posebno sredine. U tablici 11. prikazani su koeficijenti korelacije mirisnih atributa sredine kruha.

Tablica 11. Koeficijenti korelacije mirisnih atributa sredine kruha[#]

SREDINA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
po grašku (1)	1,00											
po kvascu (2)	-0,28	1,00										
po kuhanoj riži (3)	0,20	-0,76*	1,00									
po kukuruzu (4)	0,37	-0,98*	0,77*	1,00								
po kiselom tijestu (5)	0,80*	-0,15	-0,13	0,22	1,00							
po sirovom tijestu (6)	0,85*	-0,32	0,29	0,40	0,72*	1,00						
po masnom (7)	-0,16	-0,80*	0,38	0,76*	-0,10	-0,15	1,00					
po kikirikiju (8)	0,70*	-0,11	0,03	0,21	0,40	0,72*	-0,10	1,00				
po svježem kruhu (9)	-0,60	0,81*	-0,79*	-0,80*	-0,33	-0,50	-0,38	-0,25	1,00			
po kokicama (10)	0,09	-0,66	0,64	0,63	-0,25	0,04	0,53	0,02	-0,46	1,00		
po pečenom (11)	-0,81*	0,47	-0,35	-0,57	-0,68	-0,68	-0,08	-0,40	0,59	-0,17	1,00	
OCJENA SVIĐANJA (12)	-0,69	0,61	-0,32	-0,62	-0,36	-0,62	-0,35	-0,67	0,57	-0,56	0,63	1,00

* statistički značajna korelacija ($\alpha = 0,05$)

[#] mirisni atributi po prženom šećeru i zagorenom nisu analizirani radi izostanka intenziteta

Podaci dobiveni analizom korelacije pokazuju odnos između mirisnih atributa sredine i kore kruha. Komentirane su samo statistički značajne korelacije ($\alpha = 0,05$) s $r \geq 0,7$ i $r \leq -0,7$.

Tako su miris po kiselom tijestu i miris po sirovom tijestu u pozitivnoj korelaciji s mirisom po grašku (tablica 11.). Odnosno, povećanjem intenziteta mirisa po grašku povećava se i intenzitet mirisa po kiselom i sirovom tijestu. Na slici 7. vidljivo je kako miris po kiselom tijestu i miris po grašku za pšenični bijeli kruh nije prepoznat, a miris po sirovom je minimalan za pšenični bijeli kruh te se može zaključiti kako treba težiti što nižem opažanju mirisa po grašku pa tako i po kiselom i po sirovom tijestu kako bi se uzorak bezglutenskog kruha približio mirisu pšeničnog bijelog kruha.

Miris po kukuruzu također je u pozitivnoj korelaciji s mirisom po kuhanoj riži (tablica 11.). Na slici 7. vidljivo je kako su vrijednosti za miris po kukuruzu i po kuhanoj riži vrlo slični, no jedino uzorak LB-G se ističe kod mirisa po kukuruzu (ima veću vrijednost ocjene intenziteta mirisa).

Zanimljivo je kako kod ocjene sviđanja ni jedna korelacija nije statistički značajna, a od dobivenih je najveća negativna korelacija s mirisom po grašku dok je najveća pozitivna korelacija s mirisom po pečenom.

U tablici 12. prikazani su koeficijenti korelacije mirisnih atributa kore kruha.

Tablica 12. Koeficijenti korelacije mirisnih atributa kore kruha[#]

KORA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
po grašku (1)	1,00											
po kvascu (2)	0,41	1,00										
po kuhanoj riži (3)	0,01	0,50	1,00									
po kukuruzu (4)	0,58	0,33	0,02	1,00								
po masnom (5)	0,02	0,24	0,24	0,57	1,00							
po kikirikiju (6)	0,48	0,11	0,17	0,77*	0,28	1,00						
po prženom šećeru (7)	0,50	-0,11	-0,28	0,33	-0,31	0,39	1,00					
po svježem kruhu (8)	-0,60	-0,19	-0,23	-0,84*	-0,32	-0,94*	-0,47	1,00				
po kokicama (9)	-0,80*	-0,70*	-0,24	-0,24	0,03	-0,05	-0,33	0,23	1,00			
po pečenom (10)	-0,19	-0,04	-0,39	-0,63	-0,59	-0,57	0,13	0,70*	-0,11	1,00		
po izgorenom (11)	0,26	-0,15	0,26	0,13	-0,14	0,28	0,41	-0,25	-0,10	-0,01	1,00	
OCJENA SVIDANJA (12)	-0,53	-0,16	-0,41	-0,68	-0,50	-0,78*	-0,15	0,88*	0,23	0,85*	-0,12	1,00

* statistički značajna korelacija ($\alpha = 0,05$)

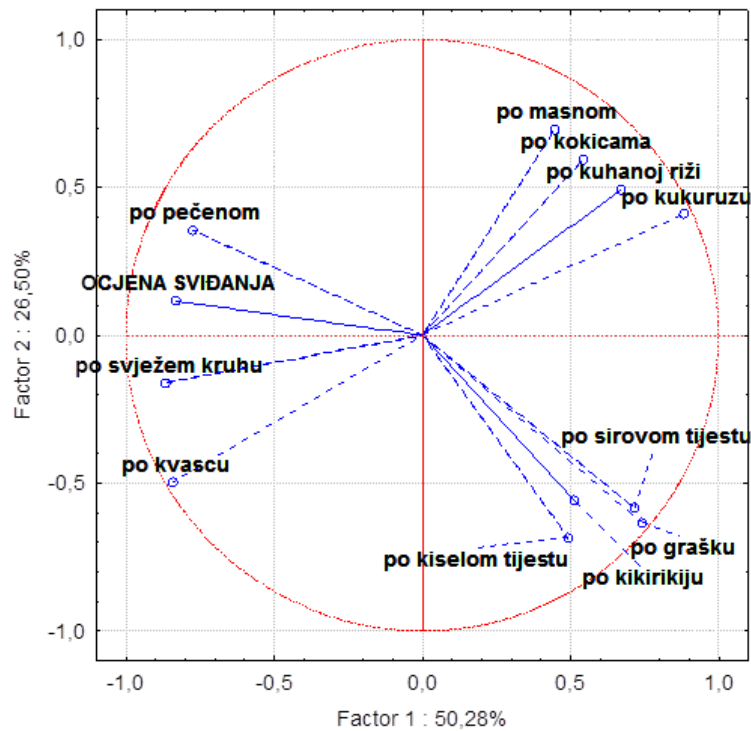
[#] mirisni atributi po kiselom tijestu i sirovom tijestu nisu analizirani radi izostanka intenziteta

Kod kore kruha, utvrđena je pozitivna korelacija mirisa po pečenom s mirisom po svježem kruhu, kao i kod mirisa po kikirikiju s mirisom po kukuruzu. Svi ostali mirisni atributi koji su statistički značajni su u negativnoj korelaciji. Tako je miris po kokicama u negativnoj korelaciji s mirisom po grašku i s mirisom po kvascu, a miris po svježem kruhu je u negativnoj korelaciji s mirisom po kukuruzu i po kikirikiju.

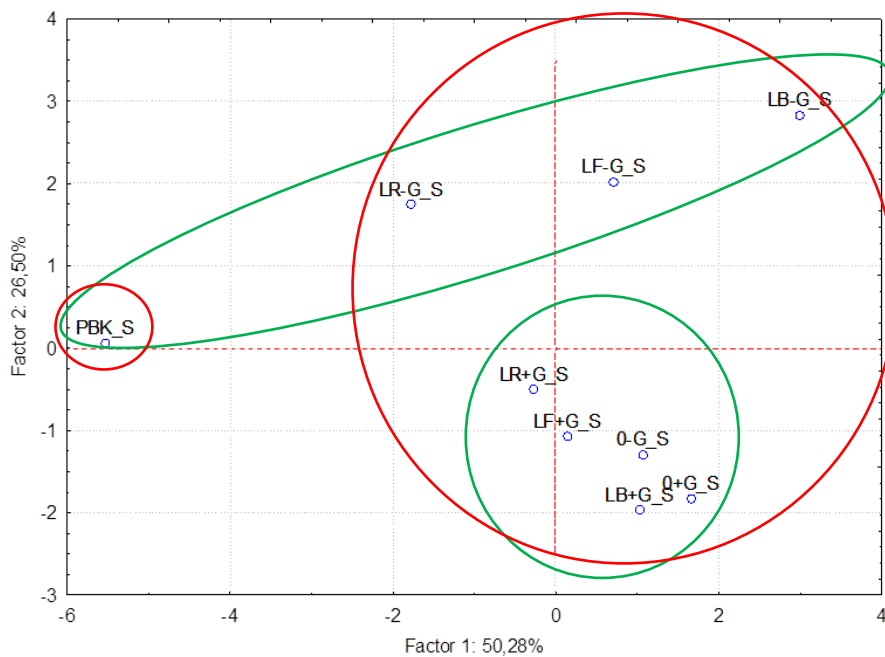
Ocjena svidanja kod kore je u pozitivnoj korelaciji s mirisom po svježem kruhu i mirisom po pečenom, a u negativnoj korelaciji s mirisom po kukuruzu i mirisom po kikirikiju.

Rezultati deskriptivne i hedonističke analize su obrađeni i PCA analizom budući da daje pregledan uvid u rad i rezultate panela te ima mogućnost grafičkog prikaza rezultata (Kermit i sur., 2005). Rezultati PCA analize su prikazani u tri skupine. Prva se odnosi na obrađene podatke za uzorke sredine (slike 12. i 13.), druga za uzorke kore (slike 14. i 15.), a treća za zajednički obrađene ocjene uzoraka kore i sredine (slika 16. i 17.).

Za PCA analizu rezultata sredine kruha (slika 12. i 13.), faktor 1 iznosi 50,28 %, a faktor 2 26,50 % te zajedno opisuju 76,78 % varijance.



Slika 12. Faktorsko opterećenje (engl. *loadings*) za prve dvije glavne komponente izračunato PCA analizom mirisnih atributa sredine kruha

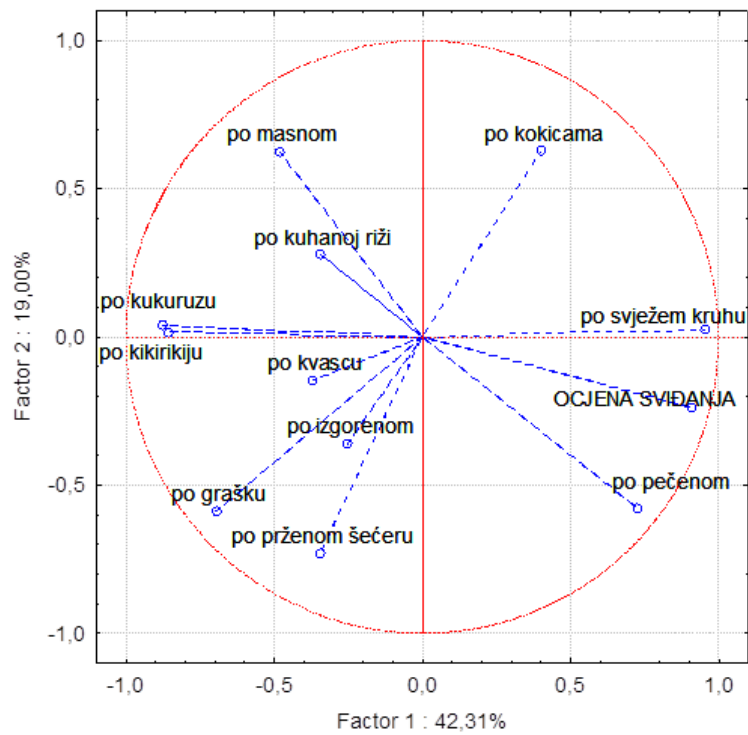


Slika 13. Vrijednosti prve dvije komponente u faktorskim bodovima (engl. *scores*) izračunato PCA analizom mirisnih atributa sredine kruha

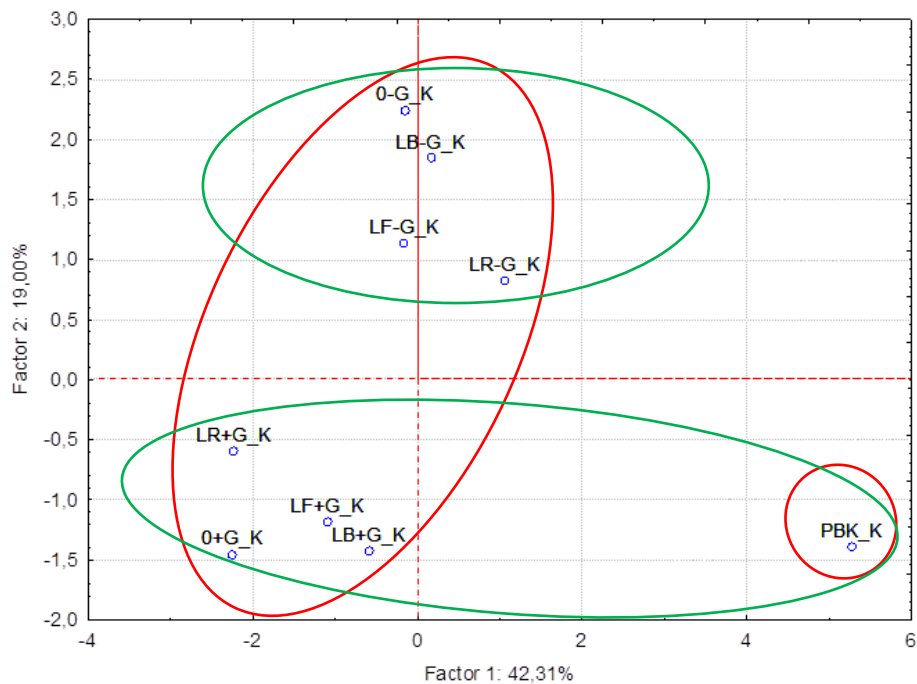
Faktor 1 PCA analize za uzorke sredine kruha je u pozitivnoj korelaciji s mirisom po grašku ($r= 0,74$), kukuruzu ($r= 0,88$) i sirovom tijestu ($r= 0,72$), a u negativnoj korelaciji s mirisom po svježem kruhu ($r= -0,86$), pečenom ($r= -0,78$), kvascu ($r= -0,84$) i s ocjenom sviđanja ($r= -0,83$). Faktor 2 ima samo jednu statistički značajnu korelaciju i to pozitivnu s mirisom po masnom ($r= 0,70$).

Iz slike 13. jasno je vidljiva podjela po faktoru 1 između pšeničnog bijelog kruha i ostalih bezglutenskih uzoraka (označeno crvenim elipsama). Stoga se može zaključiti, kako sredinu pšeničnog bijelog kruha više karakteriziraju mirisni atributi koji su u negativnoj korelaciji s faktorom 1 (miris po svježem kruhu, po pečenom i po kvascu). Također je jasno vidljiva podjela po faktoru 2 između uzoraka bezglutenskog kruha s dodatkom brašna graška i bez dodatka brašna graška (označeno zelenim elipsama), uz izuzetak uzorka 0-G. Usporedbom slike 12. i slike 13., po faktoru 2 može se zaključiti kako uzorke bezglutenskog kruha s dodatkom brašna graška karakterizira intenzivniji miris po sirovom tijestu, kikirikiju, kiselom tijestu i po grašku. Uzorke bez dodatka brašna graška (LF-G i LB-G) više karakterizira miris po masnom, kolicama, kuhanoj riži i kukuruzu, a uzorak LR-G miris po pečenom.

Za PCA analizu rezultata kore kruha (slika 14. i 15.), faktor 1 iznosi 42,31 %, a faktor 2 19,00 % te zajedno opisuju 61,31 % varijance.



Slika 14. Faktorsko opterećenje (engl. *loadings*) za prve dvije glavne komponente izračunato PCA analizom mirisnih atributa kore kruha

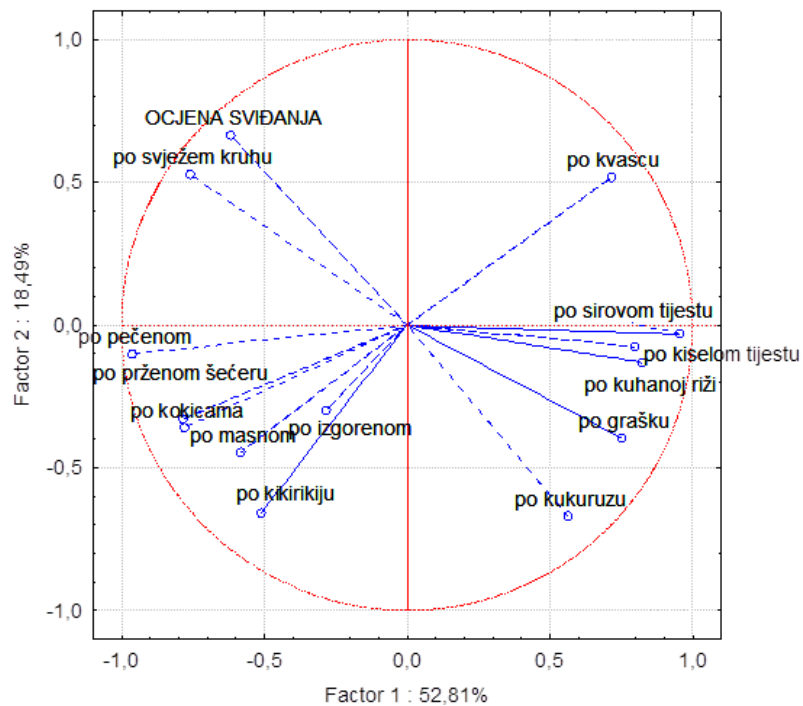


Slika 15. Vrijednosti prve dvije komponente u faktorskim bodovima (engl. *scores*) izračunato PCA analizom mirisnim atributa kore kruha

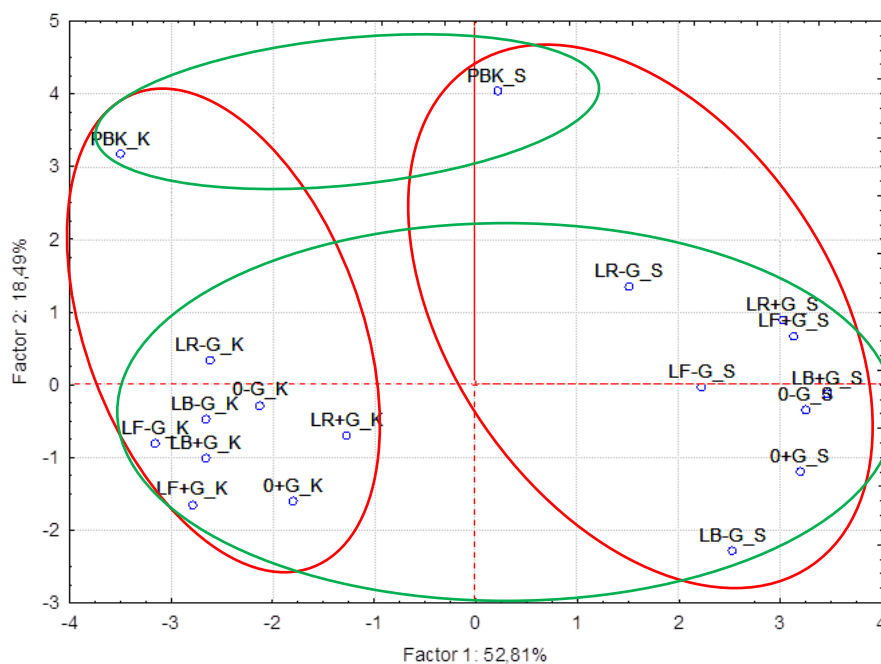
Faktor 1 PCA analize za uzorke kore kruha je u pozitivnoj korelaciji s mirisom po svježem kruhu ($r = 0,95$), po pečenom ($r = 0,73$) i s ocjenom sviđanja ($r = 0,91$), a u negativnoj korelaciji s mirisom po kukuruzu ($r = -0,88$), po kikirikiju ($r = -0,85$) i po grašku ($r = -0,70$). Faktor 2 je, za jedinu statistički značajnu korelaciju, u negativnoj korelaciji s mirisom po prženom šećeru ($r = -0,73$).

Iz slike 15. vidljiva je podjela po faktoru 1 između uzoraka bezglutenskog kruha i uzorka pšenično bijelog kruha (označeno crvenim elipsama). Stoga se može zaključiti kako pšenični bijeli kruh karakteriziraju mirisni atributi koji su više u pozitivnoj korelaciji s obzirom na faktor 1 (miris po svježem kruhu, po pečenom i s ocjenom sviđanja) odnosno kora pšeničnog bijelog kruha je, s obzirom na miris, prihvatljivija od kora bezglutenskih uzoraka. Također može se zaključiti kako uzorke kore bezglutenskih kruhova, i to s dodatkom brašna graška karakteriziraju mirisni atributi koji su u negativnoj korelaciji s faktorom 1 (miris po kukuruzu, po kikirikiju i po grašku). Podjela po faktoru je također utvrđena, ali između uzorka pšeničnog bijelog kruha, bezglutenskih uzoraka s dodatkom brašna graška i bezglutenskih uzoraka bez dodatka brašna graška (označeno zelenim elipsama). Uzorke (s obzirom na faktor 2) bezglutenskih kruhova s dodatkom brašna graška karakterizira miris po prženom šećeru, po grašku i po izgorenom, dok uzorke bezglutenskih kruhova bez dodatka brašna graška karakteriziraju mirisi po masnom, kuhanj riži i kopicama (slika 15.).

Za PCA analizu rezultata kore i sredine (slika 16. i 17.), faktor 1 iznosi 52,81 %, a faktor 2 18,49 % te zajedno opisuju 71,30 % varijance.



Slika 16. Faktorsko opterećenje (engl. *loadings*) za prve dvije glavne komponente izračunato PCA analizom mirisnih atributa kore i sredine kruha



Slika 17. Vrijednosti prve dvije komponente u faktorskim bodovima (engl. *scores*) izračunato PCA analizom mirisnim atributa kore i sredine kruha

Za PCA analizu rezultata kore i sredine (slika 16. i 17.), faktor 1 iznosi 52,81 %, a faktor 2 18,49 % te zajedno opisuju 71,30 % varijance. Faktor 1 je u pozitivnoj korelaciji s mirisom po sirovom tijestu ($r= 0,95$), po kuhanoj riži ($r= 0,82$), po kiselom tijestu ($r= 0,79$), po grašku ($r= 0,75$), po kvascu ($r= 0,71$), a u negativnoj korelaciji s mirisom po pečenom ($r= -0,96$), prženom šećeru ($r= -0,78$), kokicama ($r= -0,78$) i svježem kruhu ($r= 0,76$). Faktor 2 je u pozitivnoj korelaciji s ocjenom sviđanja ($r= 0,66$), a u negativnoj korelaciji s mirisom po kikirikiju ($r= -0,66$) i kukuruzu ($r= -0,67$).

Iz slike 17. vidljivo je odvajanje uzoraka sredine i kore kruha po faktoru 1 (označeno crvenim elipsama), što je u skladu s rezultatima prikazanim na slikama 7. do 10. Iz navedenog može se zaključiti da sredinu kruha više karakteriziraju mirisni atributi koji su u pozitivnoj korelaciji s faktorom 1 (miris po sirovom i kiselom tijestu, kuhanoj riži, grašku i kvascu), dok koru kruha više karakteriziraju mirisni atributi koji su u negativnoj korelaciji s faktorom 1 (miris po pečenom, prženom šećeru, kokicama i svježem kruhu (slika 16. i 17.)). Također, iz slike 17. je vidljivo i odvajanje pšeničnog bijelog kruha od bezglutenskog kruha po faktoru 2 (označeno zelenim elipsama) iz čega se može zaključiti da je pšenični bijeli kruh, s obzirom na miris, prihvatljiviji u odnosu na bezglutenski kruh (slika 16. i 17.).

Miris sredine i kore bezglutenskog kruha pripremljenog bez dodatka brašna graška i s dodatkom kiselog tijesta pripremljenog s *Lactobacillus reuteri* (LR-G) je s obzirom na mirisni atribut po svježem kruhu najbližiji mirisu pšeničnog bijelog kruha. Uzorak LR-G, kao što je već i spomenuto, ističe se i kod rezultata srednjih vrijednosti ocjena intenziteta (slika 7. do 10.), kao i kod hedonističkog testa (slika 11.) gdje ima ocjene intenziteta mirisa najbliže pšeničnom bijelom kruhu i to za sva tri aspekta: za sredinu, za koru i za sredinu i koru.

Nakon njega slijede ostali uzorci sredine i kore bezglutenskog kruha bez dodatka brašna graška (LF-G, LF-G, LB-G, 0-G), a zatim oni s dodatkom brašna graška (LB+G, LF+G, LR+G i 0+G). Iz dobivenih rezultata se može zaključiti da dodatak brašna graška negativno utječe na miris kruha, što je u skladu s istraživanjem Roland i sur. (2017). Također zanimljivo je kako iz obje skupine uzoraka (sa i bez dodatka brašna grašaka) uzorci 0+G i 0-G imaju niže ocjene sviđanja. Navedeno se može objasniti činjenicom da se radi o uzorku bez kiselog tijesta, odnosno izostankom pozitivnog utjecaja dodatka kiselog tijesta na miris kruha, kao i utjecajem procesa kiseljenja na smanjenje intenziteta mirisa po grašku koji negativno utječe na prihvatljivost mirisa kod potrošača (Moore i sur., 2007; Roland i sur., 2017).

5. ZAKLJUČCI

Cilj ovog rada bio je razviti test i provesti senzorsku analizu određivanja mirisa za uzorke bezglutenskog kruha pripremljenog sa ili bez dodatka brašna graška i kiselog tijesta pripremljenog pomoću različitih bakterija roda *Lactobacillus*.

Obzirom na dobivene rezultate i provedenu raspravu može se zaključiti sljedeće:

1. Razvijen je test za deskriptivnu senzorsku analizu mirisa bezglutenskog kruha i definirano je 13 ključnih mirisnih atributa: miris po svježe pečenom kruhu, po kvascu, po sirovom tijestu, po kukuruzu, po kikirikiju, po grašku, po prženom šećeru, po slatkom, po kokicama, po kuhanim žitaricama, po masnom, po pečenom i po zagorenom.
2. Sredinu analiziranog bezglutenskog kruha najviše karakterizira miris po grašku, po kukuruzu, po kiselom tijestu i po sirovom tijestu, a koru kruha miris po svježe pečenom kruhu, po kikirikiju, po pečenom i po kukuruzu.
3. Miris kore kruha po svježem kruhu i po pečenom je u pozitivnoj, a miris po kukuruzu i po kikirikiju u negativnoj korelaciji s rezultatima hedonističke analize.
4. Dodatak brašna graška pojačava miris po grašku i sirovom tijestu u sredini kruha, a miris po grašku i po pečenom u kori kruha te negativno utječe na prihvatljivost mirisa.
5. Dodatak kiselog tijesta pripremljenog s različitim bakterijama mliječne kiseline pozitivno utječe na prihvatljivost mirisa.
6. Miris bezglutenskog kruha pripremljenog bez dodatka brašna graška i s dodatkom kiselog tijesta pripremljenog s *Lactobacillus reuteri* se pokazao najbližiji mirisu pšeničnog bijelog kruha.

6. LITERATURA

Arendt, E. K., Moroni, A., Zannini, E. (2011) Medical nutrition therapy: use of sourdough lactic acid bacteria as a cell factory for delivering functional biomolecules and food ingredients in gluten free bread. *Microb. Cell Fact.* **10**(1), S15.

Azarnia, S., Boye, J. I., Warkentin, T., Malcolmson L. (2011) Changes in volatile flavour compounds in field pea cultivars as affected by storage conditions. *Int. J. Food Sci. Technol.* **46**(11), 2408-2419.

Böcker, G., Stolz, P., Hammes, W. P. (1995) Neue Erkenntnisse zum Ökosystem Sauertige und zur Physiologie des Sauerteig – Typischen Stämme *Lactobacillus sanfrancisco* und *Lactobacillus pontis*. *Getreide, Mehl und Brot* **49**, 370-374.

Callejo, M. J. (2011) Present situation on the descriptive sensory analysis of bread. *J. Sens. Stud.* **26**, 255-268.

Corsetti, A., Settanni, L. (2007) Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Res. Int.* **40**, 539-558.

Czerny, M., Schieberle, P. (2002) Important Aroma Compounds in Freshly Ground Wholemeal and White Wheat Flours-Identification and Quantitative Changes during Sourdough Fermentation. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 6835-6840.

Dahl, W. J., Foster, L. M., Tyler, R. T. (2012) Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum L.*). *Brit. J. Nutr.* **108**, S3-S10.

De Vuyst, L., Neysens, P. (2005) The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends Food Sci. Tech.* **16**, 43-56.

Fenko, A., Schifferstein, H. N. J., Huang, T. C., Hekkert, P. (2009) What makes products fresh: The smell or the colour? *Food Qual. Prefer.* **20**, 372-379.

Gallagher, E., Gormley, T. R., Arendt, E. K. (2004) Recent advances in the formulation of gluten-free cereal based products. *Trends Food Sci. Tech.* **15**, 143-152.

- Grosch, W., Schieberle, P. (1997) Flavor of cereal products – a review. *Cereal Chem.* **74**(2), 91-97.
- Hager, A. S., Wolter, A., Czerny, M., Bez, J., Zannini, E., Arendt, E. K., Czerny, M. (2012) Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. *Eur. Food Res. Technol.* **235**(2), 333-344.
- Heitmann, M., Zannini, E., Axel, C., Arendt, E. (2017) Correlation of Flavor Profile to Sensory Analysis of Bread Produced with Different *Saccharomyces cerevisiae* Originating from the Baking and Beverage Industry. *Cereal Chem.* **94**(4), 746-751.
- Henenan, S. P., Dufour, J. P., Hamid, N., Harvey, W., Delahunty, C. (2008) The sensory quality of fresh bread: Descriptive attributes and consumer perceptions. *Food Res. Int.* **41**, 989-997.
- Heng, L. (2005) Flavor Aspects of Pea and Its Protein Preparations in Relation to Novel Protein Foods. Doktorski rad. Wageningen: Wageningen Sveučilište, Nizozemska.
- Houben, A., Höchstötter, A., Becker, T. (2012) Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: an overview. *Eur. Food Res. Technol.* **235**, 195-208.
- Kamaljit, K., Baljeet, S., Amarjeet, K. (2010) Preparation of Bakery Products by Incorporating Pea Flour as a Functional Ingredient. *Am. J. Food Technol.* **5**, 130-135.
- Kermit, M., Lengrad, V. (2005) Assessing the performance of a sensory panel–panelist monitoring and tracking. *J. Chemometr.* **19**(13), 154–161.
- Kihlberg, I., Öström, A., Johansson, L., Risvik, E. (2006) Sensory qualities of plain white pan bread: Influence of farming system, year of harvest and baking technique. *J. Cereal Sci.* **43**(1), 15-30.
- Laureati, M., Giussani, B., Pagliarini, E. (2012) Sensory and hedonic perception of gluten-free bread: Comparison between celiac and non-celiac subjects. *Food Res. Int.* **46**, 326-333.
- Lawless, H. T., Heymann, H. (2010) Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices, 2. izd., Springer Science & Business Media, New York, str. 3-6.

- Matos, M. E., Rosell, C. M. (2015) Understanding gluten-free dough for reaching breads with physical quality and nutritional balance. *J. Sci. Food Agric.* **95**(4), 653-661
- Meilgaard, M. C., Carr, B. T., Civille, G. V. (2006) *Sensory Evaluation Techniques*, 4. izd., CRC Press, Boca Raton, str. 1-37.
- Moore, M. M., Juga, B., Schobler, T. J., Arendt, E. K. (2007) Effect of Lactic Acid Bacteria on Properties of Gluten-Free Sourdoughs, Batters, and Quality and Ultrastructure of Gluten-Free Bread. *Cereal Chem.* **84**(4), 357-364.
- Moroni, A. V., Dal Bello, F., Arendt, E. K. (2009) Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiol.* **26**, 676-684.
- Naqash, F., Gani, A., Gani, A., Masoodi, F. A. (2017) Gluten-free baking: Combating the challenges - A review. *Trends Food Sci. Tech.* **66**, 98-107.
- Novotni, D., Čukelj, N., Smerdel, B., Bituh, M., Dujmić, F., Čurić, D. (2012) Glycemic index and firming kinetics of partially baked frozen gluten-free bread with sourdough. *J. Cereal Sci.* **55**, 120-125.
- Onishi, M., Inoue, M., Araki, T., Iwabuchi, H., Sagara, Y. (2011) Odorant transfer characteristics of white bread during baking. *Biosci. Biotech. Bioch.* **75**(2), 261-267.
- Pacyński, M., Wojtasiak, R. Z., Mildner-Szkudlarz, S. (2015) Improving the aroma of gluten-free bread. *Food Sci. Tech. - Brazil* **63**, 706-713.
- Pico, J., Bernal, J., Gómez, M. (2015) Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review. *Food Res. Int.* **75**, 200-215.
- Roland, W. S. U., Pouvreau, L., Curran, J., van de Velde, F., de Kok, P. M. T. (2017) Flavor Aspects of Pulse Ingredients. *Cereal Chem.* **94**(1), 58-65.
- Schindler, S., Zelena, K., Krings, U., Bez, J., Eisner, P., Günter Berger, R. (2012) Improvement of the Aroma of Pea (*Pisum sativum*) Protein Extracts by Lactic Acid Fermentation. *Food Technol.* **26**(1), 58-74.
- Segura, M. E., Rosel, C. M. (2011) Chemical Composition and Starch Digestibility of Different Gluten-free Breads. *Plant Foods Hum. Nutr.* **66**, 224-230.

Stone, H., Bleibaum, R., Thomas, H. (2012) *Sensory Evaluation Practices*, 4. izd., Elsevier Academic Press, London/New York, 291-325.

Stone, H., Sidel, J. L. (2004) *Sensory Evaluation Practices*, 3. izd., Elsevier Academic Press, London/New York, str. 1-19, 201-245.

Thompson, T. (1999) Thiamin, riboflavin, and niacin contents of the gluten free diet: is there cause for concern? *J. Am. Diet. Assoc.* **99**(7), 858-862.

Thompson, T. (2000) Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten-free diet. *J. Am. Diet. Assoc.* **100**, 1389-1396.

Urbano, G., Aranda, P., Vílchez, A., Aranda, C., Cabrera, L., Porres, J. M., López-Jurado, M. (2005) Effects of germination on the composition and nutritive value of proteins in *Pisum sativum L.* *Food Chem.* **93**, 671-679.

