

# Primjena rogačevog kiselog tijesta u proizvodnji pekarskih proizvoda

---

Mutak, Nika

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:280276>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-10**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2018.

Nika Mutak

908/PI

**PRIMJENA ROGAČEVOG  
KISELOG TIJESTA U  
PROIZVODNJI PEKARSKIH  
PROIZVODA**

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 Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te uz pomoć Lidije Drobac, bacc. ing. agr. tehničke suradnice i asistentice Saše Drakule, mag. ing.

*Zahvaljujem svima koji su na bilo koji način doprinijeli izradi ovog rada.*

*Hvala tvrtki Tim zip d.o.o. (Zagreb) na kiselom tijestu i pšeničnom brašnu koje je ispitivano u ovom radu i Andreju Hanžeku, dipl. ing. na stručnoj pomoći prilikom izvođenja eksperimentalnog dijela. Također hvala g. Buliću na ponuđenoj pomoći i podršci. Zahvaljujem i tvrtki Naše Klasje d.o.o. (Zagreb) na heljdinom brašnu koje je korišteno u ovom radu.*

*Veliko hvala mentorici izv. prof. dr. sc. Dubravki Novotni na ideji, izdvojenom vremenu, susretljivosti, uloženom trudu, razumijevanju i velikoj pomoći tijekom izrade diplomskog rada.*

*Zahvaljujem tehničkoj suradnici Lidiji Drobac, univ. bacc. ing. na ljubaznosti, korisnim savjetima, velikoj pomoći i uvijek ugodnoj atmosferi prilikom izvođenja eksperimentalnog dijela. Također, hvala asistentici Saši Drakuli, mag. ing. na pomoći, pristupačnosti i prenesenom znanju.*

*Zahvale idu i mojim prijateljima koji su mi bili velika podrška sve ove godine.*

*Najveće hvala mojoj obitelji koja je bila uz mene u najljepšim, ali i onim najtežim trenucima. Hvala vam na motivaciji, dobronamjernim savjetima, bezuvjetnoj ljubavi, razumijevanju i podršci. Hvala što ste vjerovali u mene čak i onda kad ja sama nisam vjerovala. Na kraju samo mogu reći da ste opet bili u pravu. Trud se zaista uvijek isplati.*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za kemiju u tehnologiju žitarica

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

## PRIMJENA ROGAČEVOG KISELOG TIJESTA U PROIZVODNJI PEKARSKIH PROIZVODA

*Nika Mutak, 908/PI*

**Sažetak:** Brašno rogača se, zahvaljujući svojem kemijskom sastavu, primjenjuje u pekarskoj industriji, ali još uvijek u maloj mjeri. Do sada nisu provedena istraživanja vezana za kiselo tijesto od brašna rogača. Cilj ovog rada bio je dodatkom rogačevog kiselog tijesta (s i bez dodatka heljdinog brašna) te samog brašna rogača, nutritivno obogatiti gotov proizvod te ispitati njegova tehnološka i organoleptička svojstva. Fermentacija rogačevog kiselog tijesta provodila se pri 30 °C uz dodatak starter kultura *Lactobacillus brevis* i *Lactobacillus fermentum*. Za proizvodnju polupečenog smrznutog kruha od pšeničnog brašna, korišteno je rogačevo kiselo tijesto (20 %) ili rogačevo brašno (9 %). Specifični volumen kod proizvoda s dodatkom rogača bio je veći, boja tamnija, čvrstoća gotovo podjednaka, dok je mrvljivost bila vidno manja u odnosu na pšenični kruh. Kruh sa rogačevim kiselim tijestom imao je veći udio prehrambenih vlakana (5 %) u odnosu na pšenični kruh (3 %), a također i veći udio ukupnih fenolnih spojeva (za 2 - 3 puta) te antioksidacijsku aktivnost (za 4 - 12 puta). Senzorskom analizom najbolje su ocijenjeni kruhovi s dodatkom rogačevog kiselog tijesta.

**Ključne riječi:** rogačevo kiselo tijesto, polupečeni smrznuti kruh, prehrambena vlakna, ukupni fenolni spojevi, antioksidacijska aktivnost

**Rad sadrži:** 74 stranice, 28 slika, 8 tablica, 92 literaturnih navoda, 4 priloga

**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:** tehničarka Lidija Drobac, bacc. ing. agr. i asistentica Saša Drakula, mag. ing.

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. Prof. dr. sc. Duška Ćurić
2. Izv. prof. dr. sc. Dubravka Novotni
3. Doc. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević
4. Izv. prof. dr. sc. Jasna Mrvčić (zamjena)

**Datum obrane:** 25. rujna 2018.

## 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

### APPLICATION OF CAROB SOURDOUGH IN BREAD PRODUCTION

*Nika Mutak, 908/PI*

**Abstract:** Because of chemical composition, carob flour is utilised in bakery industry but scarcely. So far, studies related to carob sourdough have not been conducted yet. The aim of this thesis was to nutritionally enrich the product with addition of carob sourdough (with and without buckwheat flour addition) and carob flour, and to test its technological and organoleptic attributes. Sourdough was fermented at 30 °C with starter cultures *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus fermentum*. Carob sourdough (20 %) or carob flour (9 %) were used in making partially baked frozen wheat bread. The specific volume of carob bread was larger, the colour darker, firmness nearly alike while crumbliness was less visible in comparison to the wheat bread. Bread with carob sourdough contained in average 5% of total dietary fibre compared to 3% contained in wheat bread. Furthermore, total phenolics content were much higher (2 - 3 times) as well as a FRAP antioxidant activity (4 - 12 times). Sensory analysis showed that the most desirable wheat breads are breads produced with carob sourdough.

**Keywords:** carob sourdough, partially baked frozen bread, dietary fibre, total phenolics, antioxidant activity

**Thesis contains:** 74 pages, 28 figures, 8 tables, 92 references, 4 supplements

**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. Dubravka Novotni, Associate Professor*

**Technical support and assistance:** *Lidija Drobac, univ. bacc. ing., Saša Drakula, BSc, Research assistant*

**Reviewers:**

1. PhD. *Duška Ćurić*, Full professor
2. PhD. *Dubravka Novotni*, Associate professor
3. PhD. *Danijela Bursać Kovačević*, Assistant professor
4. PhD. *Jasna Mrvčić*, Associate professor (substitute)

**Thesis defended:** 25 September 2018

# SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| <b>1. UVOD</b> .....  | 1  |
| <b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....                                       | 3  |
| 2.1. KRUH.....  | 3  |
| 2.2. HELJDA KAO SIROVINA ZA PROIZVODNJU KRUHA.....                  | 4  |
| 2.3. ROGAČ .....  | 5  |
| 2.3.1. Primjena rogača u pekarstvu .....                            | 7  |
| 2.4. POSTUPCI PROIZVODNJE KRUHA .....                               | 9  |
| 2.4.1. Konvencionalni postupak proizvodnje kruha.....               | 9  |
| 2.4.2. Tradicionalni postupci s fermentacijom kiselog tijesta ..... | 10 |
| 2.4.2.1. Povijest uporabe kiselog tijesta .....                     | 10 |
| 2.4.2.2. Prirodno i definirano kiselo tijesto .....                 | 11 |
| 2.4.2.3. Bakterije roda Lactobacillus .....                         | 11 |
| 2.4.2.4. Kruh proizveden s dodatkom kiselog tijesta .....           | 14 |
| 2.4.3. Moderni postupci proizvodnje kruha s odgodom pečenja.....    | 15 |
| 2.4.3.1. Proces proizvodnje polupečenog kruha .....                 | 16 |
| <b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....                                 | 18 |
| 3.1. MATERIJALI .....   | 18 |
| 3.1.1. Uzorci.....  | 19 |
| 3.1.2. Reagensi.....  | 20 |
| 3.1.3. Aparatura i pribor.....                                      | 21 |
| 3.2. METODE RADA .....  | 24 |
| 3.2.1. Određivanje raspodjele veličine čestica .....                | 24 |
| 3.2.2. Priprema inokuluma .....                                     | 24 |
| 3.2.3. Određivanje broja živih stanica mikroorganizama.....         | 25 |
| 3.2.4. Priprema kiselog tijesta.....                                | 26 |
| 3.2.5. Određivanje ukupne kiselosti .....                           | 27 |
| 3.2.6. Određivanje reoloških svojstva i apsorpcije vode.....        | 27 |
| 3.2.7. Izrada kruha postupkom dopečenja.....                        | 28 |
| 3.2.8. Određivanje fizikalnih svojstva kruha .....                  | 29 |
| 3.2.8.1. Određivanje volumena i specifičnog volumena.....           | 30 |
| 3.2.8.2. Određivanje boje sredine na kolorimetru.....               | 30 |
| 3.2.8.3. Određivanje teksture sredine kruha .....                   | 30 |
| 3.2.8.4. Određivanje mrvljivosti kruha .....                        | 31 |
| 3.2.8.5. Prinos kruha, prinos volumena i gubitak pečenjem .....     | 31 |
| 3.2.9. Određivanje kemijskog sastava sirovina i kruha.....          | 32 |
| 3.2.9.1. Određivanje udjela vode .....                              | 32 |
| 3.2.9.2. Određivanje udjela masti .....                             | 33 |
| 3.2.9.3. Određivanje udjela šećera.....                             | 33 |
| 3.2.9.4. Određivanje udjela prehrambenih vlakana .....              | 35 |
| 3.2.9.5. Određivanje udjela proteina.....                           | 39 |
| 3.2.9.6. Određivanje udjela pepela .....                            | 40 |
| 3.2.9.7. Određivanje ukupnih fenolnih spojeva .....                 | 41 |
| 3.2.9.8. Određivanje antioksidacijske aktivnosti .....              | 42 |
| 3.2.10. Senzorska analiza.....                                      | 43 |
| 3.2.11. Statistička obrada podataka .....                           | 44 |
| <b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....                                | 45 |
| 4.1. RASPODJELA VELIČINE ČESTICA ROGAČEVOG BRAŠNA.....              | 46 |
| 4.2. SVOJSTVA KISELOG TIJESTA .....                                 | 47 |
| 4.3. REOLOŠKA SVOJSTVA KRUŠNIH TIJESTA.....                         | 49 |



|   |           |
|---|-----------|
| 4.4. FIZIKALNA SVOJSTVA KRUHA .....   | 51        |
| 4.4.1. Prinos kruha i gubitak mase pečenjem.....  | 51        |
| 4.4.2. Prinos volumena i specifični volumen .....   | 53        |
| 4.4.3. Izgled i boja kruha .....  | 54        |
| 4.4.4. Tekstura sredine .....   | 56        |
| 4.5. KEMIJSKI SASTAV KRUHA, KISELIH TIJESTA I ROGAČEVOG BRAŠNA.....                           | 58        |
| 4.5.1. Udio nutrijenata .....   | 58        |
| 4.5.2. Udio ukupnih fenolnih spojeva .....  | 60        |
| 4.5.3. Antioksidacijska aktivnost.....  | 61        |
| 4.6. SENZORSKA ANALIZA .....  | 62        |
| <b>5. ZAKLJUČAK .....</b>   | <b>65</b> |
| <b>6. LITERATURA .....</b>  | <b>67</b> |
| <b>7. PRILOZI</b>   |           |
| <b>PRILOG 1. FARINOGRAMI</b>  |           |
| <b>PRILOG 2. PRIKAZ MRVICA UZORAKA KRUHA</b>  |           |
| <b>PRILOG 3. PRIKAZ VANJSKOG IZGLEDA I IZGLEDA SREDINE (POPREČNOG PRESJEKA) UZORAKA KRUHA</b> |           |
| <b>PRILOG 4. PRIMJER TESTA ZA SENZORSKU ANALIZU KRUHA</b>                                     |           |

# 1. UVOD

Kruh je oduvijek bio neizostavni dio ljudske prehrane, a njegova tehnologija proizvodnje je jedna od najstarijih uopće. Kiselo tijesto se koristilo za dizanje tijesta sve do otkrivanja pivskog kvasca, što predstavlja važan trenutak u povijesti pekarstva. S vremenom se razvila moderna proizvodnja svježeg kvasca. Danas se pekarski kvasac koristi za dizanje tijesta i omogućuje automatiziranu industrijsku proizvodnju kruha s brzim zamjesom i kratkom fermentacijom, no međutim skraćivanje tehnološkog procesa proizvodnje kruha nepovoljno utječe na njegovu aromu i okus te dolazi do mrvljenja i starenja kruha. Nezadovoljstvo potrošača takvim kruhom te zahtjevi za nutritivno visokovrijednim i kvalitetnim proizvodom potaknuli su brojne pekare da počnu koristiti kiselo tijesto u proizvodnji pekarskih proizvoda.

Razvojem suvremenog pekarstva, počela se primjenjivati proizvodnja polupečenog kruha. Takav kruh se proizvodi vrlo slično konvencionalnom postupku, ali se ispeče do približno 75 % ukupnog pečenja, nakon čega se skladišti (hladi ili zamrzava, ovisno o duljini skladištenja) te se do kraja ispeče na prodajnom mjestu. Na taj način se osigurava njegova svježina te dostupnost potrošaču tijekom cijelog dana. Kod proizvodnje polupečenog kruha, moguć je dodatak kiselog tijesta u zamjes s ciljem poboljšanja okusa i arome kruha.

U novije vrijeme, sve češće se provode istraživanja vezana za uporabu kiselih tijesta proizvedenih od brašna koje nije pšenično. Prema literaturnim podacima, do sada nisu provedena istraživanja u kojima se ispitivalo kiselo tijesto od brašna rogača. Rogač pripada porodici mahunarki, a uzgaja se na području Mediterana. Ima vrlo široku primjenu u prehrambenoj industriji gdje se koristi kao zaslađivač, aroma, ugušćivač ili stabilizator. U pekarstvu se koriste uglavnom rogačevo brašno i guma sjemenki rogača, ali još uvijek u maloj mjeri. Rogačevo brašno ima velik udio šećera, relativno umjeren udio proteina, mali udio masti te izrazito visok udio prehrambenih vlakana i polifenola koji imaju antioksidacijsko djelovanje. Zahvaljujući iznimno povoljnom kemijskom sastavu, rogačevo brašno se može koristiti za povećanje nutritivne i zdravstvene vrijednosti te poboljšanje tehnoloških svojstva proizvoda od žitarica kao što su kruh, keksi i kolači, a s obzirom na to da ne sadrži gluten koristi se i u proizvodnji bezglutenskih proizvoda.

Cilj ovog rada bio je dodatkom kiselog tijesta od brašna rogača (s i bez dodatka heljadinog brašna) fermentiranog s definiranim starter kulturama *Lactobacillus brevis* ili *Lactobacillus fermentum* kao i kvasca *Saccharomyces cerevisiae* te dodatkom samog rogačevog brašna u zamjes, nutritivno obogatiti bijeli pšenični kruh te ispitati njegova

tehnološka svojstva. S obzirom na to da potrošači pokazuju interes, ali i otpor ka nečem novom i drugačijem, u ovom radu će se također provesti hedonistička senzorska analiza i test preferencija kruha s rogačem u usporedbi s uobičajenim bijelim pšeničnim kruhom.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. KRUH

Razvoj proizvoda od žitarica ima jako dugu povijest. Najnovija arheološka istraživanja navode da je razvoj pekarstva započeo prije petnaest tisuća godina. Pred više tisuća godina stari Egipćani i Grci su spoznali činjenicu da staro tijesto dodano u novi zamjes poboljšava vrenje tijesta, stoga su dio tijesta koje se peklo taj dan ostavili za dodavanje zamjesu sljedećeg dana i na taj način proizvodili kruh (Klarić, 2017). Ovakav način proizvodnje kruha primjenjivao se do 19. st. kada je ustanovljeno da su kvasci uzročnici vrenja. S vremenom dolazi do industrijske mono - proizvodnje, posebice kruha, koji se na taj način proizvodio puno učinkovitije. Razvojem pekarstva smanjio se interes potrošača za okus kruha proizvedenog klasičnim postupkom dugotrajne fermentacije (Decock i Cappelle, 2005). Podaci brojnih istraživanja vezanih za konzumaciju kruha u posljednjih stotinjak godina ukazuju na značajan pad udjela kruha u svakodnevnoj prehrani, jer se smatrao uzrokom pretilosti. Bez obzira na to, kruh je oduvijek, pa i danas, neizostavni dio ljudske prehrane i iznimno je važan za razvoj kompletne civilizacije. U današnje vrijeme potrošačima je najvažnija zdravstvena i prehrambena vrijednost kruha, njegova laka probavljivost, fini okus i miris te što dulja svježina i trajnost.

Raznolikost pekarskih proizvoda rezultat je različitosti tradicije, kulture te geografskog podrijetla i potrošač će, ovisno o kulturi, osobnom iskustvu i preferenciji, kruh nazvati dobrim ili lošim. Međutim, kruh se može kategorizirati kao dobar i loš samo onda kada postoje ozbiljne greške u njegovoj kvaliteti. Kvaliteta kruha određuje se na temelju oblika, volumena te vanjskog izgleda kruha (boja i izgled kore), strukture sredine (broj i raspodjela pora te boja), teksture, mirisa, okusa te nutritivne vrijednosti i svježine, odnosno trajnosti kruha (Cauvain, 2015).

Da bi se postigla poželjna kvaliteta kruha, odnosno uvidjele pogreške nastale u tehnološkom procesu i otklonili njihovi uzroci, neophodno je temeljito poznavanje svake sirovine koja ulazi u proces proizvodnje, odnosno njezinih fizikalnih, kemijskih i organoleptičkih svojstva, strukture, kemijskog sastava te načina pravilnog skladištenja (Klarić, 2017). Osnovne sirovine za proizvodnju kruha su: brašno krušnih žitarica (pšenica i raž), voda, sol i kvasac (prešani, suhi ili tekući). Ovisno o vrsti kruha koji se želi proizvesti, u zamjes se mogu dodati dodatne sirovine u koje spadaju: brašno nekrušnih žitarica (kukuruz, zob, ječam, heljda i proso), šećer, škrob, masnoće, mlijeko i mliječni proizvodi, jaja (svježa ili u prahu) i sl. Kako bi se poboljšao proces proizvodnje kruha mogu se dodati i neke pomoćne sirovine, odnosno poboljšivači čija

je uloga regulacija kiselosti tijesta, povećanje apsorpcije vode u tijestu, poboljšanje reoloških svojstva tijesta te procesa fermentacije. U poboljšivače spadaju emulgatori, organske kiseline i njihove soli, enzimska sredstva, sredstva za vezivanje vode i zgušnjavanje, kao što je brašno koštica rogača i sl.

## 2.2. HELJDA KAO SIROVINA ZA PROIZVODNJU KRUHA

Heljda (lat. *Fagopyrum esculentum* Moench) je jednogodišnja zeljasta biljka iz porodice dvornika (*Polygonaceae*). Iako prema botaničkoj podjeli ne spada u žitarice, svrstava se u nekrušne žitarice koje se ne koriste za samostalnu proizvodnju kruha nego služe kao dodaci krušnim žitaricama u proizvodnji pekarskih proizvoda. Dosadašnja istraživanja navode da se heljda počela uzgajati oko 6000 godina p.n.e. u Aziji (Tibet, Kina i Japan) nakon čega se proširila do Europe. Danas se najviše uzgaja u Rusiji, Ukrajini i u Aziji. Vegetacija joj je vrlo kratka, brzo dozrijeva, otporna je na bolesti žitarica i štetnika te ne zahtijeva posebno plodno tlo (Klarić, 2017). Kao i druge nekrušne žitarice, heljda je godinama bila zapostavljena, ali u novije vrijeme, zahvaljujući svojoj visokoj prehrambenoj i biološkoj vrijednosti, dobiva na značenju i uz krupnik je jedna od najvažnijih žitarica pogodna za ekološki uzgoj bez upotrebe umjetnih gnojiva i pesticida (Bonafaccia i sur., 2003). Brašno heljde se dobiva mljevenjem zrna heljde te se miješa s pšeničnim ili raženim brašnom kako bi se dobio pekarski proizvod svojstvenog okusa. Kemijski sastav heljdinog brašna prema Bonafaccia i sur. (2003) prikazan je u tablici 1.

**Tablica 1.** Kemijski sastav brašna heljde (Bonafaccia i sur., 2003)

| Nutrijenti                | Udio (%)    |
|---------------------------|-------------|
| <b>Masti</b>              | 2,34 ± 0,08 |
| <b>Proteini</b>           | 10,6 ± 0,04 |
| <b>Pepeo</b>              | 1,82 ± 0,02 |
| <b>Prehrambena vlakna</b> | 6,77 ± 0,18 |
| <b>Škrob</b>              | 78,4 ± 0,27 |

Heljda je jedan od najboljih izvora visokovrijednih proteina čija biološka vrijednost iznosi 92,3 % (Biacs i sur., 2002). Sadrži velik udio esencijalnih aminokiselina (lizin, triptofan, metionin)

i drugih aminokiselina (arginin, cistein) te ima veću proteinsku vrijednost od kukuruza i soje (Klarić, 2017). Osim toga, heljda je od većine žitarica bogatija lipidima (uglavnom sadrži nezasićene masne kiseline), mineralima te vitaminima od kojih prevladavaju B1 i B2 (Arendt i Zannini, 2013). Također je bogata flavonoidima koji su učinkoviti kod snižavanja kolesterola u krvi, održavanju kapilara i arterija jakim i fleksibilnim te snižavanju krvnog tlaka (Skrabanja i sur., 2004). Glavni flavonoidi u heljdi su rutin i kvercetin. Njihov udio ovisi o lokaciji na kojoj se heljda uzgaja te o samoj sorti. Oljušteno zrno heljde sadrži približno  $0,20 \text{ mg g}^{-1}$  rutina i  $0,001 \text{ mg g}^{-1}$  kvercetina. Karakterizira ih jako antioksidacijsko djelovanje, pa tako antioksidacijska aktivnost rutina u različitim izvorima hrane iznosi približno  $2,4 \pm 0,12 \text{ mmol L}^{-1}$ , dok antioksidacijska aktivnost kvercetina iznosi približno  $4,7 \pm 0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  (Arendt i Zannini, 2013).

Pekarski proizvodi s integralnim heljdinim brašnom imaju visoku biološku vrijednost i mogu se svrstati u dijetetske proizvode, a s obzirom na to da heljda ne sadrži gluten, takve proizvode mogu konzumirati i osobe koje boluju od celijakije.

### 2.3. ROGAČ

Rogač (*Ceratonia siliqua L.*) je zimzeleni grm ili drvo, koje pripada porodici mahunarki (*Fabaceae*). Uzgaja se na području Mediterana, najviše u Španjolskoj, Italiji, Portugalu i Maroku (Durazzo i sur., 2014), dok se Hrvatska nalazi na 11. mjestu s udjelom od 0,3 % u ukupnoj proizvodnji (500 tona godišnje) (FAO, 2013). Stablo rogača veoma je zahvalno za uzgoj i kultivaciju zbog otpornosti na sušu i sposobnosti rasta na nenavodnjavanim površinama, no u Hrvatskoj je uzgoj rogača ograničen na manja područja. Najrašireniji je na području Dubrovačkog primorja, Pelješca te na otocima Šipanu, Lopudu i Mljetu, a uzgaja se i na Korčuli, Lastovu, Braču, Visu, Šolti i Drveniku (Strikić i sur., 2006).

Plod rogača čini mahuna, ravnog ili zakrivljenog oblika, koja se sastoji od pulpe i 5 - 15 sjemenki poredanih u nizu. Pulpa je sastavljena od vanjskog kožastog dijela (perikarpa) i mekšeg unutarnjeg sloja (mezokarpa) te na nju otpada 90 % ukupne mase, dok ostalih 10 % čine sjemenke sastavljene od ovojnice (30 - 33 %), endosperma (42 - 46 %) te klice (23 - 25 %) (Gharnit i sur., 2004).

Nakon berbe, zdravi i neoštećeni plodovi se osuše i zatim usitne kako bi se pulpa odvojila od sjemenki. Sjemenke se smatraju najvrjednijim dijelom ploda i koriste se za daljnje dobivanje gume rogača, a komadići ploda se prerađuju u brašno. Prije mljevenja, plodovi se mogu pržiti

s ciljem dobivanja bolje arome i veće trajnosti proizvoda pa tako razlikujemo sirovo i prženo brašno rogača. Dobiveno brašno, poznatije pod nazivom rogač u prahu ili mljeveni rogač, može se koristiti izravno, kao sastojak drugih namirnica ili se prerađivati u svrhu ekstrakcije specifičnih sastojaka, kao što su saharoza, prehrambena vlakna, antioksidansi i sl. (Iipumbu, 2008).

Kemijski sastav ploda rogača uvelike se razlikuje ovisno o sorti rogača, porijeklu i vremenu dozrijevanja, temperaturi, klimatskim uvjetima, atmosferskoj vlažnosti, stupnju zrelosti te načinu prerade (Iipumbu, 2008; Strikić i sur., 2006; Nasar-Abbas i sur., 2016). Mahuna rogača sadrži velik udio šećera od kojih prevladava saharoza, relativno umjeren udio proteina i mali udio lipida (tablica 2) koji su sastavljeni od 17 različitih masnih kiselina, a najzastupljenije su oleinska (40 %), linolenska (23 %), palmitinska (11 %) te stearinska (3 %) masna kiselina (Youssef i sur., 2013; Kumazawa i sur., 2002).

**Tablica 2.** Kemijski sastav mahune rogača (Iipumbu, 2008; Yousif i Alghzawi, 2000; Durazzo i sur., 2014)

| <b>Nutrijenti</b>         | <b>Udio (g/100 g)</b> |
|---------------------------|-----------------------|
| <b>Voda</b>               | 3,6 - 18,0            |
| <b>Anorganski ostatak</b> | 1,0 - 6,0             |
| <b>Proteini</b>           | 1,0 - 7,6             |
| <b>Masti</b>              | 0,2 - 2,3             |
| <b>Ugljikohidrati</b>     | 48,0 - 88,9           |
| <b>Šećeri</b>             | 32,0 - 60,0           |
| <b>Prehrambena vlakna</b> | 2,6 - 39,8            |

Osim povoljnog sadržaja nutrijenata, mahuna rogača i rogačevo brašno imaju vrlo bogat i raznovrstan bioaktivni sastav. Od mineralnih tvari sadrže: K, Ca, Mg, Na, P, S i Fe od kojih prevladavaju kalij, kalcij i magnezij, a od vitamina, vitamin E, D, C, niacin, B6 i folnu kiselinu (Khelifa i sur., 2013; Ayaz i sur., 2009; Youssef i sur., 2013). Također, brašno rogača je bogato polifenolima koji su posljednjih godina iznimno popularni, a razlog je njihovo antioksidacijsko djelovanje zahvaljujući kojemu pokazuju razne biološke učinke na ljudski organizam. Prevladavaju elagitanini i galotanini, a njihov udio varira ovisno o zrelosti ploda, procesu

prerade mahune te prženju (Papagiannopoulos i sur., 2004; Scalbert i sur., 2005; Şahin i sur., 2009).

### 2.3.1. Primjena rogača u pekarstvu

Rogač danas služi za dobivanje različitih prehrambenih proizvoda kao što su brašno rogača, gume sjemenki rogača, sirup, alkohol te se koristi kao zamjena za kakao i kavu (Youssef i sur., 2013) (slika 1).



**Slika 1.** Rogač i proizvodi od rogača (Anonymous 1)

Guma sjemenki rogača, koja se naziva karuba guma, koristi se kao prehrambeni aditiv E410 i djeluje kao prirodni biljni zgušnjivač, sredstvo za želiranje, emulgator i stabilizator (Dionisio i Grenha, 2012).

S obzirom na to da rogač ima pozitivne učinke na krajnji proizvod, u pekarstvu se koriste rogačevo brašno i gume sjemenki rogača, no još uvijek u malim količinama. Zahvaljujući iznimno povoljnom kemijskom sastavu, rogačevo brašno se koristi za povećanje nutritivne vrijednosti proizvoda od žitarica kao što su kruh, keksi i kolači (Ortega i sur., 2011).

Zbog niskog udjela masti te povoljnog omjera i sastava masnih kiselina, kao i visokog udjela prehrambenih vlakana, rogač se može smatrati poželjnom sirovinom u proizvodnji zdrave hrane (Ortega i sur., 2011; Iipumbu, 2008; Youssef i sur., 2013). Osim toga, s obzirom na to da ne sadrži gluten, često se koristi za proizvodnju bezglutenskih pekarskih proizvoda. Brašno klice rogača, koje je nusproizvod proizvodnje gume sjemenki rogača, koristi se u dijetetskoj hrani ili kao sastojak u proizvodima koji su namijenjeni oboljelima od celijakije (Durazzo i



sur., 2014; Youssef i sur., 2013). Zahvaljujući svojem kemijskom sastavu, koristi se i kao zamjena za kakao prah u proizvodnji pekarskih proizvoda. Rosa i sur. (2015) su proveli istraživanje kojemu je cilj bio proizvesti bezglutenski kolač u kojemu je kakao prah zamijenjen rogačevim brašnom. Razlog zašto je odabrano baš rogačevo brašno je njegov mali udio masti, posebice u odnosu na udio masti u kakau te vrlo slična boja i okus. Rezultati su pokazali da kolač proizveden s rogačevim brašnom ima veći udio vode zbog prehrambenih vlakana koja odlično apsorbiraju vodu, nadalje veći udio prehrambenih vlakana, manji udio masti i ugljikohidrata pa tako i nižu kalorijsku vrijednost, dok su okus, miris i tekstura bili približno jednaki.

Osim povećanja nutritivne vrijednosti proizvoda, rogač utječe i na povećanje zdravstvene vrijednosti proizvoda. Istraživanja su pokazala da je rogač (*Ceratonia siliqua* L.) kao sirovina učinkovit u prevenciji raka debelog crijeva, snižavanju kolesterola te u smanjenju rizika od dijabetesa tipa 2 (Nasar-Abbas i sur., 2016).

Brašno rogača koristi se u pekarstvu i zbog pozitivnog utjecaja na reološka svojstva tijesta, a time i na gotov proizvod. Ono spada u sredstva koja imaju izrazitu sposobnost vezanja velike količine vode. Iz tog razloga se dodaje u tijesto kako bi mu povećao prinos. Jakim vezanjem vode, rogačevo brašno u tijestu usporava naknadno sušenje i na taj način produljuje svježinu proizvoda. Nadalje, sastoji se od približno 86 % galaktomanana koji utječu na povećanje viskoznosti otopine. Također se koristi kao vezivna tvar u preljevima za kolače (Klarić, 2017). S druge strane, Salinas i sur. (2015) su ispitali utjecaj dodatka brašna sjemenke i brašna pulpe rogača (10-30 %) u bijeli pšenični kruh i rezultati su pokazali da povećanjem količine rogačevog brašna dolazi do smanjenja njegovog specifičnog volumena te kruh postaje tvrdi. Slično, Šoronja-Simović i sur. (2016) su utvrdili da dodatak 20 % komercijalnog rogačevog brašna u bijeli pšenični kruh nepovoljno utječe na njegova tehnološka svojstva, tvrdoća mu se poveća 10 %, a elastičnost smanjuje 15 %. Ali je također utvrđeno da dodatak komercijalnog rogačevog brašna (20 %) u pšenični kruh suzbija mikrobiološku kontaminaciju tijekom skladištenja kruha pa mu se tako produžuje trajnost.

S obzirom na to da rogač ima povoljan utjecaj na organoleptička i tehnološka svojstva te povećava nutritivnu i zdravstvenu vrijednost krajnjeg proizvoda, njegova primjena u proizvodnji pekarskih proizvoda trebala bi biti odlučujući korak za postizanje visoke kvalitete proizvoda.

## 2.4. POSTUPCI PROIZVODNJE KRUHA

### 2.4.1. Konvencionalni postupak proizvodnje kruha

Nakon pripreme sirovina, slijedi izrada odnosno zamjes tijesta, koji je uz proces pečenja, najvažnija tehnološka faza proizvodnje kruha. U prvoj fazi sporog miješanja se sastojci homogeniziraju te se određuje određena količina tekućine koju brašno može upiti. U drugoj fazi brzog miješanja dolazi do stvaranja glutenske mreže što uzrokuje elastičnost i žilavost tijesta. Nakon procesa miješanja, tijesto ide na odmaranje u masi 15 do 60 minuta, dolazi do opuštanja površine tijesta (razmještanje molekula glutena), naknadnog bubrenja glutena, stvaranja CO<sub>2</sub> djelovanjem kvasca te djelovanja enzima brašna na škrob pri čemu nastaje šećer koji kvasci mogu prevreti. Nakon odmaranja, tijesto po potrebi ide na premjesivanje radi poticanja rasta i razmnožavanja kvasca u tijestu koji proizvodi CO<sub>2</sub> što rezultira jačanjem tijesta. Takvo tijesto se dijeli na željenu masu i oblikuje u kuglu, nakon čega ponovno ide na odmaranje kako bi se postigla željena reološka svojstva i zatim slijedi završno oblikovanje. Vremensko razdoblje od trenutka kada je završilo završno oblikovanje tijesta do trenutka kada tijesto ide u peć naziva se završna fermentacija. U ovoj se fazi odvijaju biokemijski procesi isti kao oni koji se odvijaju kod odmaranja tijesta u masi (Klarić, 2017). Nakon fermentacije slijedi faza pečenja, odnosno pretvaranja sirovog neprobavljivog tijesta u pečeni probavljivi proizvod. Da bi se postigla dobra kvaliteta kruha bitno je uskladiti uvjete pečenja: temperaturu, vrijeme i atmosferu pečenja.

Tijekom ovog procesa javljaju se promjene koje su posljedica fizikalnih, koloidnih, biokemijskih i mikrobioloških reakcija uslijed djelovanja topline. Nakon pečenja, kruh je potrebno ohladiti na sobnu temperaturu, a to se najčešće odvija prirodnim putem, odnosno izlaganjem kruha sobnoj temperaturi ili uz pomoć hladnog zraka. Vrijeme hlađenja ovisi o samoj metodi hlađenja te karakteristikama kruha.

Tehnološki postupci proizvodnje kruha se razlikuju i prije nego se odredi koji će se postupak koristiti potrebno je provesti analizu, pri čemu se u obzir uzima kvaliteta brašna, specifičnost pogona i proizvodni asortiman (Klarić, 2017).

Glavni industrijski postupci su: direktni ili jednofazni postupak, indirektni ili dvofazni postupak, brzi postupak (no - time) i kontinuirani ili Chorleywood postupak (Ćurić i sur., 2014).

Kod direktnog postupka glavno tijesto se priprema tako da se sve sirovine istovremeno doziraju i potom se zamijesi tijesto, za razliku od indirektnog postupka kod kojeg se najprije pripremi predtijesto (dio sirovina) i nakon njegovog dozrijevanja se dodaje ostatak sirovina te slijedi

izrada tijesta. Direktni postupak ima u cilju smanjiti broj radnih operacija i pojednostaviti cijeli proces, dok je cilj indirektnog postupka razmnožavanje i povećanje biomase te nastanak spojeva koji pogoduju okusu, mirisu i svježini gotovog proizvoda (Klarić, 2017). Kod brzog postupka je vrijeme fermentacije u masi nakon miješanja skraćeno ili se fermentacija uopće ne provodi, dok je kod Chorleywood postupka cilj mehanički ubrzati dozrijevanje tijesta, odnosno prilikom miješanja tijesta unijeti značajnu količinu energije koja olakšava razvoj tijesta, smanjuje mjehuriće plina, povećava njihov broj i u konačnici daje proizvod velikog volumena. Svi navedeni postupci imaju svoje prednosti i nedostatke.

## 2.4.2. Tradicionalni postupci s fermentacijom kiselog tijesta

### 2.4.2.1. Povijest uporabe kiselog tijesta

Počeci pripreme krušnog tijesta kiselim vrenjem datiraju negdje još iz Egipta prije 5000 godina. Utvrđeno je da se već oko 1800 g. p. n. e. u nekim mjestima Istočnog Sredozemlja poznao proces proizvodnje kiselog tijesta. Egipćani su za proizvodnju dizanog kruha koristili staro tijesto koje bi dodali u novi zamjes. Potom se je uporaba kiselog tijesta proširila do Grčke gdje se kruh proizvodio sa suhim kiselim tijestom. Nakon berbe grožđa, odstajali mošt se miješao sa pšeničnim posijama i smjesa se sušila na suncu, nakon čega bi se određena količina smjese otopila u vodi i pomiješala s brašnom (Klarić, 2017). Uporaba kiselog tijesta širila se dalje preko Rimskog Carstva prema sjeveru Europe i ostalom dijelu svijeta. Tadašnje kiselo tijesto je nastajalo spontanom fermentacijom bakterija i kvasaca prirodno prisutnih u brašnu. Koristilo se stoljećima kao jedina mogućnost dizanja tijesta, sve dok početkom 15. st. nije otkriven pivski kvasac koji je kao nusproizvod pivovara bio dostupan u dovoljnim količinama. Nakon toga započinje upotreba izdvojenog pivskog kvasca koji se miješao s kiselim tijestom i prerađivao. S vremenom se razvila proizvodnja današnjeg prešanog pekarskog kvasca (Klarić, 2017; Mrvčić i sur., 2011). U 20. stoljeću, zbog zabrane noćnog rada i smanjenog radnog vremena, dolazi do potrebe za modifikacijom procesa proizvodnje pekarskih proizvoda. Zapčinje industrijska proizvodnja kvasca na melasi koji zamjenjuje kisela tijesta. Razvojem pekarskog kvasca, kisela tijesta se prestaju primjenjivati u proizvodnji pekarskih proizvoda. U novije vrijeme, radi sve većeg nezadovoljstva potrošača kvalitetom kruha, bilježi se porast uporabe kiselog tijesta te pojačana istraživanja u području razvoja specifičnih kultura za fermentaciju i kontrole uvjeta fermentacije (Poutanen i sur., 2009).

#### 2.4.2.2. *Prirodno i definirano kiselo tijesto*

Kiselo tijesto je kompleksni mikrobni ekosustav kojega čine bakterije mliječne kiseline (BMK) i kvasci u aktivnom stanju. Do sada je u kiselom tijestu pronađeno oko 50 vrsta BMK te više od 20 vrsta kvasaca (Mrvčić i sur., 2011).

Kiselo tijesto se dobiva tako da se smijesa brašna i vode ostavi 24 - 48 sati na toplom mjestu kako bi se razmnožili prisutni kvasci i BMK. Ako je miris ugodan, takvom se tijestu doda nova količina brašna i vode te se tijesto ponovno ostavlja fermentirati od 12 do 16 sati pri istoj temperaturi (Grba i Stehlik-Tomas, 2010). Nakon što se postupak ponovi nekoliko puta, razvije se kiselo tijesto sa pH vrijednošću približno 4 (Mrvčić i sur., 2011). Promjene u tijestu koje nastaju tijekom fermentacije pridonose aktivaciji enzima amilaze koje razgrađuju škrob do maltoze, a kvasac onda maltozu dalje razgrađuje do glukoze i koristi ju za hranu te proizvodi CO<sub>2</sub> koji diže kiselo tijesto i alkohol. BMK previru niže šećere prisutne u tijestu ili nastale procesom kiseljenja te stvaraju octenu i mliječnu kiselinu koje usporavaju aktivnosti enzima u tijestu i daju proizvodu kiseli okus (Klarić, 2017). Za vrijeme fermentacije kiselog tijesta stvara se i velik broj tvari koje su odgovorne za aromu, a tijekom fermentacije tijesta dolazi i do nastajanja prekursora aroma. Mljeveni sastojci od žitarica, starter kulture, čvrstoća tijesta, stupnjevi i faze dizanja te ponajviše temperatura kiselog tijesta, odgovorni su za sastav i količinu kiselina te okus kruha (Ireks aroma d.o.o., 2017).

Spontanom razmnožavanjem kvasaca i bakterija u tijestu može doći do rasta nepoželjnih mikroorganizama koji su također prisutni u tijestu. Kako bi se to spriječilo, danas je sve češća priprema kiselog tijesta s posebno selektiranim starter kulturama koje se dodaju u količini većoj nego što je količina mikroorganizama već prisutnih u brašnu, kako bi odabrane starter kulture bile dominantne. Ovisno o tome dolazi li do fermentacije i kiseljenja tijesta spontano ili dodatkom starter kultura, razlikujemo prirodna i definirana kisela tijesta (Grba i Stehlik-Tomas, 2010). Danas se u većini pogona prednost daje upotrebi definiranih starter kultura kako bi se osigurala konstantna kvaliteta gotovog (Mrvčić i sur., 2011). Kao starter kulture u pekarstvu se primjenjuju homofermentativne i heterofermentativne BMK, najčešće rodova *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* i *Pediococcus*.

#### 2.4.2.3. *Bakterije roda Lactobacillus*

Rod *Lactobacillus* može se podijeliti u 3 skupine: obligatni homofermentativni, fakultativni heterofermentativni i obligatni heterofermentativni *Lactobacilli* (tablica 3).

Obligatni homofermentativni *Lactobacilli* EMP putem fermentiraju heksozu skoro u potpunosti do mliječne kiseline (> 85 %). Posjeduju enzim fruktoza-1,6-bifosfat aldolazu, ali ne posjeduju fosfoketolazu te zbog toga ne mogu fermentirati glukonsku kiselinu i pentoze.

Fakultativni heterofermentativni *Lactobacilli* EMP putem fermentiraju heksoze skoro u potpunosti do mliječne kiseline, a pentoze fermentiraju fosfoglukonatnim putem do mliječne i octene kiseline. U prisutnosti glukoze, enzimi fosfoglukonat puta su inhibirani. Posjeduju enzim fruktoza-1,6-bifosfat aldolazu i fosfoketolazu te zbog toga mogu fermentirati heksoze i pentoze.

Obligatni heterofermentativni *Lactobacilli* posjeduju enzim fosfoketolazu i fosfoglukonatnim putem fermentiraju heksozu do mliječne kiseline, etanola ili octene kiseline te CO<sub>2</sub> u ekvimolarnim količinama. Pentoze također fermentiraju fosfoglukonatnim putem do mliječne i octene kiseline (Hammes i sur., 1995).

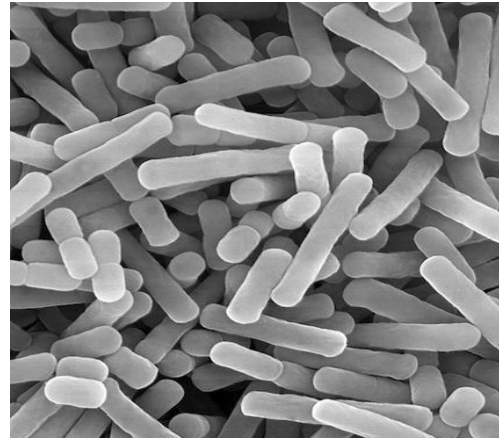
**Tablica 3.** Vrste bakterija iz roda *Lactobacillus* koje se najčešće nalaze u kiselom tijestu (Corsetti i Settanni, 2007)

| Obligatno heterofermentativne   | Fakultativno heterofermentativne   | Obligatno homofermentativne  |
|---|--|--|
| <i>Lb. acidifarinae</i><br><i>Lb. plantarum</i><br><u><i>Lb. brevis</i></u><br><u><i>Lb. buchneri</i></u><br><u><i>Lb. fermentum</i></u><br><u><i>Lb. fructivorans</i></u><br><i>Lb. frumenti</i><br><i>Lb. hilgardii</i><br><i>Lb. panis</i><br><i>Lb. pontis</i><br><i>Lb. reuteri</i><br><i>Lb. rossiae</i><br><u><i>Lb. sanfranciscensis</i></u><br><i>Lb. siliginis</i><br><i>Lb. spicheri</i><br><i>Lb. zymae</i> | <i>Lb. amylovorus</i><br><i>Lb. pentosus</i><br><i>Lb. alimentarius</i><br><i>Lb. paralimentarius</i><br><u><i>Lb. casei</i></u> | <u><i>Lb. acidophilus</i></u><br><u><i>Lb. delbrueckii</i></u><br><u><i>subsp. delbrueckii</i></u><br><u><i>Lb. farciminis</i></u><br><i>Lb. mindensis</i><br><i>Lb. crispata</i><br><i>Lb. johnsonii</i><br><i>Lb. amylolyticus</i> |

*Lactobacillus brevis* je Gram pozitivna BMK koja ima oblik ravnih kratkih štapića i najčešće se koristi kao starter kultura u fermentaciji silaže, proizvodnji kiselih tijesta i fermentaciji piva, dok je *Lactobacillus fermentum* Gram pozitivna BMK koja ima oblik ravnih dugih štapića i najčešće se koristi za fermentaciju proizvoda biljnog i životinjskog podrijetla te kao starter kultura u proizvodnji kiselih tijesta, osobito onih bez glutena.



**Slika 2.** *Lactobacillus brevis*  
(Anonymous 2)



**Slika 3.** *Lactobacillus fermentum*  
(Anonymous 3, 2009)

Obje spadaju u skupinu obligatno heterofermentativnih *Lactobacilla*. Posebno su specijalizirane za razgradnju pentoza (riboza i ksiloza), pri čemu nastaje octena kiselina. Sadrže enzime glikolize, no nemaju enzime aldolaza i triozaofosfat izomeraza, stoga su izgradile heksoza - monofosfatni put (HMP) kojim razgrađuju glukozu pri čemu kao produkti nastaju mliječna kiselina, etanol i CO<sub>2</sub>. *L. brevis* proizvodi relativno malu količinu mliječne kiseline i etanola, ali veliku količinu octene kiseline i CO<sub>2</sub> (Klarić, 2017).

Spicher i Stephan (1993) su ispitali utjecaj temperature i prinosa tijesta na fermentaciju kiselih tijesta koja su pripremana sa različitim starter kulturama. Rezultati su pokazali da se smanjenjem čvrstoće kiselog tijesta sa *L. brevis* pomiče tvorba konačnog produkta u korist mliječne kiseline te se koeficijent fermentacije povećava od 1,7 - 2 (RT 150) na 2,7 - 2,8 (RT 210). Temperatura nema utjecaj na ravnomjerno stvaranje mliječne i octene kiseline, a porastom prinosa tijesta tvorba octene kiseline se znatno smanjuje u odnosu na mliječnu kiselinu. Kod kiselog tijesta s *L. fermentum*, prema udjelima produkata vrenja, pokazalo se da temperatura ima veći utjecaj na koeficijent fermentacije nego prinos tijesta. Povećanje prinosa tijesta minimalno utječe na koeficijent fermentacije oko 0,1 do 0,5 jedinica. Također je provedeno istraživanje gdje je ispitan utjecaj temperature kiselog tijesta na tvorbu acetata. Kod kiselih tijesta s dodatkom *L. brevis*, povećanjem temperature tijesta od 20 °C do 30 °C dolazi do povećanja tvorbe acetata, dok se pri temp. većim od 35 °C tvorba acetata smanjuje. Kod kiselih tijesta s *L. fermentum*, porastom temperature tijesta smanjuje se tvorba acetata.

Dosadašnja istraživanja su pokazala da proizvodi s dodatkom kiselog tijesta koje je fermentirano s *L. brevis*, imaju dobru elastičnost, poroznost sredine i izrazito ugodan okus i miris (Klarić, 2017).

#### 2.4.2.4. *Kruh proizveden s dodatkom kiselog tijesta*

Dodatak kiselog tijesta ima pozitivan utjecaj na tehnološka svojstva tijesta, odnosno kruha te na mikrobiološka i organoleptička svojstva kruha, a osim toga povećava njegovu nutritivnu i zdravstvenu vrijednost.

Topljivost glutena, odgovornog za reološka svojstva tijesta, povećava se dodatkom kiselog tijesta, odnosno snižavanjem pH vrijednosti. Posljedice promjene reologije tijesta su povećanje obradivosti tijesta, elastičnost te njegova stabilnost što utječe na povećanje volumena kruha i na poboljšanje njegove teksture. Zbog smanjene migracije vode iz sredine prema kori kruha, sredina postaje čvršća, elastičnija i manje mrvljiva, dok je kora dulje vrijeme hrskava (Mrvčić i sur., 2011). Osim toga, zakiseljavanjem tijesta, smanjuje se aktivnost enzima amilaza čime se povećava svježina sredine kruha (Lappi i sur., 2010). Povoljan utjecaj na tehnološka svojstva tijesta, tj. kruha, imaju bakterije mliječne kiseline u kiselom tijestu, koje proizvode razne vrste egzopolisaharida čije je djelovanje jednako djelovanju hidrokoloida. Oni poboljšavaju vezanje vode u tijestu, čime povoljno utječu na volumen, svježinu i trajnost kruha (Ketabi i sur., 2008).

Dodatak kiselog tijesta ima pozitivan utjecaj na mikrobiološka svojstva kruha. Bakterije mliječne kiseline u kiselom tijestu proizvode velik broj spojeva s antimikrobnim djelovanjem, kao što su organske kiseline, fenolni spojevi, dipeptidi te vodikov peroksid, a osim toga proizvode i bakteriocine koji pomažu u kontroli rasta patogenih bakterija i plijesni (Dalić i sur., 2010). Također, BMK u kiselom tijestu imaju antibakterijsko i antifungalno djelovanje, stoga se dodatkom kiselog tijesta sprječava kvarenje kruha, odnosno produljuje njegova trajnost.

Kruhovi s dodatkom kiselog tijesta imaju bolju aromu od kruhova bez njegovog dodatka. Zakiseljavanjem tijesta povećava se aktivnost proteaza, a time i koncentracija slobodnih aminokiselina koje su važni prekursori arome (Thiele i sur., 2004).

Kruh s kiselim tijestom ima povećanu nutritivnu i zdravstvenu vrijednost (Poutanen i sur., 2009). Zakiseljavanjem tijesta se mijenja aktivnost enzima prisutnih u brašnu (Mrvčić i sur., 2011) pa se tako aktivnost proteaza povećava, čime se smanjuje koncentracija cerealnih alergena u kruhu, a time i alergijske reakcije na žitarice (Gobbetti i sur., 2006). Osim toga, smanjenjem pH vrijednosti, povećava se aktivnost fitaza koje razgrađuju fitate na anorganski fosfor i mioinozitol fosfat (Gontia-Mishra i Tiwari, 2013). Pri pH vrijednosti između 4,6 i 4,3, koja se postiže dodatkom kiselog tijesta, moguće je razgraditi približno 96 - 97 % ukupnih fitata (Spicher i Stephan, 1993). Na taj način se povećava biološka dostupnost minerala, a time i nutritivna vrijednost kruha. Zakiseljavanjem tijesta se povećava količina bioaktivnih

komponenti u žitaricama kao što su lignani, fenoli, fitosteroli, tokoferoli, tokotrienoli te minerali smješteni u ovojnici zrna, što također utječe na povećanje nutritivne vrijednosti kruha. Kiselo tijesto može pridonijeti smanjenju glikemijskog indeksa kruha (Östman i sur., 2002). Neki sojevi BMK sintetiziraju riboflavin, niacin te aminokiseline i na taj način povećavaju nutritivnu i zdravstvenu vrijednost pekarskog proizvoda (Hugenholtz i sur., 2002).

#### 2.4.3. Moderni postupci proizvodnje kruha s odgodom pečenja

Razvojem pekarstva, broj prodajnih mjesta proizvoda se uglavnom povećao, dok se broj pekarskih pogona već dulje vrijeme smanjuje. Kako bi se potrošačima omogućila dostupnost svježeg proizvoda cijeloga dana, uvedena je tzv. tehnologija dopečenja. Moderni rashladni uređaji su omogućili produženu fermentaciju, konzerviranje tijesta i njegov transport iz proizvodnog pogona do prodajnog mjesta gdje se proizvod peče i zahvaljujući tome je uvijek svjež (Rosell i Gomez, 2007). U modernom pekarstvu se koriste razne metode kao što su odgođena fermentacija, prekinuta fermentacija, zamrzavanje nefermentiranog oblikovanog tijesta, zamrzavanje fermentiranog tijesta te proizvodnja polupečenog kruha (slika 4). Cilj ovih metoda je poboljšanje okusa i arome proizvoda, ujednačenost njegove kvalitete te smanjena energetska potrošnja i ušteda sirovina čime se postižu povoljniji ekonomski uvjeti.





**Slika 4.** Postupci proizvodnje kruha (prema Rosell i Gomez, 2007)

#### 2.4.3.1. Proces proizvodnje polupečenog kruha

U novije vrijeme, proizvodnja polupečenih proizvoda je sve više u trendu jer takvi proizvodi imaju niz prednosti u odnosu na druge oblike. Iz tog razloga se smatra da će ovakav način proizvodnje kruha u budućnosti imati najveći prodajni trend. Proizvodnja se bazira na pečenju u dvije faze, nakon čega se proizvod dostavlja na prodajno mjesto u nezamrznutom ili zamrznutom obliku i peče pred očima kupaca. Sama priprema tijesta i vođenje procesa

fermentacije provode se na jednak način kao i kod konvencionalnog procesa nakon čega slijede tri proizvodna koraka karakteristične za tehnologiju dopečenja: 1. faza pečenja, skladištenje i 2. faza pečenja. 1. faza pečenja čini približno 75 % ukupnog pečenja (Ćurić i sur., 2014). Pečenje traje 12 - 14 min. do postizanja temp. 98 °C u jezgri sredine. Nakon toga se polupečeni kruh hladi na najmanje 50 °C i pakira u plastične vrećice. S obzirom na to da polupečeni kruh ima velik udio vode i nema koru, njegov rok trajanja je kratak. Da bi se usporili procesi kemijskog i mikrobiološkog kvarenja on se najčešće zamrzava na -18 °C i čuva do 4 tjedna. Barcenas i Rosell (2006) su dokazale da tijekom čuvanja polupečenog smrznutog kruha ne dolazi do primjetne retrogradacije škroba, što je povezano sa starenjem, odnosno povećanjem tvrdoće sredine kruha. Nakon skladištenja slijedi 2. faza pečenja. Smrznuti kruh se kratko odmrzava i peče približno 12 min. dok se ne postigne temp. 98 °C u jezgri sredine i hrskava struktura kore. Nakon 2. faze pečenja kruh ima senzorska svojstva jednaka direktno pečenom kruhu.

Jedna od prednosti ovako proizvedenog kruha je njegova svježina. S obzirom na to da prva faza pečenja traje vrlo kratko, želatinizacija škroba nije u potpunosti završena, također zbog niže temperature i kraćeg vremena pečenja u 2. fazi, ne dolazi do formiranja boje i strukture kore i izmjena kore i vlage iz sredine polupečenog kruha je minimalna. Konačni proizvod ima ugodnu aromu svježeg pečenog kruha. Osim toga, polupečeni proizvodi imaju i druge prednosti. Jedna od njih je izrazito kratko vrijeme pripreme, nakon najviše 15 min. su spremni za prodaju. Zahvaljujući tome, u slučaju nedostatka proizvoda, polupečeni proizvodi se mogu vrlo brzo i lako dopeći. Također u pripremi tijesta se može koristiti pšenično predtijesto ili pšenično kiselo tijesto radi boljeg okusa i mirisa te ostvariti optimalna fermentacija. Nadalje, kod kratkog skladištenja (1 - 2 dana) proizvodi se ne trebaju zamrzavati nego ih je dovoljno zamotati u nepropusnu foliju i čuvati na temperaturi hladnjaka.

Najčešći problem kruha proizvedenog tehnologijom dopečenja je ljuštenje kore koje može nastati zbog predugog trajanja prve faze pečenja i presuhe atmosfere u peći, previsoke temperature pečenja ili nepravilnog pakiranja proizvoda koji idu na skladištenje (Klarić, 2017). Osim toga, volumen proizvoda je manji, a tekstura sredine kruha tvrđa. Jedan od načina kako se to može prevenirati je dodatak kiselog tijesta u zamjes. Ono proizvodu daje veći volumen i čvršću i elastičniju sredinu kruha (Mrvčić i sur., 2011).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJALI

Za pečenja kruha korišteno je: bijelo pšenično brašno T-500 (Mlin Katić d.o.o., Slovenija), rogačevo brašno (sušena samljevena cijela mahuna, zajedno sa sjemenkom) (OPG Božanić, Hrvatska), svježi pekarski kvasac di-go (Kvasac d.o.o., Hrvatska), vodovodna voda temperature 30 °C, konzumni šećer (Viro d.d., Hrvatska) te kuhinjska sol (Paška solana, Hrvatska). Pšenično brašno sadržavalo je minimalno 12,5 % proteina i 33 % vlažnog glutena, a njegova reološka svojstva na farinografu su prikazana u tablici 4. Broj padanja brašna bio je 460 s.

Pšenično kiselo tijesto (predtijesto tipa 'Polish' ili 'Pate Fermetee') je dobiveno od tvrtke Tim zip d.o.o. (Zagreb, Hrvatska), a bilo je proizvedeno spontanom fermentacijom suspenzije bijelog pšeničnog brašna u vodi (1:1) u anaerobnim uvjetima. Za pripremu laboratorijskih kiselih tijesta korišteno je: rogačevo brašno (OPG Božanić, Hrvatska), heljdino integralno brašno (Naše Klasje d.o.o., Hrvatska) koje je sadržavalo 12,5 % proteina, 1,8 % pepela, 5,7 % prehrambenih vlakana i 12,4 % vlage (Voučko, 2018), liofilizirane starter kulture bakterija mliječne kiseline *Lactobacillus brevis* DSM 20054 (DSM, Njemačka) i *Lactobacillus fermentum* DSM 20052, suhi pekarski kvasac di-go (Kvasac d.o.o., Hrvatska) te vodovodna voda.

**Tablica 4.** Reološka svojstva bijelog pšeničnog brašna T-500 na farinografu (prema ICC 115/1, 1992)

|                               |      |
|-------------------------------|------|
| <b>Upijanje vode (%)</b>      | 62,4 |
| <b>Razvoj tijesta (min.)</b>  | 5,2  |
| <b>Stabilnost (min.)</b>      | 8,8  |
| <b>Rezistencija (min.)</b>    | 14,0 |
| <b>Stupanj omekšanja (FJ)</b> | 49   |
| <b>Kvalitetni broj (mm)</b>   | 105  |

### 3.1.1. Uzorci

U ovom radu analizirano je pšenično bijelo brašno T-500 (Mlin Katić d.o.o., Slovenija), rogačevo brašno (sušena samljevena cijela mahuna sa sjemenkom) (OPG Božanić, Hrvatska), pripremljena kisela tijesta te uzorci kruha pripremljeni pomoću različitih receptura. Recepture su se razlikovale u odnosu na brašno u zamjesu, dodatak kiselog tijesta te njegov sastav. Priprema svakog uzorka kruha provedena je u dva ponavljanja. U tablici 5 je prikazan opis analiziranih uzoraka kruha.

**Tablica 5.** Opis analiziranih uzoraka

| Sastav kiselog tijesta   | Oznaka kiselog tijesta | Vrsta brašna u zamjesu                         | Oznaka kruha |
|--|------------------------|--|--------------|
| /  | /                      | Pšenično bijelo brašno T-500                   | Kontrolni    |
| /  | /                      | Pšenično bijelo brašno T-500 + rogačevo brašno | Kontrolni+R  |
| Pšenično brašno T-550 (kiselo tijesto proizvedeno u tvrtki Tim zip d.o.o.)     | PKTS                   | Pšenično bijelo brašno T-500                   | PKT          |
| Rogačevo brašno + heljdino brašno + <i>L. brevis</i> + <i>S. cerevisiae</i>    | K.T.RH-LB              | Pšenično bijelo brašno T-500                   | RH-LB        |
| Rogačevo brašno + heljdino brašno + <i>L. fermentum</i> + <i>S. cerevisiae</i> | K.T.RH-LF              | Pšenično bijelo brašno T-500                   | RH-LF        |
| Rogačevo brašno + <i>L. brevis</i> + <i>S. cerevisiae</i>                      | K.T.R-LB               | Pšenično bijelo brašno T-500                   | R-LB         |
| Rogačevo brašno + <i>L. fermentum</i> + <i>S. cerevisiae</i>                   | K.T.R-LF               | Pšenično bijelo brašno T-500                   | R-LF         |

### 3.1.2. Reagensi

- 0,1 mol L<sup>-1</sup> otopina natrijeva tiosulfata (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (Gram-Mol, Hrvatska)
- 0,1 mol L<sup>-1</sup> klorovodična kiselina (HCl) (Carlo Erba, Francuska)
- 0,1 mol L<sup>-1</sup> otopina natrijevog hidroksida (NaOH) (Lachner, Češka)
- 1 % -tna otopina fenolftaleina u etanolu (Gram-Mol, Hrvatska)
- 1 % -tna otopina oksitetraciklina (Sigma-Aldrich, SAD)
- 1 mol L<sup>-1</sup> otopina natrijevog hidroksida (NaOH) (Lachner, Češka)
- 10 % -tni Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Gram-Mol, Hrvatska)
- 2 % -tna otopina škroba (Merck, Njemačka)
- 30 % -tna otopina kalij jodida (Carlo Erba, Francuska)
- 40 % -tna otopina natrijevog hidroksida (NaOH) (Lachner, Češka)
- 50 % -tni metanol (J.T.Baker, Nizozemska)
- 50 mg L<sup>-1</sup> vodena otopina Na<sub>2</sub>Ca-EDTA (Gram-Mol, Hrvatska)
- 6 mol L<sup>-1</sup> otopina sumporne kiseline (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Carlo Erba, Francuska)
- 96 % -tna koncentrirana sumporna kiselina (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Carlo Erba, Francuska)
- Aceton (Gram-Mol, Hrvatska)
- Borna kiselina (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) (Poch, Poljska)
- Celite (Sigma-Aldrich, SAD)
- Cikloheksimid solution 18079-10ML-F (Sigma-Aldrich, SAD)
- Destilirana voda
- Etanol 95 %, 96 % i 78 % -tni (Kefo, Slovenija)
- Folin-Ciocalteu reagens (Sigma-Aldrich, Švicarska)
- Kjeldahl katalizator (9 % -tni CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) (Merck, Njemačka)
- Klorovodična kiselina (HCl) (Carlo Erba, Francuska)
- MES / TRIS pufer (Acros organics, Belgija)
- Na-maleatni pufer (Sigma-Aldrich, Švicarska)
- Obojeni indikator metil crveno i bromkrezol zeleno
- Otopina Carezz I (otopina kalijeva heksacijanoferata-3-hidrata, 0,085 mol/L) (Fluka, Njemačka)
- Otopina Carezz II (otopina cinkova sulfata-7-hidrata, 0,25 mol/L) (Kemika, Hrvatska)

- Otopina kompleksa bakra po Luff-Schoorlu (Luffov reagens) (Merck Alkaloid, Makedonija)
- Petroleter (Carlo Erba, Francuska)
- Set za određivanje prehrambenih vlakana K-INTDF (Megazyme, Irska)
- Smola Amberlite 200Cna i FPA53 (Rohm and Haas, SAD)
- Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8 tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) (Sigma-Aldrich, Rusija)

Za pripremu inokuluma korišten je hranjivi bujon MRS (Biolife, Italija).

FRAP reagens sadržavao je 2,5 mL 20 mmol L<sup>-1</sup> FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O, 2,5 mL 10 mM TPTZ te 25 mL 300 mmol L<sup>-1</sup> acetatnog pufera pripremljenih na sljedeći način:

#### Priprema 20 mmol L<sup>-1</sup> FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O

U tikvicu od 10 mL odvagano je 0,0541 g FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprema 40 mmol L<sup>-1</sup> HCl

U tikvicu od 100 mL je otpipetirano 0,3433 mL 11,65 mol L<sup>-1</sup> konc. klorovodične kiseline i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprema 10 mmol L<sup>-1</sup> TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazin)

U tikvicu od 10 mL odvagano je 0,0312 g TPTZ i nadopunjeno prethodno pripremljenom 40 mmol L<sup>-1</sup> HCl do oznake.

#### Priprema 300 mmol L<sup>-1</sup> acetatni pufer, pH 3,6

U tikvicu od 500 mL je odvagano 0,93 bezvodnog C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub> i ledene octene kiseline te je tikvica nadopunjena do oznake.

### 3.1.3. Aparatura i pribor

- Analitička vaga 0,01g plb 200-2 (Kern, Njemačka)
- Aparat za određivanje broja padanja (Perten, Švedska)
- Aparatura po Soxhletu SK6 SS (INKO d.o.o., Hrvatska)

- Autoklav, 1-62-161 (Sutjeska, Srbija)
- Azbestna mrežica i tronožac
- Birete za titraciju od 25 mL
- Boca sisaljka
- Boce sa čepom od 400 i 600 mL
- Brabenderov farinograf (Brabender, Njemačka)
- Büchnerov lijevak
- Bunsenov plamenik
- Centrifuga, Rotina 35 (Rotina, Njemačka)
- Djelilica tijesta
- Duran boce s čepom od 250 mL
- Eksikator sa silikagelom
- Električni sušionik (130 °C), Thermo Scientific, HERATHERM OGS60 (Waltham, SAD)
- Električno kuhalo (Corona, Hrvatska)
- Eppendorf epruvete
- Erlenmeyerove tikvice od 250 i 300 mL
- Falcon epruvete
- Filter papir Watman br.1
- Graduirana menzura volumena 100 mL
- Izvor vakuuma
- Kivete za centrifugiranje
- Kivete za spektrofotometar
- Kjeldahl - ove kivete za mineralizaciju sa stalkom (Foss, Danska)
- Kjeltec TM8100, TecatorTM Line (Foss, Danska)
- Kolona za deionizaciju s kationskim i anionskim smolama spe-12G (J.T. Baker, SAD)
- Kolona za HPLC METACARB 67H (Agilent Technologies, SAD)
- Kolorimetar CM-3500d (Konica Minolta, UK)
- Laboratorijska miješalica (Diosna SP12, Njemačka)
- Laboratorijske čaše 10, 25, 50, 400 i 600 mL
- Lijevak
- Limovi za pečenje

- Lončići sa celitom (Schott, Duran, Danska)
- Magneti
- Magnetska miješalica, Jk Werke (IKA, SAD)
- Menzura od 100 i 1000 mL
- Mikropipete od 150, 200 i 500  $\mu$ L
- Mufolna peć za spaljivanje
- Odmjerne tikvice od 100, 250 i 1000 mL
- Papir za pečenje
- Papirnata čahura
- Pećnica sa fermentacijskom komorom, Typ EB 064-320 IS 600 (Wiesheu, Njemačka)
- Petri ploče
- pH - elektroda sa zapisivačem podataka (Omega, Stamford, Connecticut, SAD)
- pH metar, 3510 (Jenway, UK)
- Pipete od 10, 20 i 25 mL
- Plastična lopatica
- Plastične posude za spremanje kiselog tijesta, 200 mL
- Plastične posudice za mrvice kruha
- Posudice za vaganje od nehrđajućeg čelika
- Povratno hladilo
- Rezalica (Gorenje, Slovenija)
- Rotavapor (Heidolph, Schwabach, Njemačka)
- Ručni mikser (Tefal, Francuska)
- Sito
- Skener Lide 220 (Canon, Hrvatska)
- Spektrofotometar (Pye Unicam, UK)
- Staklene bočice od 500 mL
- Staklene posude za kiseljenje tijesta od 1000 mL
- Stakleni štapić
- Sterilne epruvete
- Sterilne pipete od 1 mL
- Špatula



- Teksturometar (TA.HD plus Texture Analyser, Stable Micro Systems, UK)
- Tekućinski kromatograf visoke učinkovitosti (HPLC) (Shimadzu LC 10AD vp, SAD)
- Termometar s podjelom do 50 °C
- Uređaj Malvern Instruments Limited (Malvern, Worcestershire, UK)
- Uređaj za brzo smrzavanje (Everlasting, Australia)
- Uređaj za spaljivanje Digestion System 6,1007 digester, Tecator (Foss, Danska)
- Vaga s utezima, osjetljivosti +/- 0,1
- Vodena kupelj (Stuart, UK)
- Zamrzivač (Zanussi, Italija)

## 3.2. METODE RADA

### 3.2.1. Određivanje raspodjele veličine čestica

Raspodjela veličine čestica rogačevog brašna mjerena je na uređaju Malvern Instruments Limited (Malvern, Worcestershire, UK) koji ima jedinicu za suhu disperziju Scirocco 2000 i povezan je s računalom. Brašno rogača je usipano u kadicu jedinice za suhu disperziju koja je opremljena sitom za razbijanje aglomerata i ujednačavanje dotoka uzorka u mjernu ćeliju. Podešeno je zasićenje laserske zrake, a brzina snabdijevanja ćelije uzorkom i tlak zraka su prilagođavani tijekom mjerenja kako bi se održala konstantnost zasićenja laserske zrake (Benković, 2013). Provedena su 3 mjerenja za uzorak, a rezultati su obrađeni u Mastersizer 2000 Ver. 5.60 software - u i izraženi su kao percentili raspodjele veličine čestica brašna rogača, pri čemu  $d(0,1)$  predstavlja veličinu čestice od koje je manje 10 % čestica cijelog uzorka ( $\mu\text{m}$ ),  $d(0,5)$  predstavlja promjer čestica od kojega je 50 % ukupnog broja čestica veće i manje ( $\mu\text{m}$ ), a  $d(0,9)$  predstavlja veličinu čestica od koje je manje 90 % čestica cijelog uzorka ( $\mu\text{m}$ ).

### 3.2.2. Priprema inokuluma

Za kiseljenje tijesta korištene su starter kulture *Lactobacillus brevis* i *Lactobacillus fermentum* uzgojene u MRS bujonu s Tween-om 80, pripremljenom prema uputi proizvođača i steriliziranom u autoklavu (15 minuta / 121 °C).

Postupak je proveden u sterilnim uvjetima (dezinfekcija etanolom, plamenik, sterilno posuđe). Liofilizirana kultura *Lactobacillus brevis* rehidrirana je s 1 mL MRS bujona 30 min. i zatim

prenesena u epruvetu s 10 mL MRS bujona. Epruveta s naciyepljenom čistom kulturom je inkubirana u termostatu 24 h na 30 °C. Postupak je bio isti za *Lactobacillus fermentum*, ali je inkubacija provedena 48 h na 37 °C. Nakon prve faze inkubacije, 1 mL MRS bujona s poraslom kulturom u sterilnim uvjetima prenesen je u pet epruveta s po 10 mL novog MRS bujona, nakon čega je slijedila inkubacija u termostatu 24 h na 30 °C za *Lactobacillus brevis*, odnosno 48 h na 37 °C za *Lactobacillus fermentum*. Nakon druge faze inkubacije kultura iz 5 naciyepljenih epruveta prenesena je u 200 mL novog MRS bujona, nakon čega je ponovno provedena inkubacija 48 h (*Lactobacillus brevis*), odnosno 96 h (*Lactobacillus fermentum*). 50 mL bujona s biomasom je raspoređeno u kivete za centrifugu i centrifugirano dvaput (4000 o / min., 10 min.), nakon čega je svaka kiveta dvaput isprana s 50 mL sterilne vode. Nakon ispiranja, cijela količina dobivene biomase (iz 200 mL bujona) je resuspendirana u 100 mL sterilne vode. Sadržaj je čuvan u staklenoj bočici u hladnjaku do kiseljenja tijesta.

### 3.2.3. Određivanje broja živih stanica mikroorganizama

Postupak je proveden u aseptičkim uvjetima (dezinfekcija etanolom, plamenik, sterilno posuđe).

Pripremljeno je 7 epruveta sa 9 mL sterilne vode. 1 mL uzorka je prenesen u 1. epruvetu i dobro homogeniziran. Zatim je 1 mL sadržaja prve epruvete prebačen u drugu epruvetu i homogeniziran te je postupak ponavljan sve dok nije postignuto željeno razrjeđenje ( $10^8$ ). Na sterilne Petri ploče su stavljena željena razrjeđenja ( $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ) u paralelama, nakon čega je dodan jedan sloj hranjive podloge MRS temp. < 50 °C i izmiješan laganom rotacijom ploče po ravnoj površini u obliku broja 8. Kako bi se postigli anaerobni uvjeti, na ohlađeni prvi sloj dodan je drugi sloj hranjive podloge i izmiješan na isti način. Nakon što se ohladio drugi sloj, provedena je inkubacija u termostatu 48 - 72 h na 30 °C (*L. brevis*), odnosno na 37 °C (*L. fermentum*). Nakon inkubacije su izbrojane porasle kolonije na Petri pločama (slika 5). Broj živih stanica izražen je u CFU (Colony Forming Unit).

$$CFU = \left( \frac{BROJ\ PORASLIH\ KOLONIJA}{UPOTRIJEBLJENI\ VOLUMEN\ UZORKA} \right) \times RECIPRIČNA\ VRIJEDNOST\ RAZRJEĐENJA \quad [1]$$

(Duraković i Duraković, 1997)



**Slika 5.** Brojanje živih stanica na Petri ploči (Vlastita fotografija)

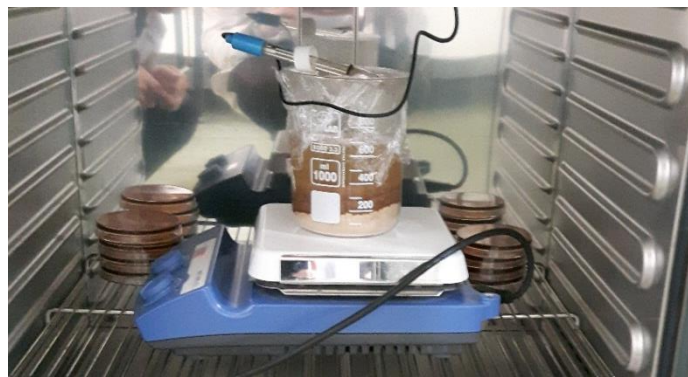
#### 3.2.4. Priprema kiselog tijesta

Pripremljeno je 4 vrste kiselih tijesta, koja su se razlikovala prema vrsti brašna i starter kulturi. Postupak je bio isti za sva četiri kiselina tijesta. U staklenoj posudi od 1000 mL izmiješano je 150 g brašna s 450 g vode (umanjeno za količinu vode sadržanu u inokulumu), prethodno pripremljenog inokuluma (približno  $10^6$  CFU  $g^{-1}$ ) i 0,2 mL suhog kvasca prethodno rehidratiranog u vodi temperature 30 °C (1 g kvasca u 100 mL vode) (slika 6). Posuda sa smjesom je prekrivena prozirnom folijom i stavljena na fermentaciju u komoru 24 h na 30 °C uz konstantno miješanje na magnetskoj miješalici (slika 7).

Za pripremu dva kiselina tijesta korišteno je rogačevo brašno (150 g) i u jedno je dodana kultura *Lactobacillus brevis*, a u drugo *Lactobacillus fermentum*. Za pripremu druga dva kiselina tijesta korišteno je također rogačevo brašno (75 g), ali u kombinaciji s heljdinim brašnom (75 g) i u jedno je dodana kultura *Lactobacillus brevis*, a u drugo *Lactobacillus fermentum*. Za kiseljenje svih tijesta dodan je i kvasac *Saccharomyces cerevisiae*.



**Slika 6.** Kiselo tijesto od rogačevog brašna s dodatkom starter kulture *L. brevis* (Vlastita fotografija)



**Slika 7.** Fermentacija kiselog tijesta u komori (Vlastita fotografija)

### 3.2.5. Određivanje ukupne kiselosti

Ukupna kiselost kiselog tijesta određena je titracijski, u paralelama. U plastičnu posudicu s 10 g kiselog tijesta dodano je 90 mL destilirane vode i posudica je stavljena na magnetsku miješalicu 10 min. Nakon toga je provedena titracija s NaOH (0,1 M), uz konstantno miješanje na magnetskoj miješalici sve dok nije postignut pH 8,5. Ukupna kiselost je izražena kao volumen NaOH potrebnog za postizanje pH 8,5 (Katina i sur., 2006).

### 3.2.6. Određivanje reoloških svojstva i apsorpcije vode

Reološka svojstva pšeničnog i rogačevog brašna te krušnih tijesta različitog sastava određena su na farinografu prema standardnoj metodi (AACC 54-22.01, 2000). Mjerena je konzistencija tijesta, vrijeme razvoja tijesta i omekšanje.

Određivanje reoloških svojstva pšeničnog tijesta provedeno je na 300 g pšeničnog brašna, dok je kod dodatka rogačevog brašna (25,5 g) ili kiselog tijesta (60 g pšeničnog ili 98 g rogačevog) količina pšeničnog brašna umanjena. Bireta je napunjena vodom prethodno zagrijanom na 30 °C i u prednji desni ugao mijesilice je pušteno 63,5 % vode u ujednačenom mlazu. Miješanje je trajalo ukupno 15 min. od trenutka dodavanja vode u mijesilicu. Iz dobivene krivulje očitani su sljedeći parametri: maksimalna konzistencija (FJ), vrijeme maksimalne konzistencije (s), naknadno otvrdnjavanje (FJ), vrijeme naknadnog otvrdnjavanja (s) te omekšanje nakon 12 i nakon 15 min. (FJ). Dobiveni farinogrami su prikazani u prilogu 1.

### 3.2.7. Izrada kruha postupkom dopečenja

Pripremljeno je 7 krušnih tijesta različitog sastava, od kojih 2 nisu sadržavala kiselo tijesto. Postupak pripreme krušnog tijesta, kao i izrade kruha, bio je jednak za sve uzorke, razlika je bila jedino u recepturi (tablica 6). Kontrolni kruh je pripremljen od pšeničnog bijelog brašna prema standardnoj metodi (ICC 131, 1980), a kisel kruh (5 uzoraka) sa pšeničnim bijelim brašnom i 20 % kiselog tijesta različitog sastava. Kontrolnom kruhu s rogačem je umjesto 20 % kiselog tijesta dodana ista ta količina rogačevog brašna.

Sastojci su prema recepturi izmiješani u laboratorijskoj miješalici (2 minute sporo, 7 minuta brzo). Nakon miješanja, tijesto je odmaralo 30 minuta. Zatim je ručno premiješano, podijeljeno na jednolike komade mase ~70 g, izvagano i okruglo oblikovano. Tijesto je stavljeno na fermentaciju u fermentacijsku komoru na 30 °C / 80 % RH, 60 min. Nakon fermentacije provedeno je pečenje u pećnici prethodno predgrijanoj na 250 °C, pri temperaturi od 180 °C, 12 min. uz naparavanje (200 mL vode). Kruh se hladio 60 min. na sobnoj temperaturi, nakon čega je izvagan i stavljen u uređaj za brzo smrzavanje. Kada je postignuta željena temperatura (-18 °C), kruh je pakiran u vrećice i stavljen u zamrzivač na mjesec dana.

Nakon mjesec dana skladištenja, proveden je postupak dopečenja kruha. Prije pečenja kruha, kruh se odmrzavao približno 20 min. Nakon toga je stavljen u pećnicu (predgrijanje: 240 °C gornji, 210 °C donji, temperatura pečenja: 220 °C gornji, 210 °C donji), 11 min. Dopečeni kruh je hlađen 60 min. na sobnoj temperaturi, nakon čega je izvagan i analiziran.

**Tablica 6.** Recepture tijesta za izradu kruha (masa, g)

| Sirovina                               | Kontrolni | Kontrolni+R | PKT  | RH-LB | RH-LF | R-LB | R-LF |
|--|-----------|-------------|------|-------|-------|------|------|
| Brašno T-500<br>(100 %)                | 1600      | 1025        | 1329 | 1025  | 1025  | 1025 | 1025 |
| Kvasac<br>(2,5 %)                      | 40        | 28          | 40   | 28    | 28    | 28   | 28   |
| Sol (1,5 %)                            | 24        | 16,8        | 24   | 16,8  | 16,8  | 16,8 | 16,8 |
| Šećer (1,86 %)                         | 29,8      | 20,8        | 29,8 | 20,8  | 20,8  | 20,8 | 20,8 |
| Vodovodna<br>voda (63,5 %)             | 1016      | 710         | 745  | 426   | 426   | 426  | 426  |
| Kiselo tijesto<br>(20 % na<br>tijesto) | 0         | 0           | 542  | 379   | 379   | 379  | 379  |
| Rogačevo<br>brašno (9 %)               | 0         | 94,75       | 0    | 0     | 0     | 0    | 0    |
| Σ                                      | 2710      | 1895        | 2710 | 1896  | 1896  | 1896 | 1896 |

Na temelju recepture, za svaki je uzorak izračunat prinos tijesta prema sljedećoj formuli:

$$Pt = \frac{\text{ukupna masa sirovina}}{\text{masa brašna}} \times 100 \quad [2]$$

Prinos tijesta je za sve recepture bio isti i iznosio je 169,3 %.

### 3.2.8. Određivanje fizikalnih svojstva kruha

Nakon što je kruh dopečen, ohlađen i izvagan određena su mu fizikalna svojstva: volumen, boja sredine, tekstura i mrvljivost te su izračunati: prinos kruha, prinos volumena, gubitak mase pečenjem te specifični volumen.

### 3.2.8.1. *Određivanje volumena i specifičnog volumena*

Volumen je za svaki uzorak mjeren u 5 paralela prema standardnoj metodi (AACC 10-05.01, 2000) pomoću uljane repice. Specifični volumen je izračunat kao omjer volumena i mase.

### 3.2.8.2. *Određivanje boje sredine na kolorimetru*

Boja sredine kruha određena je pomoću kolorimetra (Spectrophotometer CH-3500 D, Konica Minolta, UK) (slika 8), s pločom promjera 8 mm. Na otvor su istovremeno stavljene dvije kriške kruha jedna na drugu, računalnim programom je pokrenuto snimanje, uzorak je osvijetljen i refleksija je očitavana na računalu. Nakon toga su iste dvije kriške kruha okrenute na drugu stranu i postupak je ponovljen. Mjerenje je za sve uzorke ponovljeno najmanje 12 puta.

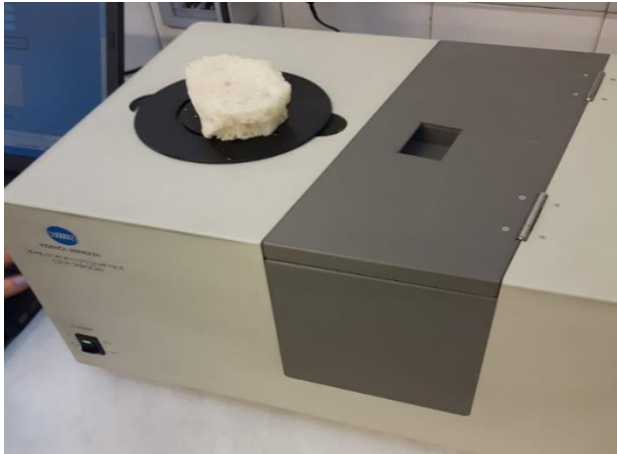
Uobičajeno se za određivanje boje hrane mjere parametri:  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  i  $h^*$ , ili CIELab, koji kod određivanja boje predstavlja međunarodni standard za prostor boja utemeljen od strane CIE (Commission Internationale de l'Eclairage's). U ovom radu su određeni parametri  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  te  $\Delta E$  pri čemu parametar  $L^*$  označava aproksimativnu mjeru svjetlosti, odnosno svojstvo prema kojemu se svaka boja može klasificirati na skali između crne (0) i bijele (100). Parametar  $a^*$  daje vrijednosti za crvene i zelene tonove, pri čemu crveni tonovi daju pozitivne, a zeleni negativne vrijednosti dok parametar  $b^*$  daje vrijednosti za žute i plave tonove, pri čemu su žuti tonovi pozitivne vrijednosti, a plavi tonovi negativne vrijednosti (Granato i Masson, 2010).  $\Delta E$  označava ukupnu razliku u boji, odnosno služi za usporedbu boje mjenog uzorka s bojom standarda (Pathare i sur., 2013), pri čemu  $\Delta E > 3$  ukazuje na izrazito vidljivu razliku u boji,  $1,5 < \Delta E < 3$  na vidljivu razliku u boji, a  $1,5 < \Delta E$  na malu razliku u boji (Adekunte i sur., 2010). Izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$\Delta E^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2} + L^{*2}} \quad [3]$$

### 3.2.8.3. *Određivanje teksture sredine kruha*

Tekstura sredine kruha je određena na teksturometru TA.HD plus Texture Analyser (Stable Micro Systems, UK) (slika 9), sa sondom promjera 25 mm. Brzina kompresije je bila  $1,7 \text{ mm s}^{-1}$ , a kompresija je iznosila 40 % visine uzorka (AACC 74-09, 2000). Ohlađeni kruh je uz pomoć rezalice narezan na kriške debljine 12,5 mm i odstranjena mu je korica. Na

teksturometar su istovremeno stavljene dvije kriške kruha, jedna na drugu, kako bi debljina sredine bila 25 mm. Za svaki uzorak je provedeno barem 6 mjerenja.



**Slika 8.** Kolorimetar CM-3500d (Konica Minolta, UK) (Vlastita fotografija)



**Slika 9.** Teksturometar TA.HD plus Texture Analyser (Stable Micro Systems, UK) sa sondom promjera 25 mm (Vlastita fotografija)

#### 3.2.8.4. Određivanje mrvljivosti kruha

Nakon dopečenja i hlađenja, 5 komada kruha od svakog uzorka narezano je pomoću rezalice. Mrvice kruha su skupljene u plastične posudice i izvagane. Postotak mrvljenja izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$\% \text{ mrvljivosti} = \frac{\text{masa mrvica (g)}}{\text{masa kruha (g)}} \times 100 \quad [4]$$

Slike mrvica uzoraka kruha prikazane su u prilogu 2.

#### 3.2.8.5. Prinos kruha, prinos volumena i gubitak pečenjem

Prinos kruha, prinos volumena i gubitak pečenjem izračunati su prema navedenim formulama:

Prinos kruha:

$$Pk = \frac{\text{masa kruha} \times Pt}{\text{masa tjestanog komada}} \times 100 \quad [5]$$



Prinos volumena:

$$Vk = \frac{\text{volumen kruha} \times Pt}{\text{masa tjestanog komada}} \times 100 \quad [6]$$

Gubitak pečenjem:

$$Gp = \frac{\text{masa tjestanog komada} - \text{masa kruha}}{\text{masa tjestanog komada}} \times 100 \quad [7]$$

### 3.2.9. Određivanje kemijskog sastava sirovina i kruha

U ovom radu je određen kemijski sastav rogačevog brašna (udio vode, masti, šećera, prehrambenih vlakana, proteina, pepela i ukupnih fenolnih spojeva te antioksidacijska aktivnost), a svim uzorcima kruha s dodatkom kiselog tijesta (pšeničnog i rogačevog) te samom rogačevom kiselom tijestu (bez dodatka heljdinog brašna) je određen udio ukupnih fenolnih spojeva i antioksidacijska aktivnost. Svim liofiliziranim uzorcima je određen udio vode, a jednom uzorku kruha s dodatkom rogačevog kiselog tijesta (bez heljdinog brašna) je određen udio prehrambenih vlakana kako bi se mogao deklarirati.

#### 3.2.9.1. Određivanje udjela vode

Udio vode određen je prema standardnoj metodi (HRN EN ISO 712, 2010).

U prethodno osušenu, ohlađenu i izvaganu posudicu izvagano je ~ 3 g uzorka i posudica je stavljena u sušionik, prethodno zagrijan na 130 °C, na sušenje do konstantne mase. Uzorak je zatim ohlađen u eksikatoru i izvagan. Iz razlike u masi prije i nakon sušenja, izračunat je udio vode, odnosno udio suhe tvari u uzorku prema sljedećim formulama:

$$\text{udio vode (\%)} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100 \quad [8]$$

$$\text{udio suhe tvari (\%)} = 100 - \text{udio vode} \quad [9]$$

gdje je:

$m_1$  - masa prazne posudice (g)

$m_2$  - masa posudice s uzorkom prije sušenja (g)

$m_3$  - masa posudice s uzorkom nakon sušenja (g)

### 3.2.9.2. *Određivanje udjela masti*

Udio masti određen je standardnom metodom po Soxhletu bez hidrolize (AACC 30-25.01, 2000). U čahuru je odvagano ~ 10 g uzorka. Čahura prekrivena vatom je stavljena u srednji dio Soxhletove aparature (ekstraktor) i uzorak je ekstrahiran petroleterom. Ekstrakcija je trajala 6 h. Nakon toga je petroleter otparen, a tikvica s ekstraktom je stavljena na sušenje na 100 °C približno 1 h, zatim je ohlađena u eksikatoru i izvagana. Provedena su dva paralelna mjerenja.

Udio masti u uzorku izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$\text{udio masti (\%)} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_0} \times 100 \quad [10]$$

gdje je:

$m_0$  - masa uzorka (g)

$m_1$  - masa tikvice s ekstraktom i staklenim kuglicama za vrenje (g)

$m_2$  - masa prazne tikvice sa staklenim kuglicama za vrenje (g)

### 3.2.9.3. *Određivanje udjela šećera*

Udio šećera u rogačevom brašnu određen je volumetrijski prema standardnoj metodi po Luff-Schoorl-u (Pravilnik, 2009). Određivani su prirodni i ukupni reducirani šećeri.

#### 3.2.9.3.1. *Priprema filtrata*

U odmjernu tikvicu od 250 mL je odvagano 10 g uzorka, dodano je 200 mL destilirane vode i 5 mL otopina Carezz I i Carezz II. Tikvica je destiliranom vodom dopunjena do oznake i sadržaj je filtriran preko naboranog filter papira u Erlenmeyerovu tikvicu od 250 mL. Dobiveni filtrat služio je za određivanje prirodnih i ukupnih reduciranih šećera.

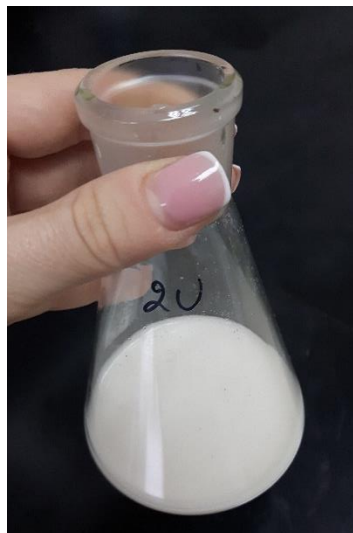
#### 3.2.9.3.2. *Određivanje prirodnih reduciranih šećera (prije hidrolize)*

25 mL filtrata je otpipetirano u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake. U konusnu tikvicu od 300 mL je otpipetirano 25 mL razrijeđenog filtrata te 25 mL Luffove otopine i stavljena je na zagrijavanje izravno na plamenik (sadržaj u tikvici je bio plave boje, slika 10). Tikvica spojena s povratnim hladilom zagrijavana je na azbestnoj mrežici sve do vrenja. Od trenutka ključanja, sadržaj u tikvici se kuhao točno 10 min, nakon čega je ohlađen

mlazom vode. Nakon 5 min., dodano je 10 mL otopine KI, 1 mL škroba te postupno, zbog mogućnosti stvaranja pjene, 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (6 mol L<sup>-1</sup>). Sadržaj tikvice žuto - smeđe boje titriran je s 0,1 M otopinom natrijeva tiosulfata uz neprekidno miješanje, do pojave bijelo sivkaste boje (slika 11) što je označilo kraj titracije. Provedena su dva paralelna mjerenja, te dva mjerenja za slijepu probu u koju je dodana ista količina Luffove otopine, ali umjesto razrijeđenog filtrata je dodana destilirana voda.



**Slika 10.** Zagrijavanje tikvica povezanih s povratnim hladilom (Vlastita fotografija)



**Slika 11.** Završetak titracije s Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Vlastita fotografija)

### 3.2.9.3.3. Određivanje ukupnih reduciranih šećera (nakon hidrolize)

U odmjernu tikvicu od 100 mL otpipetirano je 10 mL filtrata, razrijeđeno je s 30 mL destilirane vode i dodano je 0,5 mL koncentrirane klorovodične kiseline. Odmjerna tikvica je stavljena u vrelu vodenu kupelj na 30 min. (hidroliza), nakon čega je provedena titracija s NaOH uz dodatak fenolftaleina kao indikatora, do promjene boje u svijetlo rozu. Nakon titracije tikvica je dopunjena destiliranom vodom do oznake i ponovljen je postupak kao kod određivanja prirodnih reducirajućih šećera, također u dva paralelna mjerenja.

Postupak izračuna udjela šećera u uzorcima:

Volumen 0,1 M tiosulfata koji odgovara količini šećera u uzorku izračunat je prema formuli:

$$X = SP - U \quad [11]$$

gdje je:

X - volumen 0,1 M tiosulfata koji odgovara količini šećera u uzorku (mL)

SP - volumen 0,1 M tiosulfata pri titraciji slijepe probe (mL)

U - volumen 0,1 M tiosulfata potrošen pri titraciji otopine uzorka (mL)

Prema izračunatoj vrijednosti volumena 0,1 M tiosulfata koji odgovara količini šećera u uzorku je pomoću pripadajuće vrijednosti za izračunavanje udjela šećera prema Luff-Schoorl-u izračunata masa šećera.

Udio prirodnih i ukupnih reducirajućih šećera u uzorku izračunat je prema sljedećim formulama:

$$\text{udio prirodnog inverta (\%)} = \frac{250 \text{ mL} \times 100 \text{ mL} \times X \times 100}{Y \times 25 \text{ mL} \times 25 \text{ mL} \times 1000} \quad [12]$$

$$\text{udio ukupnog inverta (\%)} = \frac{250 \text{ mL} \times 100 \text{ mL} \times X \times 100}{Y \times 10 \text{ mL} \times 25 \text{ mL} \times 1000} \quad [13]$$

gdje je:

X - masa šećera očitnog iz tablice (mg)

Y - masa uzorka (g)

#### *3.2.9.4. Određivanje udjela prehrambenih vlakana*

Prehrambena vlakna određena su u dvije paralele za oba uzorka prema metodi (AOAC 2011.25, 2012). Određena su netopljiva vlakna (IDF), vlakna topljiva u vodi i netopljiva u 78 %-tnom etanolu (SDFP) te vlakna topljiva u vodi i 78 %-tnom etanolu (SDFS) i izračunat je udio ukupnih vlakana. Rogačevom brašnu je određen udio proteina i pepela.

##### 3.2.9.4.1. Priprema uzorka

U Duran bocu s čepom je odvagano  $1,000 \pm 0,005$  g uzorka i otpipetiran je 1 mL 95 %-tnog etanola. Kako bi se razgradio škrob, u bocu je dodano 40 mL pripremljene otopine pankreasne  $\alpha$  - amilaze i amiloglukozidaze u Na - maleatnom puferu, prethodno homogenizirane 5 min. na magnetskoj miješalici i boca je stavljena na magnetsku miješalicu 5 min. Nakon toga je provedena inkubacija u prethodno temperiranoj vodenoj kupelji na 37 °C, s tresilicom brzinom trešnje  $120 \text{ o min}^{-1}$ , 16 h, nakon čega je reakcija u boci s uzorkom zaustavljena dodatkom 3 mL 0,75 M trizma bazične otopine. Sadržaj u boci je homogeniziran na magnetskoj miješalici

2 min. i boca je stavljena u vodenu kupelj prethodno temperiranu na 90 °C, 20 min. Nakon inkubacije, sadržaj u boci je ohlađen na 60 °C, dodano mu je 100 µL proteaze nakon čega je homogeniziran na magnetskoj miješalici 2 min. i boca je stavljena u vodenu kupelj s tresilicom, prethodno temperiranu na 60 °C, 30 min. Nakon inkubacije, uzorak je izvađen iz kupelji i dodano mu je 4 mL 2 M octene kiseline (radi snižavanja pH) te 1 mL internog standarda D-sorbitola,  $c=100 \text{ mg mL}^{-1}$  (radi kvantifikacije na HPLC-u), nakon čega je homogeniziran na magnetskoj miješalici 1 min. Postupak je proveden dvaput za oba uzorka.

#### 3.2.9.4.2. Određivanje netopljivih vlakana

Postavljena je aparatura za filtraciju. Prethodno spaljeni i izvagani lončić s celitom je ispran s 15 mL 78 %-tnog etanola pomoću boce štrcaljke, poravnan te uključanjem vakuuma pravilno raspoređen po površini lončića. Nakon što je promijenjena odsisna boca za uzorak, sadržaj iz boce je profiltriran, a zaostaci na stijenkama boce su prenešeni u lijevak ispiranjem s destiliranom vodom temperature 60 °C, 7 puta po 5 mL. Sakupljeni filtrat je podešen na volumen od 75 mL i prebačen u Duran bocu od 500 mL te je korišten za određivanje vlakana topljivih u vodi i netopljivih u 78 %-tnom etanolu. Lončić s talogom je dvaput ispran s 15 mL 78 %-tnog etanola, dvaput s 15 mL 95 %-tnog etanola i dvaput s 15 mL acetona, pokriven je aluminijskom folijom i stavljen na sušenje preko noći na 105 °C, nakon čega je ohlađen i izvagan.

Masa netopljivih vlakana u lončiću izračunata je prema formuli:

$$m_1 = m_3 - m_2 \quad [14]$$

gdje je:

$m_1$  - masa netopljivih vlakana u uzorku (g)

$m_2$  - masa lončića s celitom (g)

$m_3$  - masa lončića s celitom i netopljivim vlaknima u uzorku (g)

#### 3.2.9.4.3. Određivanje vlakana topljivih u vodi i netopljivih u 78 %-tnom etanolu

Filtrat dobiven u prethodnom postupku (~70 mL) zagrijan je na 60 °C, nakon čega je pomiješan s 250 mL 95 %-tnog etanola, također zagrijanog na 60 °C te je otopina stavljena na taloženje 60 min. pri sobnoj temperaturi. Postupak filtracije proveden je isto kao i kod određivanja netopljivih vlakana, samo je sadržaj boce kvantitativno prenesen sa 78 %-tnim etanolom, a ne

s destiliranom vodom. Dobiveni filtrat je korišten za određivanje vlakana topljivih u vodi i 78 %-tnom etanolu, a ostatak na lončiću je osušen i korigiran za proteine i pepeo, kao kod određivanja netopljivih vlakana.

Masa vlakana topljivih u vodi i netopljivih u 78 %-tnom etanolu izračunata je prema formuli:

$$m_1 = m_3 - m_2 \quad [15]$$

gdje je:

$m_1$  - masa vlakana topljivih u vodi i netopljivih u 78 %-tnom (g)

$m_2$  - masa lončića s celitom (g)

$m_3$  - masa lončića s celitom i vlakana topljivih u vodi i netopljivih u 78 %-tnom etanolu (g)

#### 3.2.9.4.4. Određivanje vlakana topljivih u vodi i 78 %-tnom etanolu na HPLC-u

Vlakna topljiva u vodi i 78 %-tnom etanolu određivana su HPLC metodom, prije čega je jedan od dvaju paralelnih filtrata uparen i deioniziran na sljedeći način.

Polovina filtrata je prenesena u tikvicu za otparavanje od 500 mL i otparena na rotavaporu pod vakuumom na 60 °C do suha. Tikvica je isprana s 5 mL deionizirane vode i rotirana 2 min., nakon čega je provedena deionizacija.

U čašu je odvagano 4 g smole Amberlite 200Cna i 4 g smole Amberlite FPA53, dodano je malo vode i sadržaj je dobro homogeniziran, nakon čega je preliven u prethodno postavljenu kolonu za deionizaciju s otvorenim ventilom iznad Falcon epruvete. Na vrh kolone je stavljena vata i kolona je isprana s 20 mL vode. Na kolonu sa zatvorenim ventilom je nanižeto 2 mL uzorka (protok elucije 1 mL min.<sup>-1</sup>), zatim 2 mL deionizirane vode i nakon prolaska kroz kolonu još 20 mL deionizirane vode te je ponovljena elucija istom brzinom. Dobiveni eluat je uparen na rotavaporu uz vakuum pri 60 °C do suha. Uparenom uzorku dodana su 2 mL vode uz rotaciju na rotavaporu 2 min., kako bi se šećeri otopili. Otopina je filtrirana preko šprice (0,45 µm filtera) i tako pripremljen uzorak je injektiran u HPLC s detektorom indeksa refrakcije (RI). Za HPLC analizu je korištena kolona METACARB 67H, a mobilnu fazu je činila vodena otopina Na<sub>2</sub>Ca - EDTA (50 mg L<sup>-1</sup>). Temperatura kolone je bila 90 °C, protok 0,5 mL min.<sup>-1</sup>, a vrijeme propuštanja uzorka kroz kolonu 30 min.

Radi kvantifikacije, kroz HPLC su propuštene otopine glukoze konc. 5, 10 i 20 mg mL<sup>-1</sup> (tri puta), interni standard D-sorbitol, c = 0,1 mg mL<sup>-1</sup> (tri puta) i standardi za utvrđivanje

retencijskih vremena koji su sadržani u enzimskom setu, maltoza i maltodekstrini (dva puta). Određeno je vrijeme razgraničenja između maltoze i oligosaharida te površina svih pikova sa stupnjom polimerizacije većim od točke razgraničenja za standarde. Ukupan zbroj predstavljao je SDFS.

Očitana je površina pikova otopine glukoze i internog standarda s 3 kromatograma. Usporedbom omjera površina za D-glukozu / D-sorbitol u odnosu na omjer masa D-glukoze / D-sorbitola dobivena je recipročna vrijednost nagiba pravca, tj. "faktor odgovora".

$$Rf = \left( \frac{PA-IS}{PA-Glu} \right) \times \left( \frac{Wt-Glu}{Wt-IS} \right) \quad [16]$$

gdje je:

Rf - faktor odgovora

PA-IS - površina pika internog standarda (D-sorbitola)

PA-Glu - površina pika D glukoze

Wt-Glu - masa D-glukoze u standardu

Wt-IS - masa D-sorbitola u standardu

Masa slijepa probe je izračunata prema formuli:

$$Slijepa\ proba\ (B)(mg) = \frac{BR_1 + BR_2}{2 - PB - PA} \quad [17]$$

gdje je:

BR<sub>1</sub> i BR<sub>2</sub> - masa ostatka dvaju paralelnih određivanja slijepa probe (mg)

PB - masa proteina određena u ostatku slijepa probe (mg)

PA - masa pepela određena u ostatku slijepa probe (mg)

Udio netopljivih vlakana (IDF) i vlakana topljivih u vodi i netopljivih u 78 %-tnom etanolu (SDFP) izračunat je prema formuli:

$$IDF\ ili\ SDFP\ \left( \frac{mg}{100g} \right) = \left( \frac{\frac{R_1 + R_2}{2 - PB - PA - E}}{\frac{m_1 + m_2}{2}} \right) \times 100 \quad [18]$$

$$\%IDF = IDF\ (mg/100g)/1000 \quad [19]$$

$$\%SDFP = SDFP\ (mg/100g)/1000 \quad [20]$$

gdje je:

R<sub>1</sub> - masa ostatka uzorka 1 mase m<sub>1</sub> (mg)

R<sub>2</sub> - masa ostatka uzorka 2 mase m<sub>2</sub> (mg)

m<sub>1</sub> - masa uzorka 1 za analizu (g)

m<sub>2</sub> - masa uzorka 2 za analizu (g)

PB - masa proteina u ostatku R<sub>2</sub> (mg)

PA - masa pepela u ostatku R<sub>1</sub> (mg)

Vlakna topljiva u vodi i 78 %-tnom etanolu (SDFS) izračunata su prema formuli:

$$SDFS \left( \frac{mg}{100g} \right) = Rf \times (m - IS) \times \left( \frac{PA-SDFS}{PA-IS} \right) \times \left( \frac{100}{m} \right) \quad [21]$$

gdje je:

m-IS - masa internog standarda sadržana u 1 mL otopine internog standarda pipetiranog u uzorak (mg)

PA-SDFS - površina pikova za SDFS

m - masa uzorka (m<sub>1</sub> i m<sub>2</sub>) čiji je filtrat koncentriran i analiziran na LC-u (g)

Na temelju dobivenih rezultata udjela IDF, SDFP i SDFS, izračunat je udio ukupnih prehrambenih vlakana u uzorcima (%).

### 3.2.9.5. Određivanje udjela proteina

Udio proteina određen je prema standardnoj metodi po Kjeldahlu (HRN ISO 1871, 1999), iz uzorka u lončiću dobivenog kod određivanja vlakana topljivih u vodi i netopljivih u 78 %-tnom etanolu (poglavlje 3.2.9.4.3.) Nakon vaganja, uzorak i celit iz lončića su u cijelosti prenijeti u Kjeldahl kivetu te je dodan katalizator (smjesa soli K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i CuSO<sub>4</sub>) i 12 mL 96 %-tne sumporne kiseline. Kiveta je stavljena u digestor na zagrijavanje u bloku za spaljivanje i spaljivanje je završeno kada u zaostaloj bistroj plavo - zelenoj tekućini nije bilo neizgorenih crnih komadića uzorka. Sadržaj u kiveti je ohlađen do sobne temperature i kiveta je stavljena na odgovarajuće mjesto u Kjeltec uređaj. Pripremljena Erlenmeyerova tikvica s 25 mL 4 %-tne borne kiseline i indikatorima (metilno crvenilo i brom krezol zeleno) postavljena je na izlaz Kjeltec uređaja, tako da destilacijska cjevčica bude uronjena u sadržaj tikvice. Postavljeni su uvjeti analize na



Kjeltec uređaju (80 mL destilirane vode i 50 mL 40 %-tne otopine NaOH) i pokrenuta je destilacija u trajanju od 4 min, nakon čega je topina titrirana klorovodičnom kiselinom do promjene boje iz zelene u ružičastu.

Udio dušika i udio proteina izračunati su prema sljedećim formulama:

$$Udio\ dušika\ (\%) = \frac{(T-B) \times N \times 14,007 \times 100}{m} \quad [22]$$

$$Udio\ proteina\ (\%) = udio\ dušika \times F \quad [23]$$

gdje je:

T - volumen titranta V(HCl)

B - volumen titranta slijepa probe V(HCl)

N - molaritet

m - masa uzorka (mg)

F - faktor pretvorbe za proteine, iznosi 6,25

#### 3.2.9.6. Određivanje udjela pepela

Udio pepela određen je prema standardnoj metodi (HRN EN ISO 2171, 2010). Kao i kod određivanja udjela proteina u uzorku, udio pepela određen je iz uzorka u lončiću dobivenog kod određivanja vlakana topljivih u vodi i netopljivih u 78 %-tnom etanolu (poglavlje 3.2.9.4.3.). Lončić s uzorkom je stavljen u mufolnu peć preko noći na 550 °C. Idući dan je izvađen, ohlađen i izvagan.

Udio pepela izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$udio\ pepela\ (\%) = \frac{m_3 - m_2}{m_1} \times 100 \quad [24]$$

gdje je:

m<sub>1</sub> - masa vlakana bez korekcije (g)

m<sub>2</sub> - masa lončića s celitom (g)

m<sub>3</sub> - masa lončića s celitom i pepelom (g)

### *3.2.9.7. Određivanje ukupnih fenolnih spojeva*

Ukupni fenolni spojevi u uzorcima određeni su spektrofotometrijski, metodom prema Durazzo i sur. (2013).

#### *3.2.9.7.1. Ekstrakcija slobodnih spojeva*

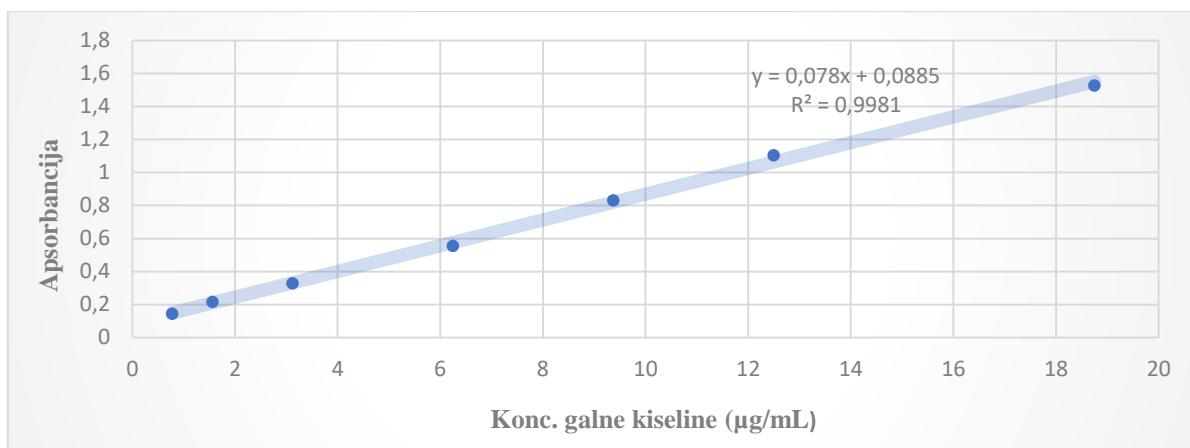
Rogačevo brašno je prosijano kroz sito, nakon čega je bilo spremno za ekstrakciju, dok su zamrznuta kisela tijesta i kruščići prvo izmiksani ručnim mikserom kako bi se homogenizirali i nakon toga su prosijani kroz sito. U kivetu je odvagano 1 g uzorka i dodano 25 mL prethodno pripremljenog 50 %-tnog metanola (prema uputi), nakon čega je kiveta vortexirana 3 min., stavljena u vodenu kupelj 1 h i centrifugirana (2500 g, 10 min.). Supernatant I. je prebačen u drugu kivetu, a u kivetu s talogom je dodano 25 mL smjese acetona i vode (70:30) nakon čega je kiveta ponovno vortexirana 3 min, stavljena u vodenu kupelj 1 h i centrifugirana (2500 g, 10 min.). Dobiveni supernatant II. spojen je sa supernatantom I. i centrifugiran (3500 g, 15 min.), nakon čega je prebačen u odmjernu tikvicu od 50 mL, nadopunjen destiliranom vodom do oznake i korišten za određivanje ukupnih fenolnih spojeva te antioksidacijske aktivnosti. Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

#### *3.2.9.7.2. Određivanje ukupnih fenolnih spojeva nakon ekstrakcije slobodnih spojeva*

U mikrokivetu je otpipetirano 500  $\mu\text{L}$  uzoraka kruha i 1100  $\mu\text{L}$  vode te 100  $\mu\text{L}$  Folin-Ciocalteu reagensa nakon čega je uključena štoperica 3 min. Nakon isteka vremena u svaku kivetu je dodano 300  $\mu\text{L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Kivete su zatvorene, promućkane te nakon 2 sata stajanja u mraku pri sobnoj temperaturi, stavljene u spektrofotometar i pokrenuta je analiza. Apsorbancija je mjerena pri 765 nm. Slijepa proba je umjesto uzorka sadržavala 250  $\mu\text{L}$  smjese acetona i vode te 250  $\mu\text{L}$  50 %-tnog metanola. Za rogačevo brašno i rogačeva kisela tijesta provedeno je više mjerenja s različitim volumenima ekstrakta (1000, 100 i 50  $\mu\text{L}$ ) sve dok dobivena apsorbcija nije bila u granicama linearnog područja mjerenja (50  $\mu\text{L}$  uzorka i 1550  $\mu\text{L}$  vode).

#### *3.2.9.7.3. Postupak izrade baždarnog dijagrama za TPC metodu*

Postupak pripreme za izradu baždarnog dijagrama je identičan protokolu za određivanje ukupnih fenolnih spojeva u uzorku, ali je umjesto uzorka dodana galna kiselina poznate koncentracije (0,5 mg  $\text{mL}^{-1}$ ) koja je bila razrijeđena na 7 koncentracijskih razina. Mjerenja su provedena u 3 ponavljanja. Baždarna krivulja je prikazana na slici 12.



**Slika 12.** Baždarna krivulja ovisnosti apsorbancije pri 765 nm o koncentraciji galne kiseline ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )

### 3.2.9.8. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Antioksidacijska aktivnost uzoraka određena je FRAP metodom prema Čukelj i sur. (2015).

#### 3.2.9.8.1. Određivanje antioksidacijske aktivnosti uzoraka na spektrofotometru

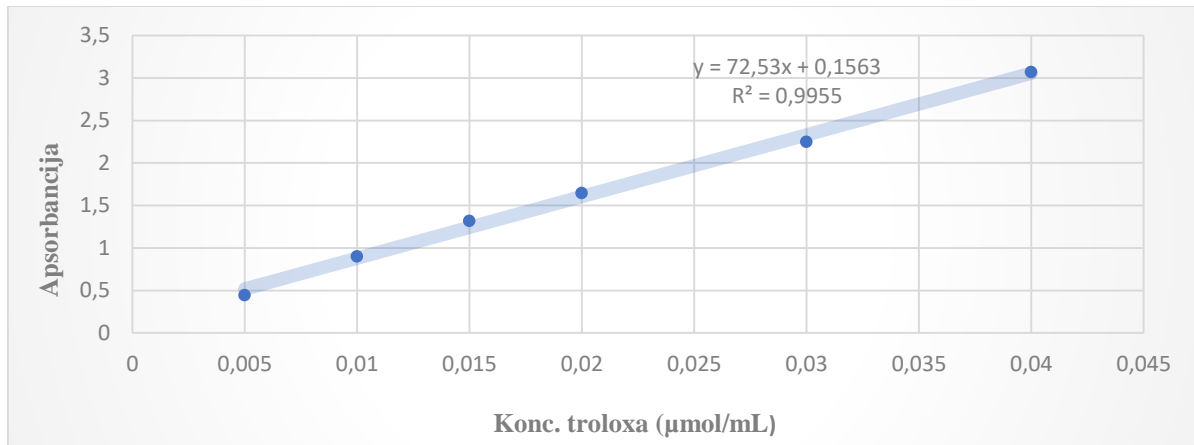
U mikrokivetu je za rogačevo brašno i sve uzorke kiselih tijesta od rogačevog brašna otpipetirano 50  $\mu\text{L}$  uzorka i 950  $\mu\text{L}$  miješanog otapala (50 %-tni metanol i aceton / voda), a za pšenično kiselo tijesto i sve uzorke kruha je otpipetirano 200  $\mu\text{L}$  uzorka i 800  $\mu\text{L}$  miješanog otapala. Nakon toga je dodano 1000  $\mu\text{L}$  FRAP reagensa, prethodno zagrijanog na 37 °C, i uključena je štoperica na 4 min. Kivete su zatvorene, promućkane i stavljene u spektrofotometar te je nakon isteka vremena pokrenuta analiza. Apsorbancija je mjerena pri 593 nm. Sva mjerenja su provedena u paraleli, a slijepa proba je umjesto uzorka sadržavala 1000  $\mu\text{L}$  miješanog otapala (50 %-tnog metanola i aceton / voda).

#### 3.2.9.8.2. Postupak izrade baždarnog dijagrama za FRAP metodu

Za izradu baždarnog dijagrama potrebno je bilo pripremiti svježu otopinu troloxa (6-hidroksi-2,5,7,8 tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) na sljedeći način:

Odvagano je 0,5 mg troloxa u odmjernu tikvicu od 10 mL i nadopunjeno miješanim otapalom (100 mL 50 %-tnog metanola i 100 mL smjese acetona i vode), i tako je dobivena stock otopina koncentracije 0,05  $\text{mg mL}^{-1}$ .

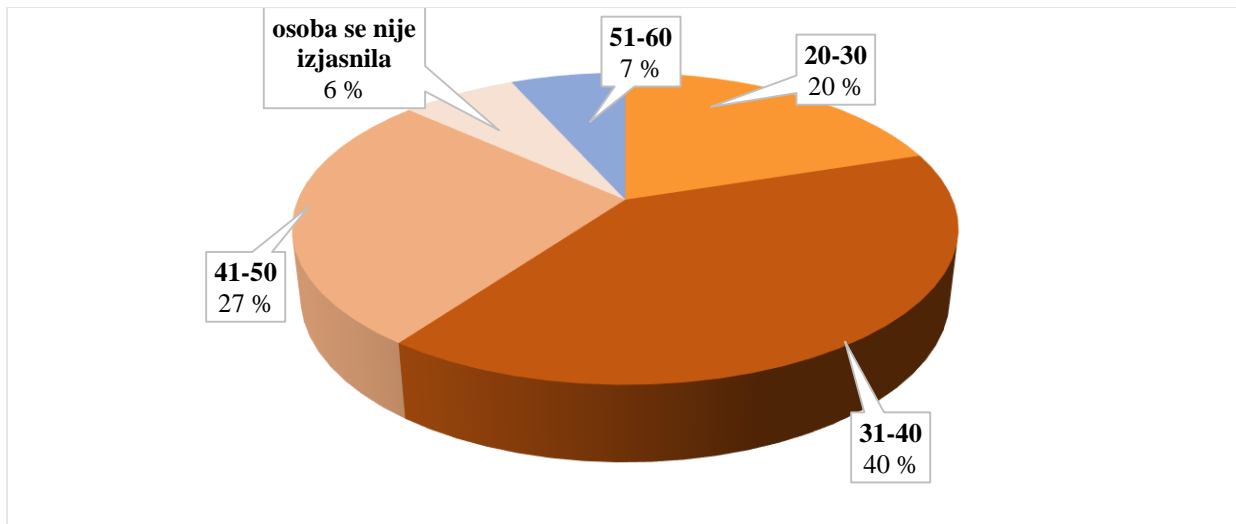
Daljnji postupak je bio identičan postupku određivanja antioksidacijske aktivnosti uzoraka, ali je umjesto uzoraka dodana prethodno pripremljena otopina troloxa. Nakon razrijeđenja, mjerenja su provedena na 7 koncentracijskih razina u 3 ponavljanja. Baždarna krivulja je prikazana na slici 13.



**Slika 13.** Baždarna krivulja ovisnosti apsorbancije pri 593 nm o koncentraciji otopine troloxa ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ )

### 3.2.10. Senzorska analiza

Senzorska analiza uzoraka provedena je prema Svensson (2012), u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju žitarica, na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu, u Zagrebu. Odabrani panel od 15 članova različitog spola, različite dobi (slika 14) i različite preferencije za rogač, ocijenio je 6 uzoraka koji su bili šifrirani. Parametri koji su se bodovali su: izgled, miris, okus i tekstura uzorka te sveukupni dojam. Svaki parametar je ocijenjen prema stupnju sviđanja od "Izrazito mi se sviđa" do "Izrazito mi se ne sviđa". Opisima su pridodane odgovarajuće ocjene, pa je tako opisu "Izrazito mi se sviđa" pridodana ocjena 9, a opisu "Izrazito mi se ne sviđa", ocjena 1. Također je proveden test preferencija, u kojemu su sudionici uzorke rangirali od onog kojeg najviše preferiraju (1. mjesto) do onog kojeg najmanje preferiraju (6. mjesto). Primjer testa za senzorsku analizu kruha prikazan je u prilogu 4.



**Slika 14.** Raspodjela dobi sudionika (20-30, 31-40, 41-50, 51-60 godina) u hedonističkom testu

### 3.2.11. Statistička obrada podataka

Za analizu i obradu dobivenih eksperimentalnih podataka korišten je Microsoft Office Excel 2013, a za izradu grafova program GraphPad Prism 5. Provedena je analiza varijance ANOVA na temelju koje se vidjelo postoji li statistički značajne razlike između rezultata ( $p < 0,05$ ). Osim toga, u programu StatSoft Statistica su izračunate korelacije za pojedina svojstva uzoraka kako bi se utvrdila njihova povezanost. S obzirom na to da su sva mjerenja provedena najmanje dva puta, za sve rezultate je izračunata srednja vrijednost te standardna devijacija.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

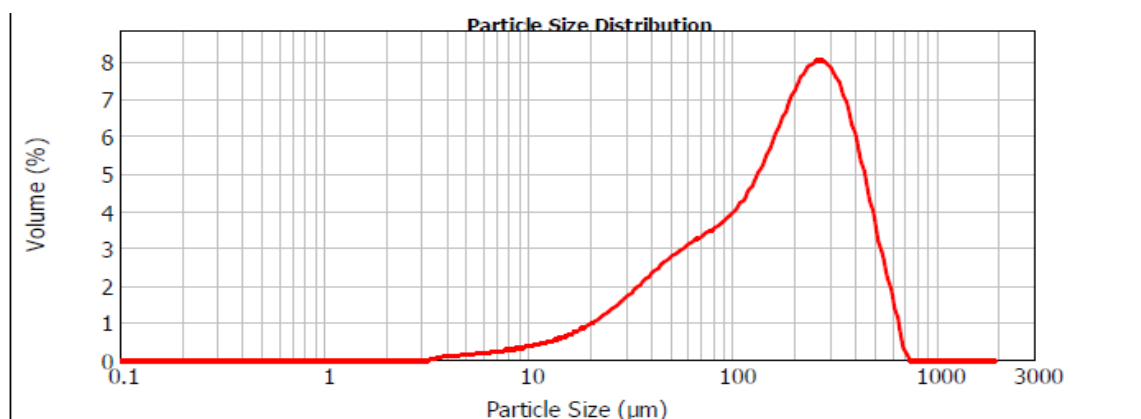
Cilj rada bio je dodatkom kiselog tijesta od brašna rogača (s i bez dodatka heljdinog brašna) fermentiranog s definiranim starter kulturama *Lactobacillus brevis* i *Lactobacillus fermentum* te *Saccharomyces cerevisiae*, kao i dodatkom samog rogačevog brašna u zamjes, nutritivno obogatiti bijeli pšenični kruh te ispitati njegova tehnološka svojstva kvalitete i prihvatljivost potrošača.

U ovom poglavlju prikazani su rezultati analize rogačevog brašna (raspodjela veličine čestica te kemijski sastav), svojstva pripremljenog krušnog i kiselog tijesta (reološka svojstva, broj živih stanica, ukupna kiselost i pH vrijednost), analize fizikalnih svojstva kruha (prinos kruha i gubitak mase pečenjem, specifični volumen i prinos volumena, izgled i boja, tekstura sredine i mrvljivost) te rezultati analize kemijskog sastava kruha (udio nutrijenata, ukupni fenolni spojevi te antioksidacijska aktivnost). Također su prikazani rezultati senzorske analize uzoraka kruha.

Sva mjerenja su provedena najmanje dva puta, stoga su izračunate srednja vrijednost i standardna devijacija. S obzirom na to da još uvijek nema literaturnih navoda o kiselom tijestu od rogačevog brašna, rezultati su uspoređeni s rezultatima istraživanja vezanih za kisela tijesta različitog sastava.

#### 4.1. RASPODJELA VELIČINE ČESTICA ROGAČEVOG BRAŠNA

Rezultati dobiveni određivanjem raspodjele veličine čestica rogačevog brašna prikazani su na slici 15.



**Slika 15.** Srednje vrijednosti dobivenih rezultata volumne raspodjele veličine čestica rogačevog brašna (µm)

Veličina čestica brašna je značajan tehnološki faktor koji utječe na brojna svojstva tijesta, kao što su brzina i tijek biokemijskih i koloidnih procesa za vrijeme zamjesa, odmaranja i završne fermentacije. Također utječe i na prinos tijesta, kao i na prinos gotovog proizvoda (Klarić, 2017).

Na temelju rezultata vidljivo je da je promjer 10 % čestica rogačevog brašna bio manji od 36,64 µm, a promjer 90 % čestica brašna manji od 415,43 µm, dok je 50 % čestica brašna bilo manje (i također veće) od 181,57 µm. Za pekarsku kvalitetu pšeničnog brašna preporuča se veličina čestica od 0 - 150 µm (Rasper i Walker, 2000). Benković i sur. (2017) su određivali veličinu čestica brašna sjemenki rogača i 50 % čestica je bilo promjera 145, 81 µm. Rogačevo brašno ispitivano u ovom radu bilo je nešto krupnije što ne mora nužno imati nepovoljan utjecaj na gotovi proizvod. Tsatsaragkou i sur. (2017) su ispitivali utjecaj dodatka različite veličine čestica brašna sjemenki rogača na bezglutenski kruh od rižinog brašna. Rezultati su pokazali da čestice najmanjeg promjera (80,36 µm) i čestice najvećeg promjera (258,55 µm) daju proizvod najvećeg specifičnog volumena i najbolje poroznosti.

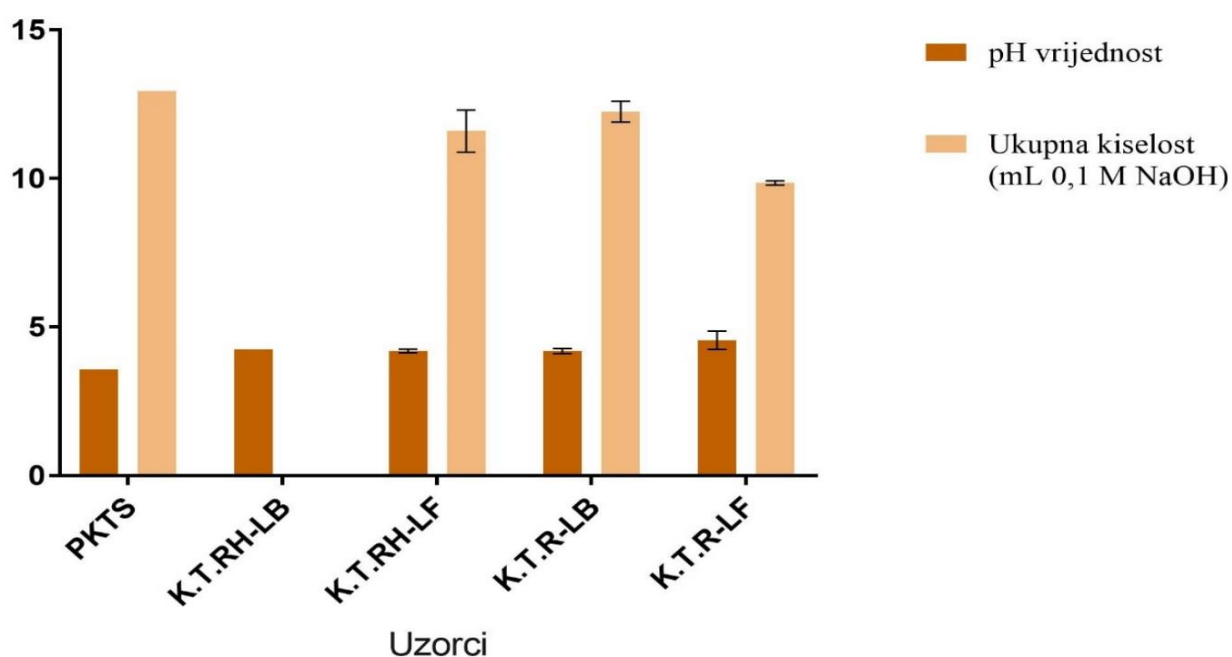
## 4.2. SVOJSTVA KISELOG TIJESTA

Svim kiselim tijestima je određena pH vrijednost i kiselost, a u pripremljenim rogačevim kiselim tijestima je određen broj živih stanica mikroorganizama.

Broj živih stanica korištenih bakterija mliječne kiseline u kiselom tijestu bio je u rasponu od  $5,80 \times 10^7$  do  $9,10 \times 10^8$ , a broj živih stanica kvasca u rasponu od  $6,54 \times 10^5$  do  $1,50 \times 10^6$ .

Bakterije mliječne kiseline su odgovorne za proces zakiseljavanja tijesta dok su kvasci odgovorni za dizanje tijesta. Tipičan broj BMK u zreom kiselom tijestu iznosi oko  $10^8 - 10^9$  CFU g<sup>-1</sup>, dok broj kvasaca iznosi približno  $10^6 - 10^7$  CFU g<sup>-1</sup> (Mrvčić i sur., 2011). S obzirom na to da je tijekom 24 h kiseljenja tijesta broj živih stanica porastao za dvije potencije, može se reći da je rogačevo brašno (s i bez dodatka heljdinog brašna) dobar supstrat za pripremu kiselih tijesta pomoću odabranih BMK i kvasca.

Rezultati određivanja ukupne kiselosti i pH vrijednosti kiselih tijesta prikazani su na slici 16.



**Slika 16.** Rezultati određivanja pH vrijednosti i ukupne kiselosti uzoraka kiselog tijesta

pH vrijednost predstavlja jakost kiselina u kiselom tijestu i ima važnu ulogu za rezultat pečenja (Klarić, 2017). U zreom kiselom tijestu pH vrijednost se kreće od 3,5 - 4,3 (Collar i sur., 1994), što potvrđuju i rezultati svih uzoraka (3,6 – 4,2), osim uzorka R-LF kojemu je pH



vrijednost bila nešto veća (4,5). Razlog tome je manji broj mikroorganizama u kiselom tijestu što je uzrokovalo sporiju fermentaciju.

Dodatkom 20 % rogačevog kiselog tijesta u zamjes pri izradi kruha, pH vrijednost zamjesa se smanjila s 5,9 na  $5,3 \pm 0,08$ . Slični rezultati pH vrijednosti krušnih tijesta od 4,7 - 5,5 s dodatkom 20 % kiselog tijesta prikazani su u radu Collar i sur. (1994). pH vrijednost zamjesa u ovom radu bila je na gornjoj granici jer rogačevo kiselo tijesto nije toliko kiselo kao što je to slučaj s drugim kiselim tijestima, stoga se pH zamjesa pri izradi kruha nije puno smanjio.

Od iznimne je važnosti da se pH vrijednost tijesta smanji jer se time povećava topljivost glutena, a to rezultira povećanjem elastičnosti tijesta i većim volumenom kruha (Arendt i sur., 2007). Ako je pH vrijednost previsoka, sredina kruha će ostati slabo elastična ili čak gnjecava (Klarić, 2017).

Ukupna kiselost kiselog tijesta predstavlja mjeru za ukupnu količinu kiselina u tijestu (Klarić, 2017). Formiranje organskih kiselina tijekom fermentacije rezultat je metabolizma primijenjenih BMK, ali i dostupnosti fermentabilnih šećera u brašnu (Moore i sur., 2008). Što je niža pH vrijednost tijesta, to je potrebna veća količina NaOH za neutralizaciju, stoga je vrijednost ukupne kiselosti uzorka veća. Iz rezultata je vidljivo da je za uzorak PKTS potrošeno najviše NaOH (12,95 mL) što je i očekivano jer je imao najnižu pH vrijednost. Isto tako, uzorak K.T.R-LF, čija je pH vrijednost bila najveća, imao je najmanju ukupnu kiselost (9,85 mL).

Banu i sur. (2010) su određivali pH vrijednost i ukupnu kiselost pšeničnog kiselog tijesta s dodatkom *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus brevis* i pH vrijednost je iznosila 3,93, a ukupna kiselost 13,2 što se podudara s rezultatima u ovom radu. Rizzello i sur. (2015) su samljeli različite talijanske sorte mahunarki, proveli fermentaciju dodatkom sojeva *Lactobacillus plantarum* C48 i *Lactobacillus brevis* AM7 te odredili pH vrijednost i ukupnu kiselost pripremljenog kiselog tijesta. Izmjerena pH vrijednost svih 19 uzoraka kretala se između 3,9 - 4,5, a ukupna kiselost između 20,2 - 27,2 mL, što je puno veća vrijednost u odnosu na rezultate u ovom radu. Kiselost tijesta ovisi o vrsti i kvaliteti brašna, vrsti stanja i količini dodane starter kulture, temperaturi, prisutnosti kisika, prinosu tijesta, vremenu stajanja i stupnju razmnožavanja te o dodatku hranjivih tvari ili tvari koje inhibiraju proces fermentacije (Giannou i sur., 2007), što je razlog odstupanja u rezultatima.

### 4.3. REOLOŠKA SVOJSTVA KRUŠNIH TIJESTA

Reološka svojstva krušnog tijesta s i bez dodatka rogačevog brašna te s dodatkom kiselog pšeničnog ili rogačevog tijesta (s i bez dodatka heljdinog brašna) određena na farinografu, prikazana su u tablici 7.

**Tablica 7.** Reološka svojstva krušnih tijesta

| Uzorak             | Maksimalna konzistencija (FJ) | Vrijeme maks. konzistencije (min.) | Naknadno otvrdnjavanje (FJ) | Vrijeme naknadnog otvrdnjavanja (min.) | Omekšanje nakon 15 min. (FJ) |
|--------------------|-------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|--|------------------------------|
| <b>Kontrolni</b>   | 510                           | 3,5                                | -                           | -                                      | 10                           |
| <b>Kontrolni+R</b> | 510                           | 6,5                                | 530                         | 12,5                                   | 50                           |
| <b>PKTS</b>        | 480                           | 3,5                                | -                           | -                                      | 10                           |
| <b>K.T.RH-LF</b>   | 420                           | 4,5                                | 430                         | 8                                      | 20                           |
| <b>K.T.R-LB</b>    | 550                           | 2,5                                | 570                         | 6,5                                    | 80                           |
| <b>K.T.R-LF</b>    | 520                           | 2,5                                | 520                         | 8,5                                    | 50                           |

Dobiveni parametri očitani iz farinograma, značajni su za optimalnu pripremu tijesta, za pravilno vođenje tehnološkog procesa tijekom fermentacije i također za samo pečenje tijesta. Na temelju dobivenih podataka o upijanju vode i omekšavanju tijesta na farinografu, znamo koliko je vode potrebno dodati u zamjes, a da pritom ne dođe do lijepljenja tijesta. Također, ukazuju na to koliki će biti prinos tijesta, a kasnije i prinos kruha (Klarić, 2017).

Optimalna vrijednost konzistencije tijesta je 500 FJ. Vrijednosti manje od optimuma ukazuju na to da je tijesto mekano, a vrijednosti konzistencije veće od optimuma da je tijesto tvrdo. Iz prikazanih rezultata je vidljivo da su krušna tijesta s dodatkom rogačevog brašna kao i rogačevih kiselih tijesta bila nešto tvrđe konzistencije nego što je bilo pšenično krušno tijesto, dok je dodatak kiselog pšeničnog tijesta i kiselog tijesta sa rogačevim i heljdinim brašnom omekšao konzistenciju krušnog tijesta. S obzirom na to da je rogačevo brašno bogato prehranbenim vlaknima, ono ima veliku moć upijanja vode pa je iz tog razloga, tijesto s rogačevim brašnom bilo nešto tvrđe konzistencije (izuzev uzorka RH-LF koji je osim rogačevog brašna sadržavao i heljdino brašno).

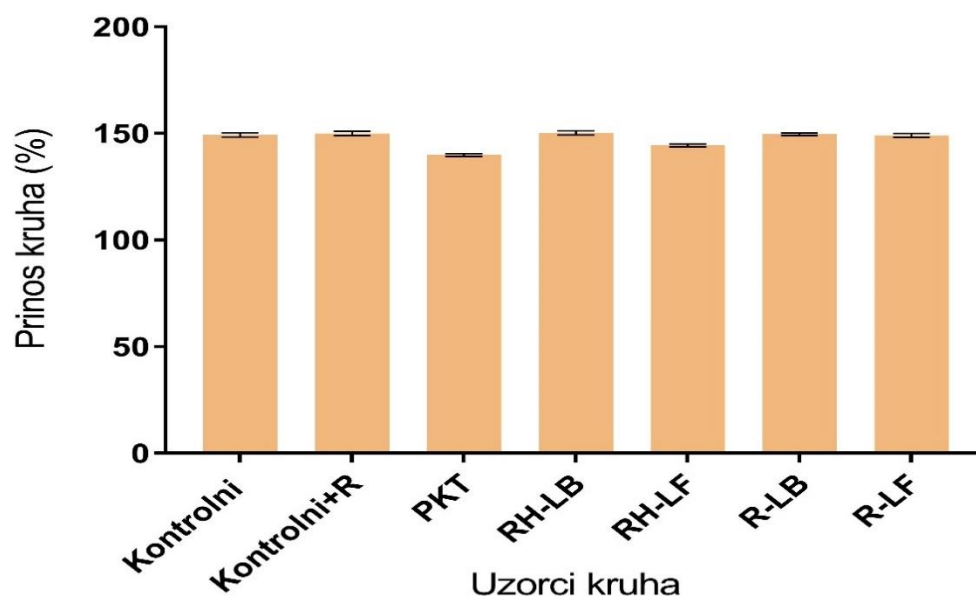
Slično, Šoronja-Simović i sur. (2016) su na farinografu ispitivali reološka svojstva pšeničnog tijesta s dodatkom komercijalnog rogačevog brašna. Rezultati su pokazali da se dodatkom 20 % rogačevog brašna povećalo upijanje vode i produljio razvoj tijesta za 4 puta u odnosu na samo pšenično tijesto. Salinas i sur. (2015) su ispitivali reološka svojstva pšeničnog tijesta s dodatkom brašna pulpe rogača i brašna sjemenki rogača. Ustanovljeno je da brašno sjemenki rogača ima veći utjecaj na reološka svojstva tijesta nego brašno pulpe rogača. Dodatkom 10 % brašna sjemenki rogača apsorpcija vode je bila 64,4 %, a kod dodatka 10 % brašna pulpe rogača 57,5 %. U oba slučaja je došlo do povećanja apsorpcije vode zbog čega je tijesto bilo tvrđe konzistencije, a vrijeme maksimalne konzistencije je bilo 9,7 min. S obzirom na to da je u ovome radu korišteno brašno sjemenki i pulpe rogača, postoje odstupanja u rezultatima. Nadalje, ako se pogledaju vrijednosti omekšanja nakon 15 min., vidljivo je da su najveće omekšanje imali uzorci s dodatkom rogačevog brašna. Razlog tome je manji udio glutena radi razrjeđenja rogačevim brašnom zbog čega se tijesto brže razvija i naknadno omekšava.

Turfani i sur. (2017) su u svojem radu ispitali utjecaj dodatka brašna sjemenki rogača u pšenično tijesto i rezultati su pokazali da pri dodatku 6 % i 12 % brašna rogača tijesto postaje tvrđe konzistencije, a stabilnost tijesta tijekom miješanja ostaje nepromijenjena.

## 4.4. FIZIKALNA SVOJSTVA KRUHA

### 4.4.1. Prinos kruha i gubitak mase pečenjem

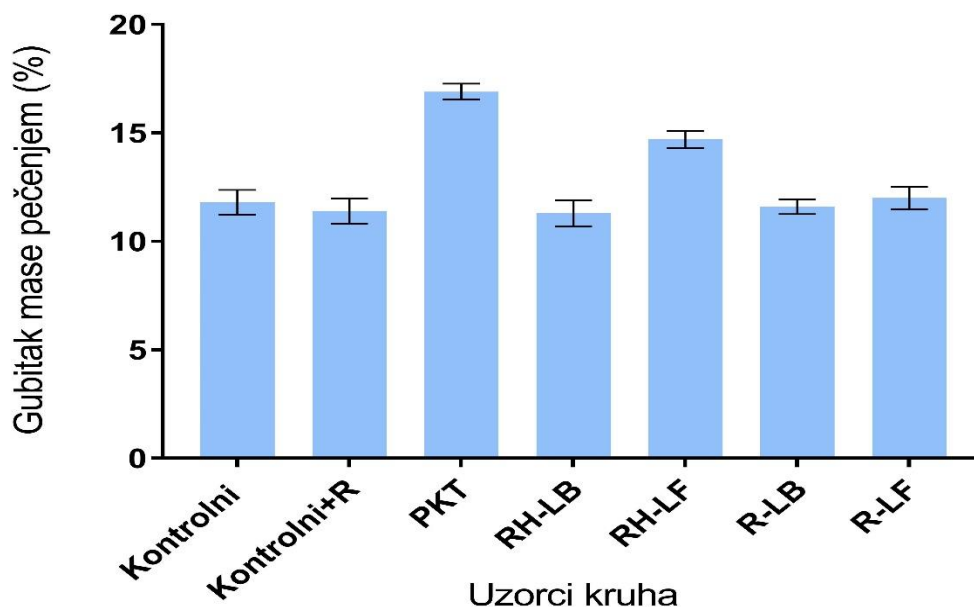
Srednje vrijednosti rezultata prinosa kruha i gubitka mase pečenjem uzoraka kruha prikazani su na slici 17 i na slici 18.



**Slika 17.** Grafički prikaz prinosa kruha (%)

Rezultati prinosa kruha uzoraka statistički se značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ). Najveći prinos kruha imao je uzorak RH-LB (150,2 %), a najmanji prinos uzorak PKT (139,9 %). Ako se usporede kontrolni uzorak i kontrolni uzorak s dodatkom rogačevog brašna vidljivo je da je veći prinos imao uzorak s dodatkom rogačevog brašna. Također, ako se uspoređi uzorak s pšeničnim kiselim tijestom s uzorcima s rogačevim kiselim tijestom vidljivo je da su uzorci s rogačevim kiselim tijestom imali veći prinos kruha.

Rogačevo brašno spada u sredstva koja imaju izraženu sposobnost vezanja velike količine vode (Klarić, 2017). Bogat je prehranbenim vlaknima, a ona u molekuli sadrže velik broj hidroksilnih skupina koje omogućuju povećano vezanje vode preko vodikovih veza i na taj način povećavaju apsorpciju vode (Sabanis i sur., 2009). Povećanjem apsorpcije vode, povećava se prinos kruha što je razlog većeg prinosa kruhova s dodatkom rogača.



**Slika 18.** Grafički prikaz gubitka mase pečenjem kruha (%)

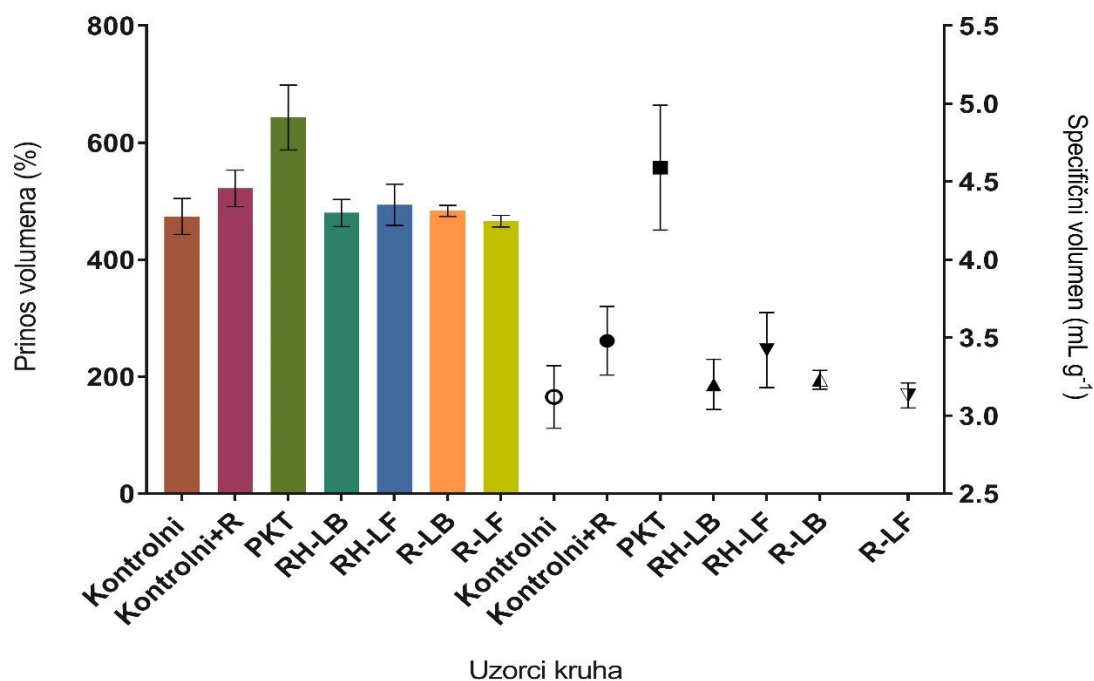
Rezultati gubitka mase pečenjem uzoraka statistički se značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ). Najmanji gubitak mase pečenjem imao je uzorak RH-LB (11,3 %), a najveći gubitak mase uzorak PKT (16,9 %). Proteini imaju sposobnost zadržavanja vode čime se povećava kapacitet vezanja vode, a time se smanjuje gubitak mase pečenjem (Storck i sur., 2013).

Iz rezultata je vidljivo da je uzorak koji je imao najmanji gubitak pečenjem imao najveći prinos kruha, također uzorak s najvećim gubitkom mase pečenjem imao je najmanji prinos kruha. Utvrđena je obrnuta korelacija između gubitka mase pečenjem i prinosa kruha ( $r = -0,9989$ ).

Tijekom kiseljenja tijesta dolazi do proteolize, što bi mogao biti razlog većeg gubitka mase pečenjem i manjeg prinosa kruha s dodatkom pšeničnog kiselog tijesta (Collar i sur., 1994; Barber i sur., 1992).

#### 4.4.2. Prinos volumena i specifični volumen

Rezultati prinosa volumena i specifičnog volumena prikazani su na slici 19.



**Slika 19.** Grafički prikaz prinosa volumena (%) i specifičnog volumena (mL g<sup>-1</sup>) uzoraka kruha

Rezultati prinosa volumena i specifičnog volumena uzoraka kruha statistički se značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ). Najveći prinos volumena imao je uzorak PKT s dodatkom pšeničnog kiselog tijesta (642,8 %), a najmanji prinos volumena imao je uzorak R-LF s dodatkom rogačevog kiselog tijesta (465,9 %). Najveći specifični volumen imao je također uzorak PKT (4,59 mL g<sup>-1</sup>), dok je najmanji specifični volumen imao kontrolni uzorak (3,12 mL g<sup>-1</sup>). U odnosu na PKT rogačeva kisela tijesta nisu uvelike utjecala na specifični volumen, ali su općenito uzorci s rogačem (brašnom ili kiselim tijestom) imali veći volumen od kontrolnog uzorka. Povećanje specifičnog volumena kruha s dodatkom kiselog tijesta uzrokovano je zakiseljavanjem tijesta pri čemu se povećava topljivost glutena, što znatno mijenja reologiju tijesta. Glutenska mreža postaje slabija, tijesto elastičnije i stabilnije te volumen kruha veći (Mrvčić i sur., 2011). Od velike je važnosti u kojoj se količini dodaje kiselo tijesto, jer ovisno

o tome može imati pozitivan ili negativan utjecaj na specifični volumen kruha. U pšeničnom kruhu prevelika količina kiselog tijesta negativno utječe na specifični volumen radi proteolitičke razgradnje glutena, stoga je njegova količina ograničena (Barber i sur., 1992).

Šoronja-Simović i sur. (2016) su utvrdili da se dodatkom 20 % komercijalnog rogačevog brašna u pšenični kruh specifični volumen kruha smanjuje 25 %, dok se u ovom radu specifični volumen kruha povećao 12 % dodatkom 9 % rogačevog brašna. U radu Salinas i sur. (2015) se dodatkom 10 % brašna sjemenki rogača specifični volumen pšeničnog kruha također smanjio, i to s 2,50 na 2,25 mL g<sup>-1</sup>, odnosno dodatkom 10 % brašna pulpe rogača na 2,27 mL g<sup>-1</sup>. Može se zaključiti kako utjecaj dodatka rogačevog brašna na volumen kruha ovisi o svojstvima samog brašna, ali i drugih sastojaka te uvjeta procesa. U ovom radu utvrđena je značajna korelacija između specifičnog volumena i prinosa volumena ( $r=0,995$ ).

#### 4.4.3. Izgled i boja kruha

Vanjski izgled i izgled sredine uzoraka kruha (poprečni presjek) prikazani su u prilogu 3, a rezultati boje sredine uzoraka u tablici 8. Na slici 7 (prilog 3) je vidljiva značajna razlika u boji uzoraka kruha, ovisno o njihovom sastavu. Uzorci s dodatkom rogačevog brašna očekivano su bili tamnije boje, radi same boje brašna, ali i većeg udjela šećera koji sudjeluju u Maillardovim reakcijama u procesu pečenja.

Najveća razlika u poroznosti sredine kruha (slika 8, prilog 3) vidljiva je kod kontrolnog uzorka bez dodatka kiselog tijesta i uzorka kruha sa dodatkom pšeničnog kiselog tijesta. Kiselo tijesto utječe na poroznost sredine proizvoda, tako što ona postaje finija (Klarić, 2017). Uzorak PKT je imao najveći volumen i najveći promjer mjehurića, odnosno poroznost sredine, dok je sredina kontrolnog uzorka bez kiselog tijesta bila zbijenija.

Šoronja-Simović i sur. (2016) utvrdili da dodatak komercijalnog rogačevog brašna ima nepovoljan utjecaj na poroznost sredine kruha, smanjuje joj se finoća, dok se u radu Salinas i sur. (2015) pokazalo da povećanjem količine brašna sjemenki rogača u pšenični kruh, dolazi do smanjenja promjera mjehurića pa je sredina dosta zbijenija.

**Tablica 8.** Srednje vrijednosti rezultata boje sredine uzoraka kruha

| Uzorak               | $L^*(D65)$ | $a^*(D65)$ | $b^*(D65)$ | $\Delta E(D65)$ |
|----------------------|------------|------------|------------|-----------------|
| <b>Kontrolni</b>     | 78,67±0,75 | 1,14±0,15  | 21,07±0,36 | -               |
| <b>Kontrolni + R</b> | 58,06±0,68 | 6,92±0,19  | 18,84±0,30 | 21,49±1,00      |
| <b>PKT</b>           | 77,64±0,78 | 1,26±0,34  | 19,55±1,15 | 2,25±1,11       |
| <b>RH-LB</b>         | 60,21±1,2  | 5,34±0,24  | 17,56±0,46 | 19,58±0,97      |
| <b>RH-LF</b>         | 61,58±1,24 | 4,65±0,30  | 17,04±0,48 | 17,87±1,34      |
| <b>R-LB</b>          | 56,99±0,92 | 7,30±0,26  | 19,91±0,37 | 22,61±1,26      |
| <b>R-LF</b>          | 56,44±0,53 | 7,51±0,16  | 20,08±0,42 | 23,03±0,95      |

Boja je jedan od glavnih parametara koji utječe na procjenu kvalitete proizvoda potrošača i samim time određuje kupnju tog proizvoda i njegovu konzumaciju (Granato i Masson, 2010). Rezultati svih parametara boje sredine uzoraka kruha statistički se značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ). Vrijednost parametra  $L^*$  kod kontrolnog uzorka i uzorka PKT, koji su od pšeničnog brašna, bila je veća nego kod uzorka s dodatkom rogačevog brašna. Razlog tome je boja pšeničnog brašna koja je svjetlija od rogačevog brašna i na skali boja bliža bijeloj ( $L^*=0$ ). Uzorci RH-LB i RH-LF imali su gotovo istu vrijednost parametra  $L^*$ , kao i uzorci R-LB i R-LF jer se razlikuju jedino po starter kulturi dodanoj u kiselo tijesto. U odnosu na uzorke R-LB i R-LF, kod uzorka RH-LB i RH-LF vrijednost  $L^*$  je bila veća, jer je kiselo tijesto osim rogačevog brašna sadržavalo i heljdino brašno pa je stoga bilo svjetlije boje.

Parametar  $a^*$  kod kontrolnog uzorka i uzorka PKT iznosio je 1,14, odnosno 1,26, što znači da je intenzitet crvene boje bio jako mali. Kod uzorka s rogačevim brašnom parametar  $a^*$  se kretao između 4,65 i 7,51, pri čemu su najmanji intenzitet crvene boje imali uzorci s dodatkom kiselog tijesta od rogačevog brašna i heljdinog brašna, a najveći, uzorci s dodatkom kiselog tijesta samo od rogačevog brašna.

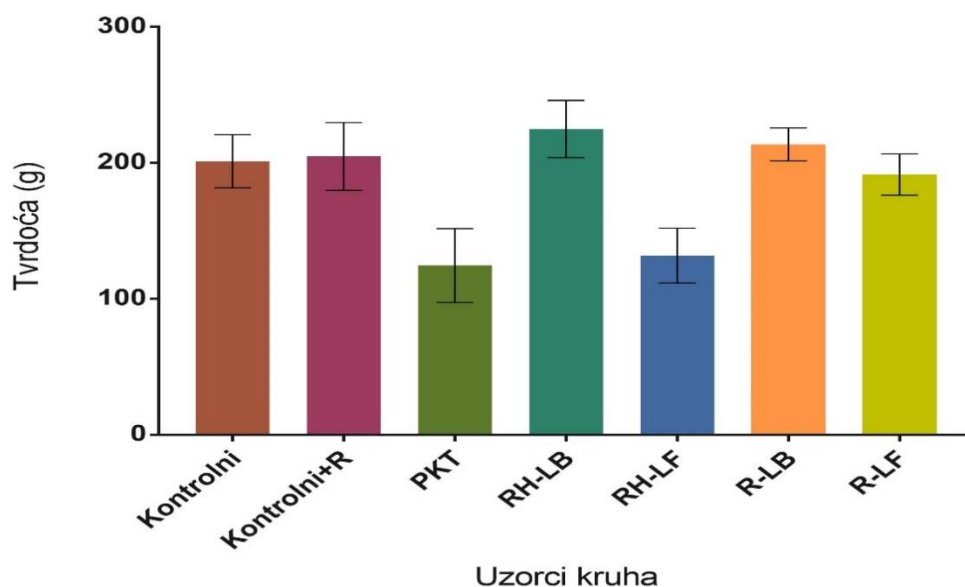
Vrijednosti parametra  $b^*$  kretale su se između 17,04 (uzorak RH-LF) i 21,07 (kontrolni uzorak), stoga se može zaključiti da je kontrolni uzorak imao najveći intenzitet žute boje.



U odnosu na kontrolni bijeli kruh, ukupna razlika boje  $\Delta E$  kod uzoraka s rogačevim brašnom iznosila je između 17,87 i 23,03, dok je kod uzorka PKT  $\Delta E$  iznosio 2,25. Vrijednosti  $\Delta E$  veće od 3 ukazuju na izrazito vidljivu razliku u boji u odnosu na kontrolni uzorak, što je bio slučaj kod svih uzoraka s rogačevim brašnom. Vrijednosti  $\Delta E$  koje se kreću između 1,5 i 3, kao što je bio slučaj kod uzorka PKT, ukazuju na vidljivu razliku u boji u odnosu na kontrolni uzorak (Adekunte i sur., 2010). Uzorci s kiselim tijestom koje je sadržavalo heljdino brašno bili su izrazito svjetliji u odnosu na kruh s rogačevim kiselim tijestom bez dodatka heljdinog brašna ( $\Delta E > 3$ ).

#### 4.4.4. Tekstura sredine

Rezultati teksture sredine uzoraka kruha prikazani su na slici 20.



**Slika 20.** Srednje vrijednosti rezultata tvrdooće sredine uzoraka kruha (g)

Rezultati tvrdooće sredine uzoraka se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ). Najveću tvrdooću imao je uzorak RH-LB (224,86 g), a najmanju uzorci PKT (124,50 g) i RH-LF (131,79 g) koji su imali najmekšu konzistenciju. Utvrđena je značajna korelacija tvrdooće kruha i konzistencije po razvoju tijesta ( $r=0,839$ ) te tvrdooće kruha i konzistencije izmjerene kod naknadnog otvrdnjavanja ( $r=0,868$ ) (tablica 7). U pravilu su kruhovi s većim volumenom mekši, kao što je bio slučaj kod uzorka PKT, dok su oni s manjim volumenom tvrđi kao što je bio slučaj kod uzorka RH-LB čiji volumen je bio najmanji u odnosu na uzorke s rogačevim brašnom. Tako je

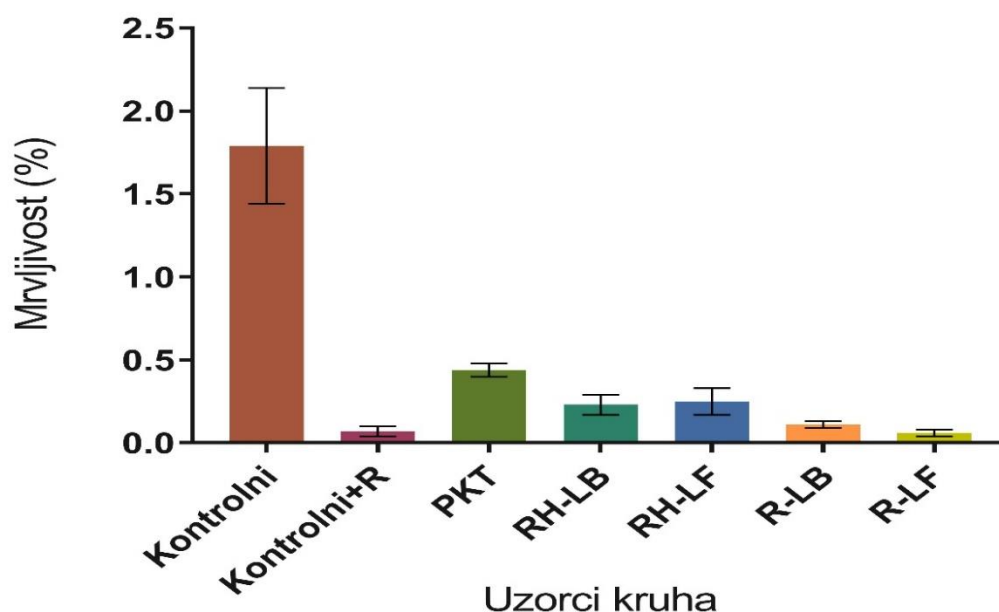
i u ovom radu utvrđena obrnuta korelacija između specifičnog volumena kruha i tvrdoće sredine ( $r=-0,72$ ). Ako se usporede rogačeva kisela tijesta fermentirana s *L. brevis* i fermentirana s *L. fermentum* vidljivo je da su kruhovi s dodatkom kiselog tijesta fermentiranog s *L. brevis* bili nešto tvrde sredine.

Tekstura je općenito označena kao multi - parametarsko svojstvo. Najčešća senzorska svojstva teksture sredine kruha koja se opisuju i kvantificiraju su: elastičnost, čvrstoća, mekoća, ljepljivost, vlažnost i mrvljivost kruha (Mrvčić i sur., 2011). Kiselo tijesto daje proizvodima veću vlažnost i elastičnost, kruh postaje čvršći i lakše se reže (Klarić, 2017). Dodatkom rogačevog brašna u pšenični kruh, tvrdoća kruha se povećala, ali neznatno.

Salinas i sur. (2015) su ispitali utjecaj dodatka brašna pulpe rogača i brašna sjemenki rogača na tvrdoću pšeničnog kruha. Dodatkom 10 % brašna pulpe rogača tvrdoća kruha se povećala, dok je kod dodatka 10 % brašna sjemenki rogača ostala ista. Slično, u ovom radu određeno je neznajčajno povećanje tvrdoće sredine kruha s dodatkom 9 % cjelovitog brašna rogača (pulpa i sjemenke).

#### 4.4.5. Mrvljivost

Rezultati mrvljivosti uzoraka kruha prikazani su na slici 21.



Slika 21. Srednje vrijednosti rezultata mrvljivosti uzoraka kruha (%)

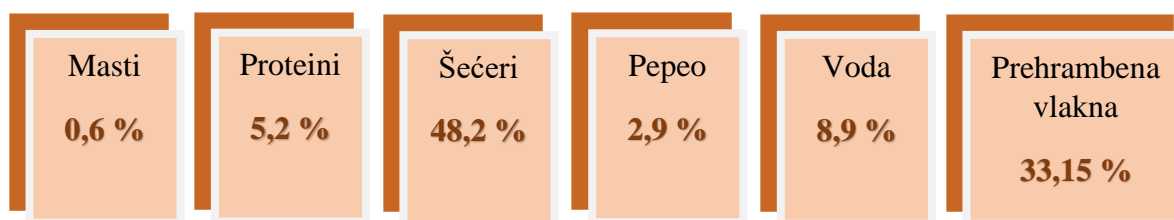
Rezultati mrvljivosti uzoraka kruha statistički se značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ). Najveći postotak mrvljivosti imao je kontrolni bijeli kruh bez dodatka kiselog tijesta (1,79 %), a najmanji postotak imao je uzorak R-LF s dodatkom rogačevog kiselog tijesta (0,06 %).

S obzirom na to da dodatkom kiselog tijesta, kruh postaje čvršći i lakše se reže, mrvljivost pri rezanju kruha je također manja. Iz tog razloga, svi kruhovi s dodatkom kiselog tijesta, a osobito rogačevog, imali su manji postotak mrvljivosti od kontrolnog uzorka. Isto tako, dodatkom rogačevog brašna se mrvljivost značajno smanjila i to za čak 26 puta, stoga bi ga bilo poželjno dodati u polupečeni smrznuti kruh kojemu je najveći nedostatak mrvljivost, odnosno ljuštenje kore.

#### 4.5. KEMIJSKI SASTAV KRUHA, KISELIH TIJESTA I ROGAČEVOG BRAŠNA

##### 4.5.1. Udio nutrijenata

Rezultati određivanja udjela nutrijenata u rogačevom brašnu prikazani su na slici 22.



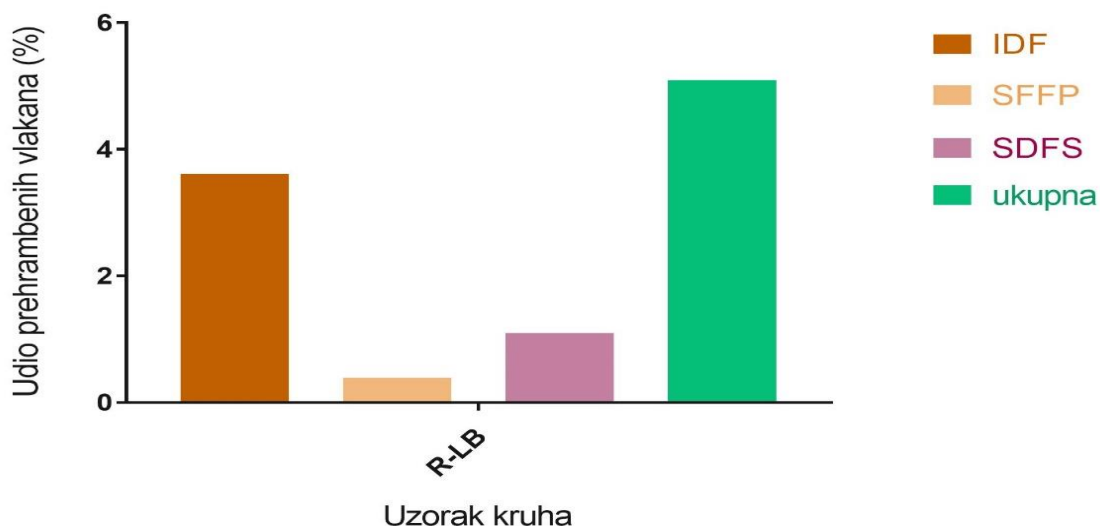
**Slika 22.** Nutritivna vrijednost brašna rogača izražena u postocima (%)

Rogačevo brašno sadržavalo je mali udio masti (0,6 %), relativno umjeren udio proteina (5,2 %) i velik udio šećera (48,2 %) te prehrambenih vlakana (33,15 %). Udio pepela iznosio je 2,9 %, a udio vode 8,9 %. Nakon fermentacije rogačevog kiselog tijesta udio ukupnih šećera se smanjio s 52,9 % na 45,4 % (izraženo na s.t.) što je očekivano jer mikroorganizmi tijekom fermentacije troše šećer.

Nadezhda i sur. (2017) su ispitali nutritivni sastav rogačevog brašna i udio masti iznosio je 0,5 %, udio proteina 5,9 %, udio pepela 2,3 %, udio vode 7,6 %, a udio ukupnih šećera 42,73 % što se podudara s rezultatima u ovom radu. Khelifa i sur. (2013) dobili su također približne rezultate. Dobiveni rezultati udjela prehrambenih vlakana također se podudaraju s već postojećim literaturnim podacima. Shawakfeh i Ereifej (2005) su utvrdili da se udio prehrambenih vlakana u brašnu od jordanskog rogača kreće između 4,2 - 39,8 %, ovisno o vrsti

prehrambenih vlakana koja se ispituju (netopljiva, topljiva ili ukupna). Stoga se može zaključiti kako je brašno rogača pogodno za obogaćivanje kruha prehrambenim vlaknima. Salinas i sur. (2015) su pokazali kako je brašno od pulpe rogača bogatije prehrambenim vlaknima (47 %) nego brašno sjemenki rogača (9 %).

Sastav i udio prehrambenih vlakana u kruhu s dodatkom kiselog tijesta prikazan je na slici 23.



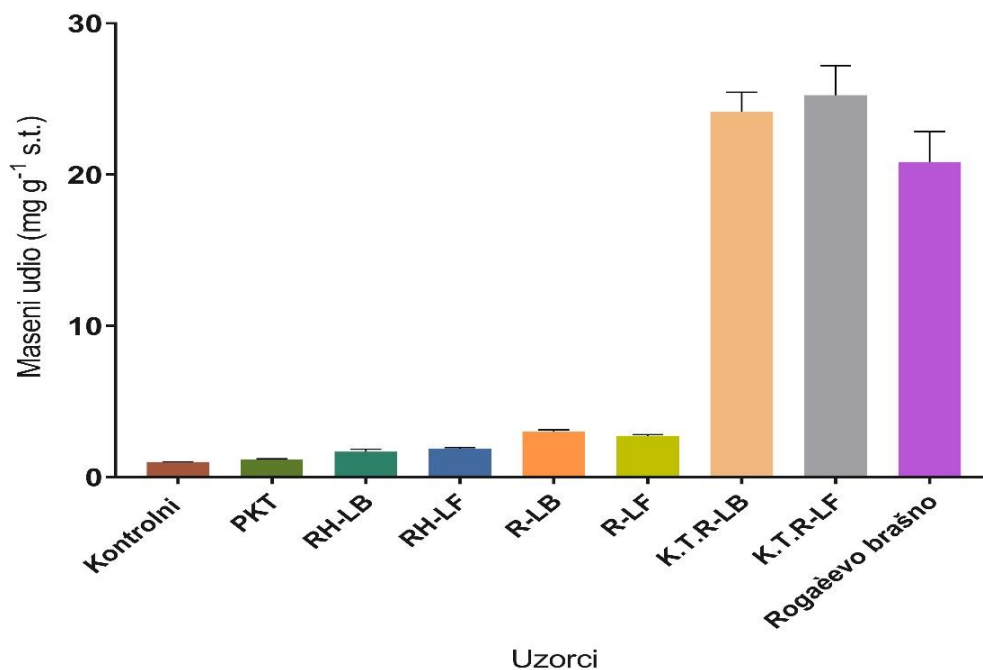
**Slika 23.** Srednje vrijednosti udjela netopljivih vlakana (IDF), vlakana topljivih u vodi i netopljivih u 78 %-tnom etanolu (SDFP), vlakana topljivih u vodi i 78 %-tnom etanolu (SDFS) te ukupnih vlakana u uzorku kruha R-LB s dodatkom rogačevog kiselog tijesta (%)

Kruh s dodatkom rogačevog kiselog tijesta sadržavao je 5,1 % ukupnih prehrambenih vlakana, od kojih je udio netopljivih 71 %, a topljivih 29 %.

Prema Pravilniku o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama (2010), hrana koja sadrži najmanje 3 g vlakana na 100 g naziva se izvorom vlakana. Stoga se kruh s dodatkom rogačevog kiselog tijesta može deklarirati kao "izvor vlakana", a to je od iznimne važnosti jer prehrambena vlakna pozitivno utječu na zdravlje čovjeka. Karakterizira ih mogućnost vezanja vode i stvaranja viskoznih gelova tijekom probave, što uzrokuje usporavanje pražnjenja želuca i crijeva, štiteći ugljikohidrate od razgradnje enzimima. Time se odgađa apsorpcija glukoze, snižava njezina koncentracija u krvi i na taj način se smanjuje LDL kolesterol i ukupni plazmatski kolesterol, čime se smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti (Šebečić i Dragojević, 2007).

#### 4.5.2. Udio ukupnih fenolnih spojeva

Udio ukupnih fenolnih spojeva u rogačevom kiselom tijestu, rogačevom brašnu te kruhovima s i bez dodatka kiselog tijesta prikazan je na slici 24.



**Slika 24.** Udio ukupnih fenolnih spojeva prikazan u obliku ekvivalenta galne kiseline na masu suhe tvari uzorka rogačevog brašna, rogačevih kiselih tijesta i kruha s rogačem u odnosu na pšenični kruh (mg g<sup>-1</sup> s.t.)

Udio ukupnih fenolnih spojeva u uzorcima statistički se značajno razlikuje ( $p < 0,05$ ). Najveći udio fenolnih spojeva imala su rogačeva kisela tijesta (24,16-25,25 mg g<sup>-1</sup> s.t.) te rogačevo brašno (20,83 mg g<sup>-1</sup> s.t.).

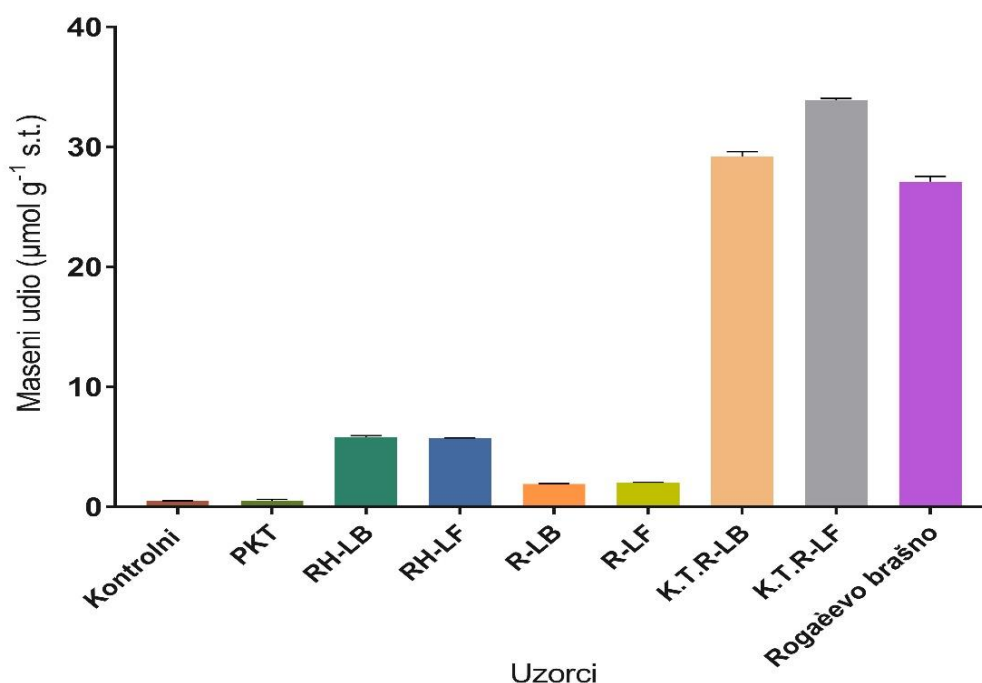
Khelifa i sur. (2013) su određivali udio ukupnih fenolnih spojeva u brašnu cijele mahune rogača. Udjeli su se kretali između 15,80 – 18,08 mg g<sup>-1</sup> s.t. Bouzdoudi i sur. (2016) su ispitali sastav brašna pulpe rogača koji se razlikovao ovisno o području uzgoja rogača. Udio ukupnih fenolnih spojeva u 20 uzoraka brašna pulpe rogača kretao se između 7,8 i 22,75 mg g<sup>-1</sup> s.t. Udio fenolnih spojeva varira ovisno o zrelosti ploda, procesu prerade mahune te prženju (Papagiannopoulos i sur., 2004; Scalbert i sur., 2005; Şahin i sur., 2009).

U usporedbi s kontrolnim uzorkom bez dodatka kiselog tijesta, čiji je udio fenolnih spojeva bio najmanji (10,03 mg g<sup>-1</sup> s.t.), kod uzoraka kruha proizvedenog s dodatkom pšeničnog kiselog tijesta te rogačevog kiselog tijesta fermentiranog s *L. brevis* i *L. fermentum* uz dodatak *S. cerevisiae*, došlo je do značajnog povećanja sadržaja ukupnih fenolnih spojeva izraženog kao ekvivalent galne kiseline. Dodatkom pšeničnog kiselog tijesta udio ukupnih fenolnih spojeva u kruhu se nije značajno povećao, dok se dodatkom rogačevog kiselog tijesta povećao za 2 - 3 puta.

Primjena kisele fermentacije tijesta povećava količinu slobodnih fenolnih spojeva u tijestu, a do smanjenja udjela ukupnih fenolnih spojeva u kruhu može doći kao posljedica degradacije određenih fenolnih spojeva uslijed utjecaja visokih temperatura kod pečenja tijesta (Han i Koh, 2011).

#### 4.5.3. Antioksidacijska aktivnost

Antioksidacijska vrijednost rogačevog kiselog tijesta, rogačevog brašna i kruhova s i bez dodatka kiselog tijesta prikazana je na slici 25.



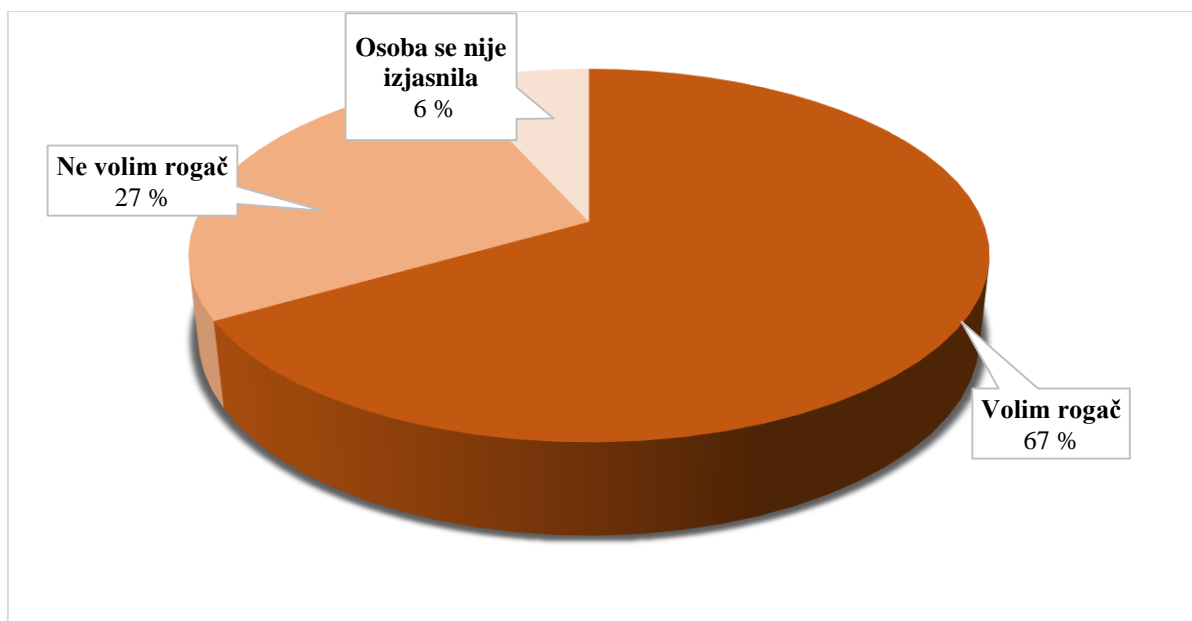
**Slika 25.** Antioksidacijska aktivnost uzoraka rogačevog brašna, rogačevih kiselih tijesta te kruha s rogačem u odnosu na pšenični kruh određena FRAP metodom (µmol g<sup>-1</sup> s.t.)

Antioksidacijska aktivnost uzoraka statistički se značajno razlikuje ( $p < 0,05$ ). Rogačevo brašno imalo je izraženu antioksidacijsku aktivnost ( $27,10 \mu\text{mol g}^{-1}$  s.t.), dok su kisela tijesta od rogačevog brašna fermentirana s dodatkom *L. brevis* ili *L. fermentum* te *S. Cerevisiae* imala još veću antioksidacijsku vrijednost ( $29,2 - 33,9 \mu\text{mol g}^{-1}$  s.t.), slično kao i udio ukupnih fenolnih spojeva. Utvrđen je visok i značajan koeficijent korelacije između TPC i antioksidacijske aktivnosti ( $r=0,988$ ). S obzirom na to da su fenolni spojevi nositelji antioksidacijske vrijednosti, bila je očekivana dosljednost s rezultatima TPC metode.

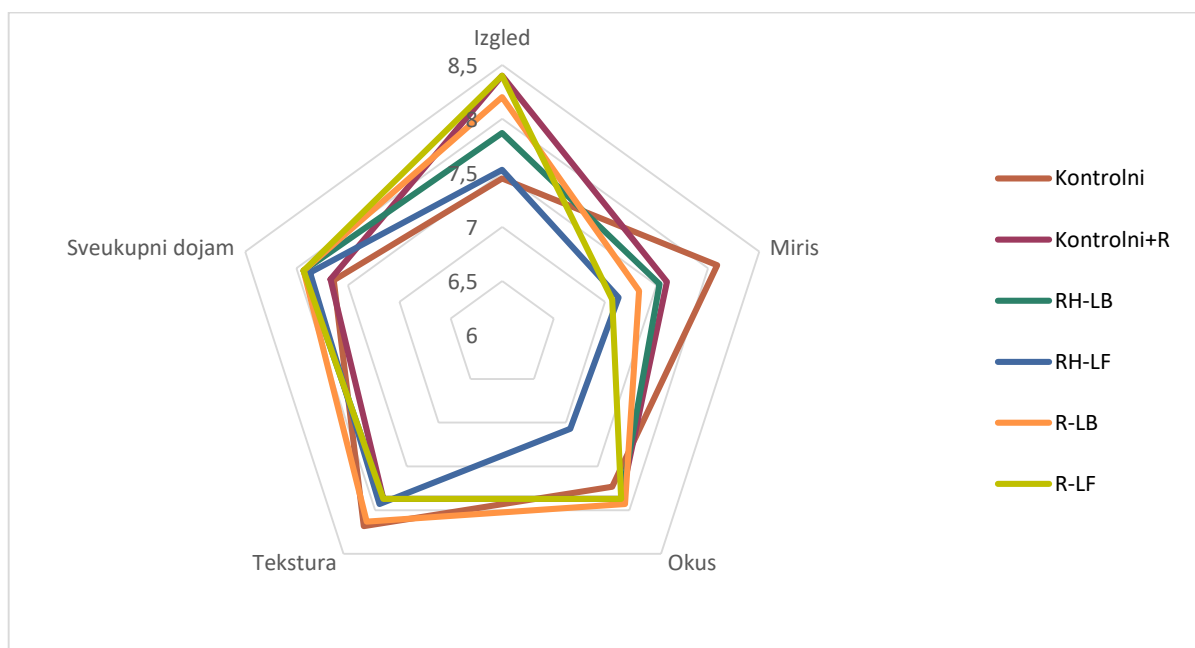
Benković i sur. (2017) su određivali antioksidacijsku aktivnost brašna rogača (pulpa sa sjemenkama) i udio se kretao između  $23,02$  i  $35,78 \mu\text{mol g}^{-1}$  s.t., što se podudara s dobivenim rezultatima u ovom radu. Kontrolni bijeli kruh bez dodatka kiselog tijesta ( $0,5 \mu\text{mol g}^{-1}$  s.t.) imao je najmanju antioksidacijsku aktivnost, dok se dodatkom kiselih tijesta od rogača, a pogotovo onih s dodatkom heljdinog brašna antioksidacijska aktivnost povećala za 4 - 12 puta. Razlog je veći antioksidacijski potencijal rogačevog i heljdinog brašna u odnosu na antioksidacijski potencijal bijelog pšeničnog brašna. Heljdino brašno je bogato flavonoidima (rutin i kvercetin) koji imaju jako antioksidacijsko djelovanje (Skrabanja i sur., 2004), što objašnjava zašto su uzorci s rogačevim kiselim tijestom s dodatkom heljdinog brašna imali veću antioksidacijsku aktivnost, a manji udio ukupnih fenolnih spojeva u odnosu na uzorke s rogačevim kiselim tijestom bez heljdinog brašna. S obzirom na to da je vidljiva razlika u antioksidacijskoj aktivnosti uzoraka s rogačevim kiselim tijestom s i bez dodatka heljdinog brašna, može se zaključiti kako je antioksidacijska aktivnost najviše ovisila o sirovini, a manje o starter kulturi korištenoj za fermentaciju kiselog tijesta.

#### **4.6. SENZORSKA ANALIZA**

Panel koji je bio različitih preferencija rogača (slika 26) opisno je ocijenio senzorska svojstva kruha: izgled, miris, okus, teksturu i sveukupni dojam, od opisa "Izrazito mi se sviđa" kojemu je dodijeljena ocjena 9, do "Izrazito mi se ne sviđa", kojemu je dodijeljena ocjena 1. Rezultati su prikazani na slici 27. Uzorci kruha su rangirani, ovisno o njihovim senzorskim svojstvima. Rezultati testa preferencije prikazani su na slici 28.



**Slika 26.** Dijagram preferencije rogača sudionika senzorske analize

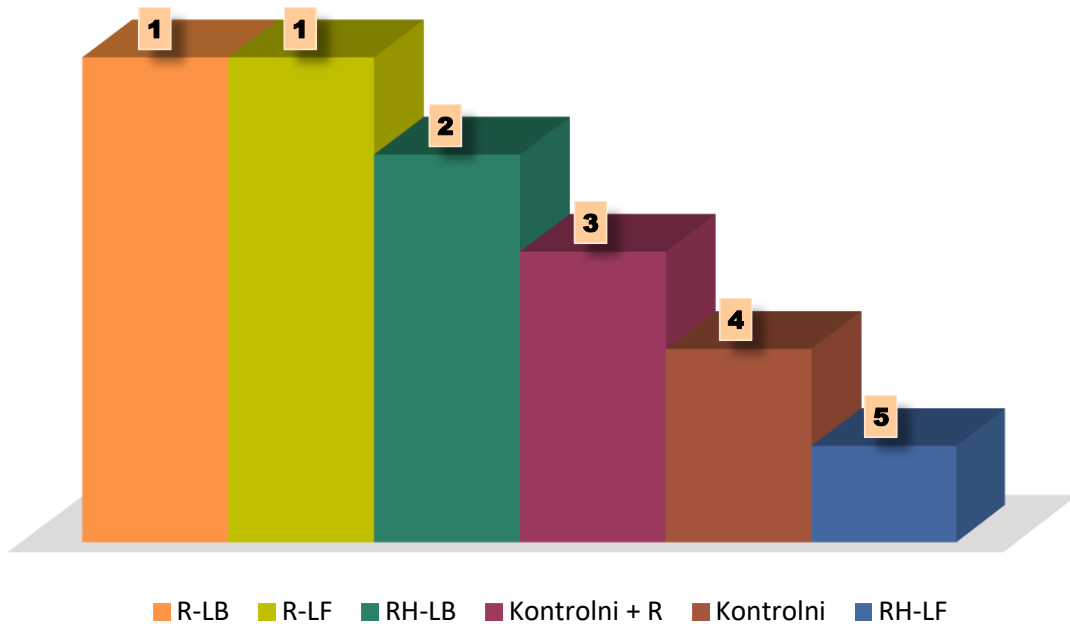


**Slika 27.** Prikaz srednjih vrijednosti rezultata senzorske analize uzoraka kruha

Statistički značajna razlika u ocjenama postoji jedino kod izgleda uzoraka kruha ( $p < 0,05$ ). Za izgled su najveću ocjenu dobili kontrolni uzorak s dodatkom rogačevog brašna i uzorak R-LF, a najmanju ocjenu kontrolni uzorak. Za sveukupni dojam najviše su ocjene dobili uzorci s



kiselim tijestom od rogačevog brašna i rogačevog i heljdinog brašna. Na testu preferencija, najbolje rangirani uzorci bili su R-LB i R-LF s dodatkom rogačevog kiselog tijesta (slika 28).



**Slika 28.** Prikaz rezultata testa preferencije (1-najbolje rangirani uzorak, 5-najlošije rangirani uzorak)

Na temelju dobivenih rezultata vidljivo je da rogačevo kiselo tijesto zahvaljujući udjelu prehrambenih vlakana i ukupnih fenolnih spojeva, nutritivno obogaćuje kruh, daje kruhu tehnološke pogodnosti i takav se kruh, što je iznimno bitno, sviđa potrošačima. Prema tome, rogačevo kiselo tijesto je obećavajući funkcionalni sastojak za proizvodnju pekarskih proizvoda.

## 5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog rada bio je dodatkom rogačevog kiselog tijesta (s i bez dodatka heljdinog brašna) fermentiranog sa starter kulturama *Lactobacillus brevis* ili *Lactobacillus fermentum* i kvascem *Saccharomyces cerevisiae* te dodatkom samog rogačevog brašna u zamjes, nutritivno obogatiti polupečeni smrznuti kruh bez narušavanja njegove tehnološke i organoleptičke kvalitete.

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti:

1. Rogačevo brašno je zbog velikog udjela prehrambenih vlakana (33,15 %) i fenolnih spojeva (20,834 mg g<sup>-1</sup> s.t.) te velike antioksidacijske aktivnosti (27,10 μmol g<sup>-1</sup> s.t.) pogodno za obogaćivanje bijelog pšeničnog kruha. Nadalje, rogačevo brašno je poželjna sirovina za pripremu kiselog tijesta s dodatkom *L. brevis* i *L. fermentum* uz prisustvo *S. cerevisiae* s obzirom na to da su izmjerene vrijednosti pH i ukupne kiselosti tijesta te broj živih stanica mikroorganizama u tijestu, tipične za kisela tijesta.
2. Rogačevo kiselo tijesto s dodatkom heljdinog brašna (20 %) u odnosu na krušno pšenično tijesto ima mekšu konzistenciju (420 - 430 FJ), a rogačevo kiselo tijesto bez dodatka heljdinog brašna (20 %), kao i samo rogačevo brašno (9 %) tvrđu konzistenciju (520 - 570 FJ).
3. Svi uzorci s dodatkom kiselog tijesta (pšeničnog i rogačevog) i s dodatkom samog rogačevog brašna imaju veći specifični volumen od pšeničnog kruha. Tekstura sredine kruha značajno korelira s konzistencijom tijesta, stoga je pri dodatku posebnih sastojaka potrebno uvijek optimirati dodatak vode za zamjes. Dodatkom rogačevog kiselog tijesta ili brašna u pšenični kruh se značajno smanjuje mrvljivost pri rezanju i takav kruh je izraženo tamnije boje.
4. Kruh s dodatkom rogačevog brašna ili kiselog tijesta može se označiti kao "izvor vlakana" s obzirom na to da takav proizvod sadrži više od 3 g ukupnih prehrambenih vlakana na 100 g kruha.

5. Vrijednosti udjela fenolnih spojeva u kruhu s dodatkom rogačevog kiselog tijesta veće su za 2 - 3 puta u odnosu na bijeli pšenični kruh, kao i vrijednosti njegove antioksidacijske aktivnosti koje su veće za 4 puta. Najveće povećanje antioksidacijske aktivnosti se postiže dodatkom rogačevog kiselog tijesta s dodatkom heljdinog brašna (za 11 - 12 puta povećano u odnosu na bijeli kruh).
6. Potrošači su najbolje ocijenili kruhove s dodatkom rogačevog kiselog tijesta, stoga se može reći da rogačevo kiselo tijesto ima veliki potencijal za nutritivno obogaćivanje pekarskih proizvoda, a optimiranjem procesa kiseljenja i izrade kruha bi se osigurala prihvaćenost kod većeg broja potrošača.

Na temelju svega navedenog može se zaključiti kako se dodatkom rogačevog kiselog tijesta u pšenični kruh ne narušavaju njegova tehnološka i organoleptička svojstva, a neka se poboljšavaju te je takav proizvod nutritivno bogatiji, može se deklarirati kao "izvor vlakana" i sviđa se potrošačima. U usporedbi s kruhom kojemu je dodano samo brašno rogača, kruh s rogačevim kiselim tijestom je svjetlije boje i boljeg okusa, stoga je prihvatljiviji kod potrošača. Ako se usporede kruhovi s dodatkom rogačevog kiselog tijesta s i bez heljdinog brašna, kruh s kiselim tijestom bez heljdinog brašna se manje mrvlji pri rezanju i boljeg je okusa, dok je prednost kruha s kiselim tijestom s dodatkom heljdinog brašna veća antioksidacijska aktivnost i nešto svjetlija boja. Između starter kulture *L. brevis* i *L. fermentum* u većini ispitivanih svojstva nema značajnih razlika osim kod teksture kruha; kruh s rogačevim kiselim tijestom fermentiranim s *L. brevis* je nešto tvrdi nego kruh s kiselim tijestom fermentiranim s *L. fermentum*.

## 6. LITERATURA

1. AACC International Approved Methods (2000) Method 10-05.01 Guidelines for Measurement of Volume by Rapeseed Displacement. St. Paul, MN, U.S.A.
2. AACC International Approved Methods (2000) Method 54-22.01 Rheological Behavior of Flour by Farinograph: Constant Dough Weight Procedure. St. Paul, MN, U.S.A.
3. AACC International Approved Methods (2000) Method 54-22.01 Rheological Behavior of Flour by Farinograph: Constant Dough Weight Procedure. St. Paul, MN, U.S.A.
4. AACC International Approved Methods (2000) Method 74-09.01 Measurement of Bread Firmness by Universal Testing Machine. St. Paul, MN, U.S.A.
5. AACC International Approved Methods (2000) Method 74-09.01 Measurement of Bread Firmness by Universal Testing Machine. St. Paul, MN, U.S.A.
6. Adekunle, A., Tiwari, B., Cullen, P., Scannell, A., O'Donnell, C. (2010) Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chem.* **122**, 500-507.
7. Anonymous 1, <http://www.australiancarobs.com/gallery.php>. Pristupljeno 16. kolovoza 2018.
8. Anonymous 2, <http://enfo.agt.bme.hu/drupal/en/node/2134>>. Pristupljeno 14. kolovoza 2018.
9. Anonymous 3 (2009, 13. kolovoza) "Probiotics: The Answer to Many Mystery Illnesses" Right Now! *Pro-microbe* [online] <http://promicrobe.blogspot.com/2009/08/promicrobe.html>>. Pristupljeno 14. kolovoza 2018.
10. AOAC International Official Method (2012) Method 2011.25 Insoluble, Soluble, and Total Dietary Fiber in Foods Enzymatic - Gravimetric - Liquid Chromatography. Rockville, MN, U.S.A.
11. Arendt, E. K. (2004) Wheat sourdough fermentation - Effects of time and acidification on fundamental rheological properties. *Cereal Chem.* **81**, 409-417.
12. Arendt, E. K., Zannini, E. (2013) Buckwheat. U: Cereal grains for the food and beverage industries, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, str. 369-400.
13. Ayaz, F. A., Torun, H., Glew, R. H., Bak, Z. D., Chuang, L. T., Presley, J. M, Andrews, R. (2009) Nutrient content of carob pod (*Ceratonia siliqua* L.) flour prepared commercially and domestically. *Plant. Food Hum. Nutr.* **64**, 286-292.

14. Bakaliko crete (2014) The amazing carob “st. John’s bread”, <<https://www.bakalikocrete.com/theamazingcarob/>>. Pristupljeno 16. kolovoza 2018.
15. Banu, J., Vasilean, I., Aprodu, I. (2010) Effect of Lactic Fermentation on Antioxidant Capacity of Rye Sourdough and Bread. *Food Sci. Technol.* **16**, 571 - 576.
16. Barber, B., Ortola, C., Barber, S., Fernandez, F. (1992) Storage of packaged whitebread. III. Effect of sourdough and addition of acids on bread characteristics. *Int. J. Food Sci. Tech.* **194**, 442-449.
17. Barber, B., Ortola, C., Barber, S., Fernandez, F. (1992) Storage of packaged whitebread. III. Effect of sourdough and addition of acids on bread characteristics. *Int. J. Food Sci. Tech.* **194**, 442-449.
18. Barcenas, M., Rosell, C. (2006) Effect of frozen storage time on the bread crumb and aging of par - baked bread. *Food Chem.* **95**, 438-445.
19. Benković, M. (2013) Fizikalno - kemijska i senzorska svojstva obogaćenih praškastih mješavina na bazi kave, Doktorski rad, Prehrambeno - biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
20. Benković, M., Belščak-Cvitanović, A., Bauman, I., Komes, D., Srećec, S. (2017) Flow properties and chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua* L.) flours as related to particle size and seed presence. *Food Res. Int.* **100**, 211-218.
21. Biacs, P., Aubrecht, E., Leder, I., Lajos, J. (2002) Buckwheat. U: Pseudocereals and less common cereals: Grain properties and utilization potential, Springer, Berlin, str. 123-147.
22. Bonafaccia, G., Marocchini, M., Kreft, I. (2003) Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. *Food Chem.* **80**, 349-355.
23. Bouzdoudi, B. E., Ansari, Z. N. E., Mangalagiu, I., Mantu, D., Badoc, A., Lamarti, A. (2016) Determination of polyphenols content in carob pulp from wild and domesticated moroccan trees. *Am. J. Plant Sc.* **7**, 1937-1951.
24. Cauvain, S. P. (2015) Dough Retarding and Freezing. U: Technology of Breadmaking, 3. izd., Springer, London, str. 183-212.
25. Collar, C., Benedito de Barber, C., Martinez-Anaya, M. A. (1994) Microbial sourdoughs influence acidification properties and bread - making potential of wheat dough. *J. Food Sci.* **59**, 629–633.

26. Corsetti, A., Settanni, L. (2007) Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Res. Int.* **40**, 539-558.
27. Čukelj, N., Ajredini, S., Krpan, M., Novotni, D., Voučko, B., Vrana Špoljarić, I., Hruškar, M., Ćurić, D. (2015) Bioactives in organic and conventional milled cereal products from Croatian market. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam.* **10**, 23-30.
28. Ćurić, D., Novotni, D., Smerdel, B. (2014) Bread making. U: Engineering aspects of cereal and cereal - based products, CRC Press, str. 149-174.
29. Dalić, D. K. D., Deschamps, A. M., Richard, F. (2010) Forget Lactic acid bacteria - Potential for control of mould growth and mycotoxins - A review. *Food Control.* **21**, 370-380.
30. Decock, P., Cappelle, S. (2005) Bread technology and sourdough technology: review. *Trends Food Sci. Technol.* **16**, 113-20.
31. Dionísio, M., Grenha, A. (2012) Locust bean gum - exploring its potential for biopharmaceutical applications. *J. Pharm. Bioallied Sci.* **4**, 175.
32. Dionísio, M., Grenha, A. (2012) Locust bean gum: exploring its potential for biopharmaceutical applications. *J. Pharm. Bioallied Sci.* **4**, 175.
33. Duraković, S., Duraković, L. (1997) Priručnik za rad u mikrobiološkom laboratoriju, Durieux, Zagreb.
34. Durazzo, A. (2013) Extraction for evaluation of total polyphenol content (TPC) and antioxidant properties. *Food Chem.* **140**, 667.
35. Durazzo, A., Turfani, V., Narducci, V., Azzini, E., Maiani, G., Carcea, M. (2014) Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food Chem.* **153**, 109-113.
36. FAO (2013) FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations, <http://faostat3.fao.org/compare/E>. Pristupljeno 15. kolovoza 2018.
37. Gharnit, N., Mtili, N. E., Ennabili, A., Sayah, F. (2004) Pomological characterization of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) from the province of Chefchaouen (NW of Morocco). *Moroccan J. Biol.* **1**, 1-11.
38. Giannou, V., Tzia, C. (2007) Frozen dough bread: Quality and textural behavior during prolonged storage - Prediction of final product characteristics. *J. Food Eng.* **79**, 929-934.
39. Gobbetti, M., Rizzello, C. G., Di Cagno, R., De Angelis, M. (2006) Sourdough lactobacilli and celiac disease. *Food Microbiol.* **24**, 187-196.

40. Gontia-Mishra, I., Tiwari, S. (2013) Molecular characterization and comparative phylogenetic analysis of phytases from fungi with their prospective applications. *Food Technol. Biotechnol.* **51**, 313-326.
41. Granato, D., Masson, M. L. (2010) Instrumental color and sensory acceptance of soy - based emulsions: a response surface approach. *Ciencia Tecnol Alime.* **30**, 1090-1096. doi: 10.1590/S0101-20612010000400039
42. Grba, S., Stehlik-Tomas, V. (2010) Primjena kvasaca u pekarstvu. U: *Kvasci u biotehnološkoj proizvodnji*, (Grba, S., ured.), Plejada, Zagreb, str. 319-323.
43. Hammes, W. P., Vogel, R. F. (1995) The genus *Lactobacillus*. U: *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, (Wood, B. J. B., Holzappel, W., ured.), Blackie, London, str. 19-54.
44. Han, H. M., Koh, B. K. (2011) Antioxidant activity of hard wheat flour, dough and bread prepared using various processes with the addition of different phenolic acids. *J. Sci. Food Agric.* **91**, 604-608.
45. HRN EN ISO 2171:2010, Žitarice - Određivanje ukupnog pepela spaljivanjem (osnovna referentna metoda).
46. HRN EN ISO 712:2010, Žitarice i proizvodi od žitarica - Određivanje količine vode (osnovna referentna metoda).
47. HRN ISO 1871:1999, Poljoprivredni prehrambeni proizvodi - Općenite upute za određivanje dušika Kjeldahlovom metodom (osnovna referentna metoda).
48. Hugenholtz, J., Smid, E. J. (2002) Nutraceutical production with food - grade microorganisms. *Curr. Opin. Biotech.* **13**, 497-507.
49. ICC Standard Method (1980) Method 131 Method for Test Baking of Wheat Flours. Beč, Austrija.
50. ICC Standard Method (1992) Method 151/1 Method for using the Brabender Farinograph. Beč, Austrija.
51. Iipumbu, L. (2008) Compositional analysis of locally cultivated carob (*Ceratonia siliqua*) cultivars and development of nutritional food products for a range market sectors. Master of Science in Food Science, Department of Food Science, Faculty of AgriSciences, Stellenbosch University.
52. Ireks aroma d.o.o. (2017) Kiselo tijesto i slad: pravo rješenje i bogatstvo za pekare - Fermentacija kiselog tijesta - istovremeno fascinantno i izazovno, <<http://www.ireks-aroma.hr>>. Pristupljeno 13. kolovoza 2018.

53. Katina, K., Arendt, E., Liukkonen, K. H., Autio, K., Flander, L., Poutanen, K. (2005) Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends Food Sci. Technol.* **16**, 104-112.
54. Katina, K., Sakmenkallio-Marttila, M., Partanen, R., Forselli, P., Autio, K. (2006) Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread. *Food Sci. Technol-leb.* **39**, 479-491.
55. Ketabi A., Soleimanian-Zad S., Kadivar M., Sheikh-Zeinoddin M. (2008) Production of microbial exopolysaccharides in the sourdough and its effects on the rheological properties of dough. *Food Research International.* **41**, 948-951.
56. Khelifa, M., Bahloul, A., Kitane, S. (2013) Determination of chemical composition of carob pod (*Ceratonia siliqua* L) and its morphological study. *J. Mater. Env. Sci.* **4**, 348-353.
57. Klarić, F. (2017) *Suvremene tehnologije u pekarstvu i slastičarstvu - sirovine i proizvodi*, Tim zip d.o.o., Zagreb.
58. Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M., Nakayama, T. (2002) Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *J. Agr. Food Chem.* **50**, 373-377.
59. Lappi, J., Selinheimo, E., Schwab, U., Katina, K., Lehtinen, P., Mykkanen, H., Kolehmainen, M., Poutanen, K. (2010) Sourdough fermentation of wholemeal wheat bread increases solubility of arabinoxylan and protein and decreases postprandial glucose and insulin responses. *J. Cereal Sci.* **51**, 152-158.
60. Moore, M. M., Dal Bello, F., Arent, E. K. (2008) Sourdough fermented by *Lactobacillus plantarum* FST 1.7 improves the quality and shelf life of gluten - free bread. *Eur. Food Res. Technol.* **226**, 1309-1316.
61. Mrvčić, J., Mikelec, K., Stanzer, D., Križanović, S., Grba, S., Bačun-Družina, V., Stehlik -Tomas, V. (2011) Kiselo tijesto - tradicionalna i prirodna metoda za povećanje kvalitete pekarskih proizvoda. *Croat. J. Food Technol.* **6**, 89-99
62. Nasar-Abbas, S. M., Vu, T. H., Khan, M. K., Esbenshade, H., Jayasena, V. (2016) Carob Kibble: A Bioactive - Rich Food Ingredient. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **15**, 63-72.
63. Ortega, N., Macià, A., Romero, M. P., Reguant, J., Motilva, M. J. (2011) Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in - vitro digestion model. *Food Chem.* **124**, 65-71.



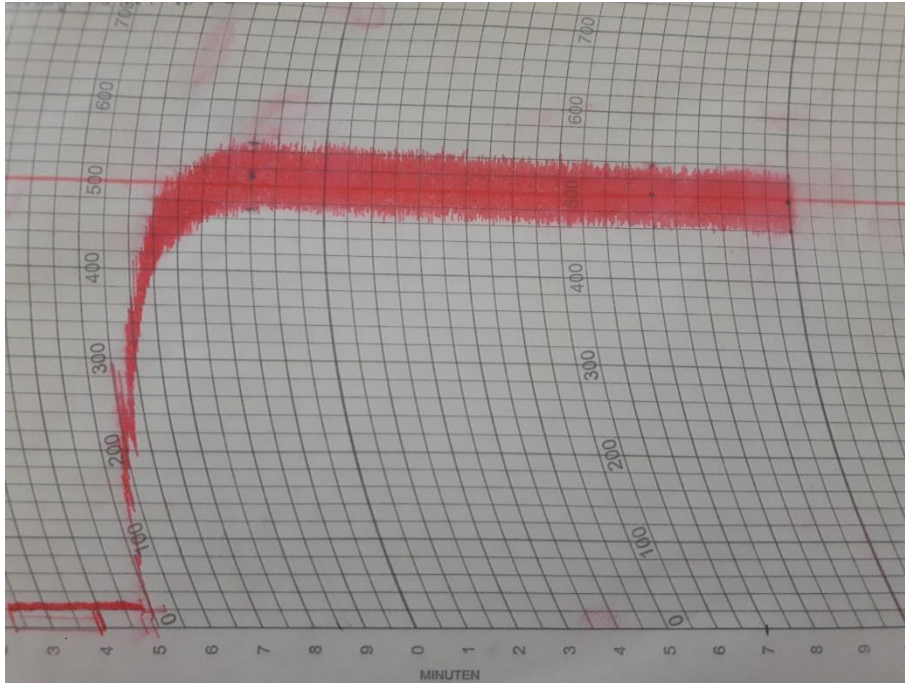
64. Östman, E. M., Liljeberg, H. G. M., Bjorck, E., Bjorck I. M. E. (2002) Barley Bread Containing Lactic Acid Improves Glucose Tolerance at a Subsequent Meal in Healthy Men and Women. *J. Nutr.* **132**, 1173-1175.
65. Papagiannopoulos, M., Wollseifen, H. R., Mellenthin, A., Haber, B., Galensa, R. (2004) Identification and quantification of polyphenols in Carob Fruits (*Ceratonia siliqua* L.) and derived products by HPLC-UV-ESI/MS n. *J. Agr. Food Chem.* **52**, 3784-3791.
66. Pathare, P. B., Opara, U. L., Al-Said, F. A. (2013) Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol.* **6**, 36-60. doi: 10.1007/s11947-012-0867-9
67. Petkova, N., Petrova, I., Ivanov, I., Mihov, R., Hadjikinova, R., Ognyanov, M., Nikolova, V. (2017) Nutritional and antioxidant potential of carob (*Ceratonia siliqua*) flour and evaluation of functional properties of its polysaccharide fraction. *J. Pharm. Sci.* **9**, 2189-2195.
68. Poutanen, K., Flander, L., Katina, K. (2009) Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiol.* **26**, 693-699
69. Pravilnik o prehrabnim i zdravstvenim tvrdnjama (2010) *Narodne novine* **84**, Zagreb (NN 84/10).
70. Pravilnik o šećerima i metodama analiza šećera namijenjenih za konzumaciju (2009) *Narodne novine* **39**, Zagreb (NN 39/09).
71. Rasper, V. F., Walker, C. E. (2000) Quality evaluation of cereals and cereal products. U: Handbook of Cereal Science and Technology, 2. izd., (Kulp, K., Ponte, J. G. Jr., ured.), Marcel Dekker, Inc., New York.
72. Rizzello, C. G., Samuel Fernández-Tomé, B., Curiel, J. A., Pinto, D., Marzani, B., Coda, R., Gobbetti, M. (2015) Italian legumes - effect of sourdough fermentation on lunasin-like polypeptides. *Microb Cell Fact.* **14**, 168.
73. Rosa, C. S., Tessele, K., Prestes, R. C., Silveira, M., Franco, F. (2015) Effect of substituting of cocoa powder for carob flour in cakes made with soy and banana flours. *IFRJ.* **22**, 2111-2118.
74. Rosell, C. M., Gomez, M. (2007) Frozen Dough and Partially Baked Bread - An Update. *Food Rev. Int.* **23**, 303-319.
75. Sabanis, D., Lebesi, D., Tzia, C. (2009) Effect of dietary fibre enriched on selected properties of gluten-free bread. *LWT - Food Sci. Technol.* **42**, 1380-1389.

76. Şahin, H., Topuz, A., Pischetsrieder, M., Özdemir, F. (2009) Effect of roasting process on phenolic, antioxidant and browning properties of carob powder. *Eur. Food Res. Technol.* **230**, 155-161.
77. Salinas, M. V., Carbas, B., Brites, C., Pupp, M. C. (2015) Influence of different carob fruit flours (*Ceratonia siliqua* L.) on wheat dough performance and bread quality. *Food Bioprocess Technol.* doi: 10.1007/s11947-015-1527-7
78. Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit. Rev. Food Sci.* **45**, 287-306.
79. Shawakfeh, K., Ereifej, K. I. (2005) Pod characteristics of two *Ceratonia siliqua* L. varieties from Jordan. *Ital. J. Food Sci.* **17**, 187-194.
80. Skrabanja, V., Kreft, I., Golob, T., Modic, M., Ikeda, S., Kreft, S., Bonafaccia, G., Knapp, M., Kosmelj, K. (2004) Nutrient content in buckwheat milling fractions. *Cer. Chem.* **81**, 172-176.
81. Spicher, G., Stephan, H. (1993) *Hanbuch Sauerteig. Biologie, Biochemie, Technologie.* BBV Wirtschaftsinformationen GmbH, Hamburg.
82. Storck, C. R., Zavareze, E. da R., Gularte M. A., Elias, M., C., Rosell, C. M., Dias, A. R. (2013) Protein enrichment and its effects on gluten - free bread characteristics. *LWT - Food Sci. Technol.* **53**, 346-354.
83. Strikić, F., Čmelik, Z., Perica, S. (2006) Morfološke osobine dva perspektivna tipa rogača (*Ceratonia siliqua* L.) s otoka Visa. *Pomologia Croatica.* **12**, 245-253.
84. Svensson, L. (2012) Design and Performance of Small Scale Sensory Consumer Tests, diplomski rad, The Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Švedska.
85. Šebečić, B., Vedrina Dragojević, I. (2007) Biokemija prehrane - Osnovni sastojci i energetska vrijednost namirnica. Zavod za kemiju prehrane, FBF, Zagreb, str. 17, 45-79, 96-97.
86. Šoronja-Simović, D. M., Smole-Možina, S., Raspor, P., Maravić, N. R., Zahorec, J. J., Luskar, L., Šereš, Z. I. (2016) Carob flour and sugar beet fiber as functional additives in bread. *apteff.* **47**, 83-93.
87. Thiele, C., Grassl, S., Ganzle, M. G. (2004) Gluten hydrolysis and depolymerisation during sourdough fermentation. *J. Agr. Food Chem.* **52**, 1307-1314.
88. Tsatsaragkou, K., Kara, T., Ritzoulis, C., Mandala, I., Rosell, C. M. (2017) Improving carob flour performance for making gluten - free breads by particle size fractionation and jet milling. *Food Bioprocess Technol.* **10**, 831-841.

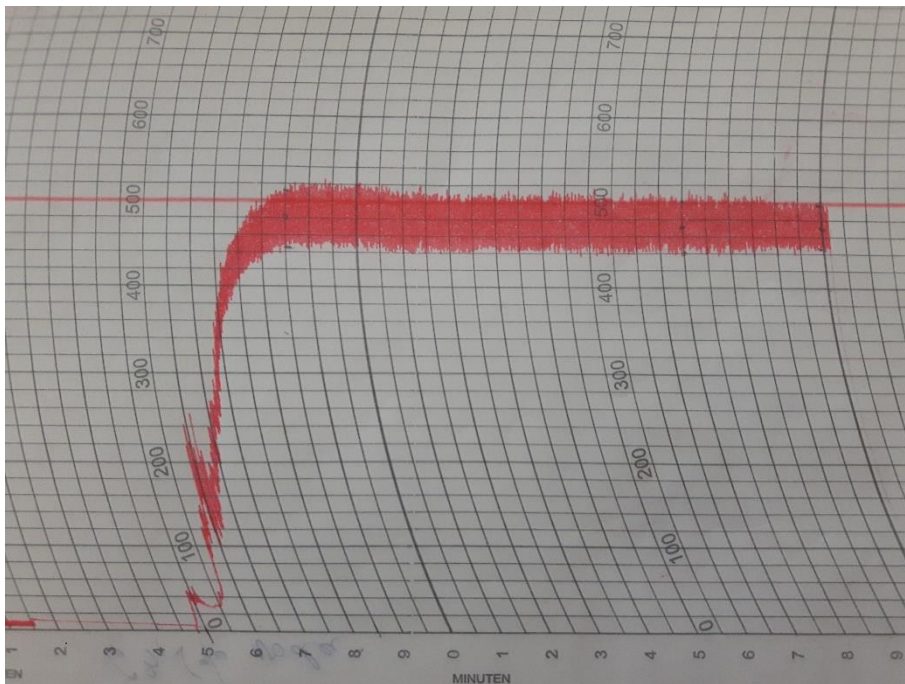
89. Turfani, V., Narducci, V., Durazzo, A., Galli, V., Carcea, M. (2017) Technological, nutritional and functional properties of wheat bread enriched with lentils or carob flours. *LWT - Food Sci. Technol.* doi: 10.1016/j.lwt.2016.12.030.
90. Voučko, B. (2018) Primjena nusproizvoda prehrambene industrije i inovativnih tehnologija u razvoju pekarskih proizvoda za oboljele od celijakije i šećerne bolesti, Doktorski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet u Zagrebu, Zagreb.
91. Yousif, A. K., Alghzawi, H. M. (2000) Processing and characterization of carob powder. *Food Chem.* **69**, 283-287.
92. Youssef, M. K. E., Manfaloty, M. M. E., Ali, H. M. (2013) Assessment of proximate chemical composition, nutritional status, fatty acid composition and phenolic compounds of carob (*Ceratonia Siliqua L.*). *Food and Public Health.* **3**, 304-308.

## 7. PRILOZI

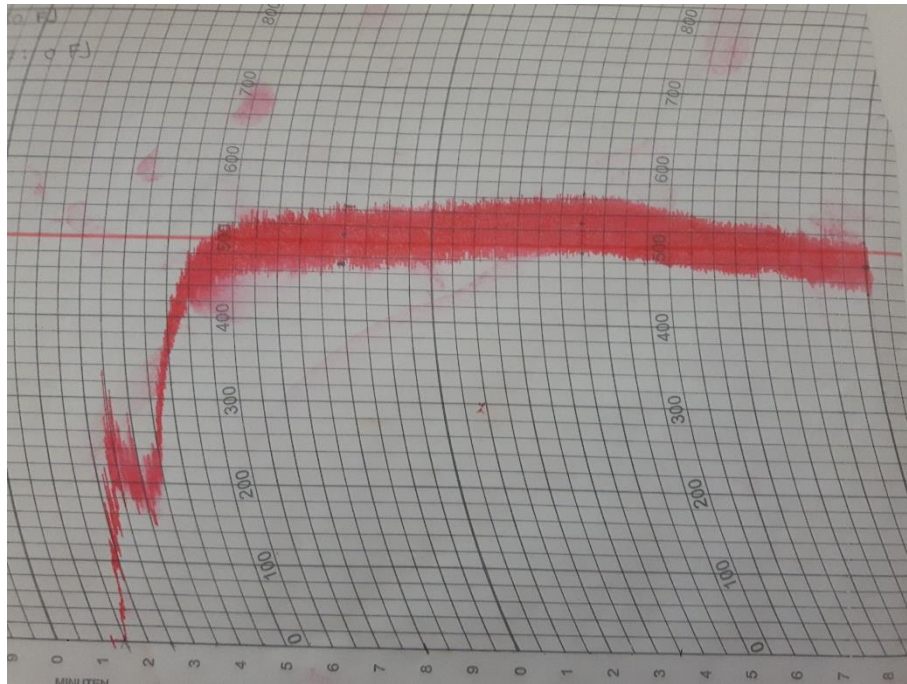
### Prilog 1. Farinogrami



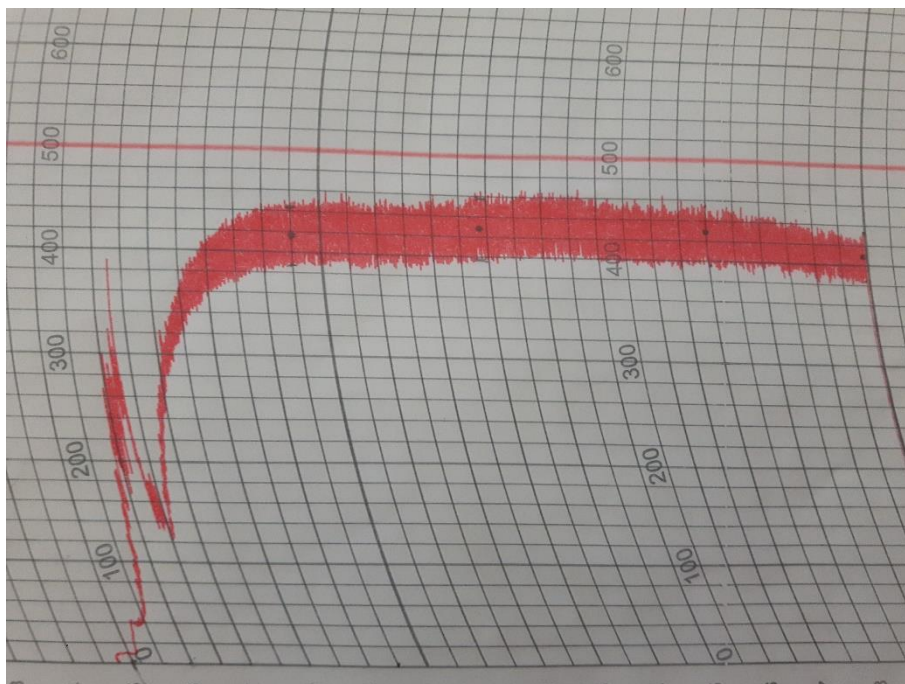
**Slika 1.** Farinogram za kontrolni uzorak



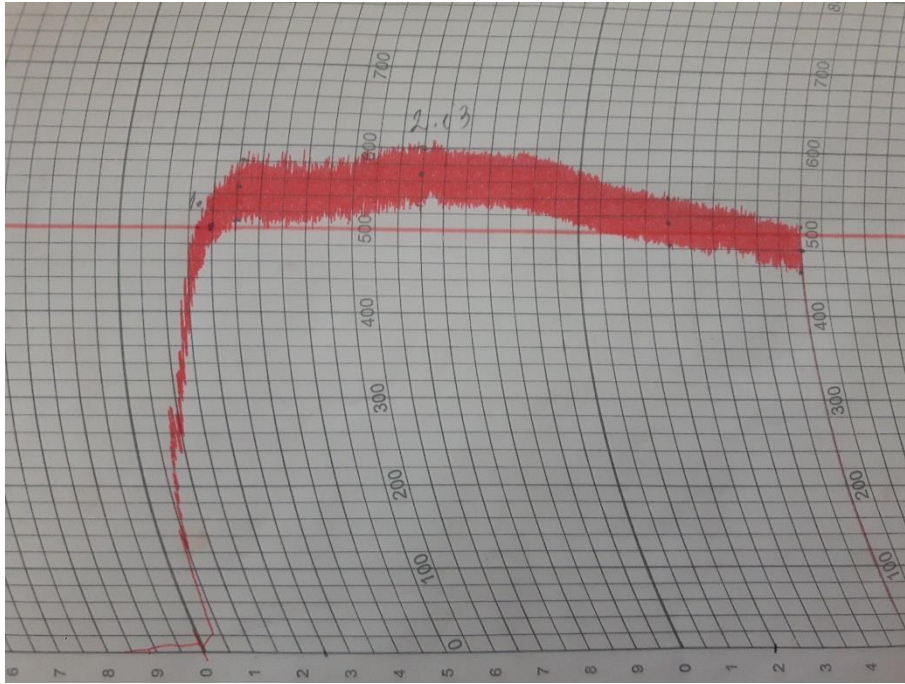
**Slika 2.** Farinogram za uzorak PKT



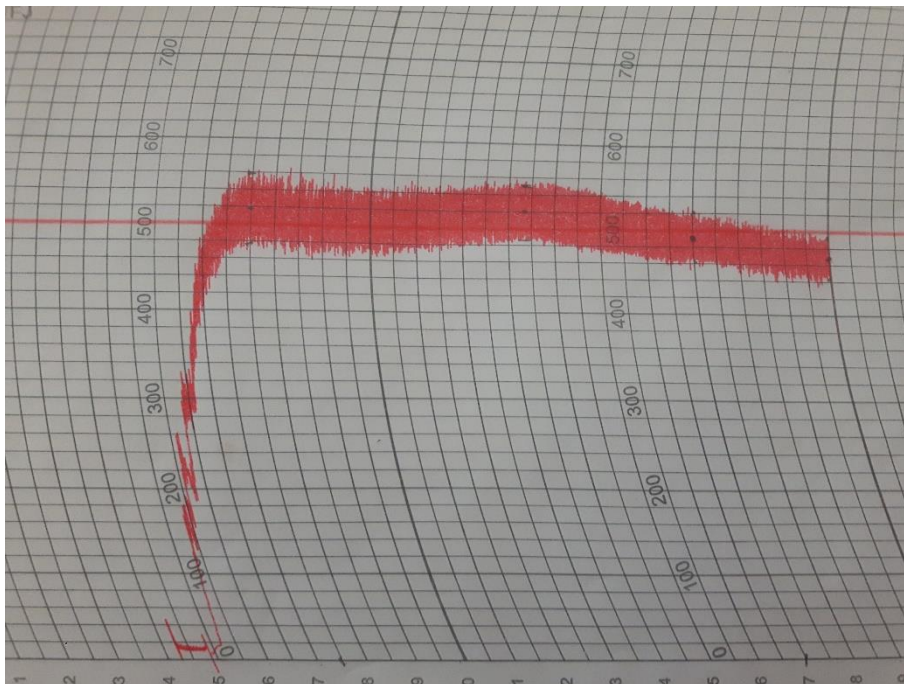
**Slika 3.** Farinogram za uzorak kontrolni + R



**Slika 4.** Farinogram za uzorak RH-LF

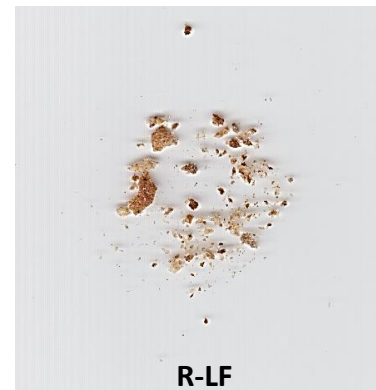
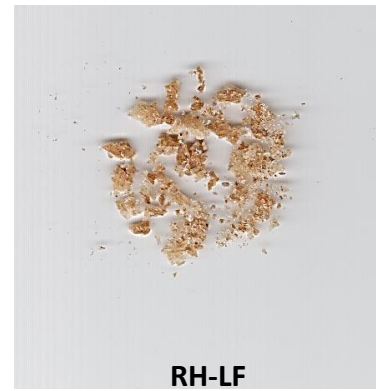
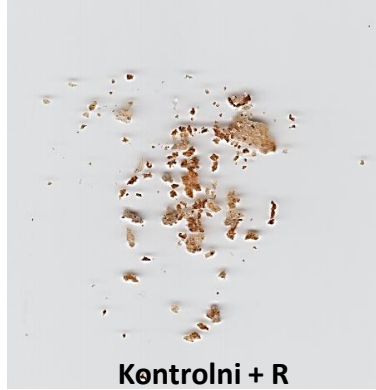


**Slika 5.** Farinogram za uzorak R-LB



**Slika 6.** Farinogram za uzorak R-LF

**Prilog 2.** Prikaz mrvica uzoraka kruha



**Prilog 3.** Prikaz vanjskog izgleda i izgleda sredine (poprečnog presjeka) uzoraka kruha



**Slika 7.** Vanjski izgled uzoraka kruha (1- Kontrolni + R, 2- R-LB, 3-R-LF, 4-PKT, 5-RH-LF, 6- RH-LB, 7- Kontrolni uzorak)





**Slika 8.** Poprečni presjek uzoraka kruha različitog sastava snimljen na skeneru (u PNG formatu i rezoluciji 600 DPI)

#### **Prilog 4.** Primjer testa za senzorsku analizu kruha

Dobrodošli i hvala na sudjelovanju ☺

#### **Hedonistička skala od 9 bodova / stupanj sviđanja**

Molim Vas da kvantificirate stupanj sviđanja ili nesviđanja uzorka kruha. Ocijenite svaki atribut zasebno. Sjetite se isprati usta vodom između uzoraka.

#### **Izgled**

- Izrazito mi se sviđa
- Veoma mi se sviđa
- Umjereno mi se sviđa
- Neznatno mi se sviđa
- Niti mi se sviđa niti ne sviđa
- Neznatno mi se ne sviđa
- Umjereno mi se ne sviđa
- Veoma mi se ne sviđa
- Izrazito mi se ne sviđa

#### **Okus**

- Izrazito mi se sviđa
- Veoma mi se sviđa
- Umjereno mi se sviđa
- Neznatno mi se sviđa
- Niti mi se sviđa niti ne sviđa
- Neznatno mi se ne sviđa
- Umjereno mi se ne sviđa
- Veoma mi se ne sviđa
- Izrazito mi se ne sviđa

#### **Miris**

- Izrazito mi se sviđa
- Veoma mi se sviđa
- Umjereno mi se sviđa
- Neznatno mi se sviđa
- Niti mi se sviđa niti ne sviđa
- Neznatno mi se ne sviđa
- Umjereno mi se ne sviđa
- Veoma mi se ne sviđa
- Izrazito mi se ne sviđa

#### **Tekstura**

- Izrazito mi se sviđa
- Veoma mi se sviđa
- Umjereno mi se sviđa
- Neznatno mi se sviđa
- Niti mi se sviđa niti ne sviđa
- Neznatno mi se ne sviđa
- Umjereno mi se ne sviđa
- Veoma mi se ne sviđa
- Izrazito mi se ne sviđa

## Sveukupno

- Izrazito mi se sviđa
- Veoma mi se sviđa
- Umjereno mi se sviđa
- Neznatno mi se sviđa
- Niti mi se sviđa niti ne sviđa
- Neznatno mi se ne sviđa
- Umjereno mi se ne sviđa
- Veoma mi se ne sviđa
- Izrazito mi se ne sviđa

## Test preferencija

Molim vas da kušate uzorke s lijeva na desno i rangirate ih od onog kojeg najviše preferirate do onog kojeg najmanje preferirate (1= preferiram najviše, 6= preferiram najmanje).

| Rang | Uzorak | Komentar |
|------|--------|----------|
| 1    | _____  | _____    |
| 2    | _____  | _____    |
| 3    | _____  | _____    |
| 4    | _____  | _____    |
| 5    | _____  | _____    |
| 6    | _____  | _____    |

## IZJAVA O IZVORNOSTI

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.

*N. Stutak*

---