

# Kvaliteta i trajnost bezglutenskog kruha sdodatom brašna žutog graška i kiselog tijesta

---

**Budimir, Valentina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*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:159:373984>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-26**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

**KVALITETA I TRAJNOST  
BEZGLUTENSKOG KRUHA S  
DODATKOM BRAŠNA ŽUTOG  
GRAŠKA I KISELOG TIJESTA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju žitarica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod mentorstvom i stručnim vodstvom prof. dr. sc. Duške Ćurić te uz pomoć Saše Drakule, mag. ing i Lidije Drobac, univ. bacc. ing. Diplomski rad je izrađen u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta Hrvatske zaklade za znanost „Od nusproizvoda u preradi žitarica i uljarica do funkcionalne hrane primjenom inovativnih procesa“ (IP-2016-06-3789).

## ZAHVALA

*Najiskrenije hvala prof. dr. sc. Duške Ćurić na prihvaćanju mentorstva te uloženom trudu, vremenu, susretljivosti i nesebičnoj pomoći pri izradi ovog rada.*

*Zahvaljujem se i Saši Drakuli, mag. ing, te ostalim djelatnicima Laboratorija za kemiju i tehnologiju žitarica na savjetima i dobrom raspoloženju.*

*Hvala cijeloj mojoj obitelji, prijateljima i dečku za ljubav, razumijevanje i pomoć.*

*Posebno hvala roditeljima i sestrama na svemu što čine za mene.*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

## KVALITETA I TRAJNOST BEZGLUTENSKOG KRUHA SDODATOM BRAŠNA ŽUTOG GRAŠKA I KISELOG TIJESTA

Valentina Budimir, 940/PI

**Sažetak:** Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj dodatka brašna žutog graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i različitog udjela kiselog tijesta (10, 20 i 30 % KT) na fizikalna i senzorska svojstva bezglutenskog kruha. Kruh s njihovim dodatkom karakterizira tamnija boja kore, smanjena tvrdoća, žvkljivost, kohezivnost i rezilijencija u odnosu na kruh bez njihovog dodatka (0-G). S obzirom na senzorsku analizu sveukupnog doživljaja, potrošači najviše preferiraju kruh 30 % KT. Određena je trajnost polupečenog kruhu 0-G i 30 % KT ohlađenog u vakuumu i pakiranog u modificiranoj atmosferi. Tijekom 30 dana skladištenja kruha pri sobnoj temperaturi nije došlo do značajne promjene specifičnog volumena i teksture kruha. Kruh 0-G bio je mikrobiološki ispravan do 5. dana skladištenja, a kruh 30 % KT do 30. dana skladištenja. Brašno žutog graška ima veliki potencijal za primjenu u proizvodnji bezglutenskog kruha radi povećanja njegove prehrambene vrijednosti, a kiselo tijesto radi poboljšanja teksture, senzorskih svojstava i produljenja trajnosti.

**Ključne riječi:** bezglutenski kruh, brašno žutog graška, kiselo tijesto, kvaliteta, trajnost

**Rad sadrži:** 58 stranica, 32 slike, 10 tablica, 66 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** prof. dr. sc. Duška Ćurić

**Pomoć pri izradi:** Saša Drakula, mag. ing. i Lidija Drobac, bacc. ing. arg.

### Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. izv.prof.dr.sc. Marina Krpan
2. prof.dr.sc. Duška Ćurić
3. izv.prof.dr.sc. Dubravka Novotni
4. prof.dr.sc. Dubravka Škevin (zamjena)

**Datum obrane:** 23. rujna 2019.

## 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

### **QUALITY AND SHELF LIFE OF GLUTEN-FREE BREAD WITH ADDED YELLOW PEA FLOUR AND SOURDOUGH**

Valentina Budimir, 940/PI

**Abstract:** The aim of this research was to examine the impact of adding yellow pea flour, precursors of aromatic compounds, enzymes and different quantity of sourdough (10%, 20%, 30% SD) on physical and sensory properties of gluten-free bread. The bread with mentioned improvers was characterized by darker crust colour, reduced hardness, chewiness, cohesiveness and resilience in comparison with bread without its addition (0-G). Considering the sensory analysis of overall experience, consumers preferred bread 30 % SD. The shelf life of partially-baked 0-G and 30 % SD bread cooled in a vacuum and packed in a modified atmosphere was determined. During 30 days of storage at room temperature there was no significant change in a specific volume and bread texture. 0-G bread was microbiologically safe until 5th day and 30 % SD bread until 30<sup>th</sup> day of storage. Yellow pea flour and sourdough have a great potential for the application in gluten-free bread production. Yellow pea flour increases its nutritional value, while sourdough improves its texture and sensory properties and extends its shelf life.

**Keywords:** gluten-free bread, quality, shelf life, sourdough, yellow pea flour

**Thesis contains:** 58 pages, 32 figures, 10 tables, 66 references

**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. Duška Ćurić, Full professor

**Technical support and assistance:** Saša Drakula, MSc., Assistant  
Lidija Drobac, univ. bacc. ing.

**Reviewers:**

1. PhD. Marina Krpan, Associate professor
2. PhD. Duška Ćurić, Full professor
3. PhD. Dubravka Novotni, Associate professor
4. PhD. Dubravka Škevin, Full professor (substitute)

**Thesis defended:** 23 September 2019

## Sadržaj

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>2</b>
2.1. CELIJAKIJA.....	2
2.2. BEZGLUTENSKI KRUH .....	2
2.3. MAHUNARKE – SIROVINE ZA PROIZVODNJU BEZGLUTENSKOG KRUHA .....	3
2.3.1. Brašno žutog graška .....	3
2.4. ŽITARICE BEZ GLUTENA ZA PROIZVODNJU BEZGLUTENSKOG KRUHA .....	4
2.4.1. Riža i rižino brašno.....	4
2.4.2. Proso i brašno prosa.....	5
2.5. PRIMJENA KISELOG TIJESTA U PROIZVODNJI BEZGLUTENSKOG KRUHA .....	6
2.6. PRODULJENJE TRAJNOSTI KRUHA.....	7
2.6.1. Pakiranje u modificiranoj atmosferi .....	8
2.6.2. Vakuum hlađenje.....	9
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>10</b>
3.1. PRIPREMA KRUHA.....	10
3.1.1. Materijali .....	10
3.1.2. Priprema starter kulture .....	12
3.1.3. Priprema kiselog tijesta .....	13
3.1.4. Priprema zamjesa.....	14
3.2. ANALIZE KRUHA .....	16
3.2.1. Materijali .....	16
3.2.2. Specifični volumen kruha.....	17
3.2.3. Boja sredine i kore kruha.....	17
3.2.4. Određivanje teksture sredine kruha .....	17
3.2.5. Senzorska analiza .....	18
3.2.6. Metoda određivanja sastava atmosfere.....	22
3.2.7. Mikrobiološka analiza polupečenog kruha .....	23
3.3. ODREĐIVANJE KEMIJSKOG SASTAVA SIROVINA I KRUHA .....	24
3.3.1. Priprema uzorka kruha za analizu.....	24
3.3.2. Određivanje udjela vode u sirovinama i kruhu .....	25
3.3.3. Određivanje udjela pepela u sirovinama i kruhu .....	26
3.3.4. Određivanje udjela proteina.....	26
3.3.5. Određivanje udjela masti u sirovinama i kruhu .....	27
3.3.6. HPLC određivanje šećera .....	28
3.3.7. Određivanje škroba.....	30
3.3.8. Obrada rezultata.....	31
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>32</b>
4.1. FIZIKALNA I SENZORSKA SVOJSTVA KRUHA BEZ I SA DODATKOM 10, 20 I 30 % KT .....	32
4.2. KEMIJSKI SASTAV BEZGLUTENSKOG KRUHA.....	43
4.3. TRAJNOST BEZGLUTENSKOG KRUHA BEZ I S DODATKOM BRAŠNA GRAŠKA, PREKURSORA AROMATSKIH SPOJEVA, ENZIMA I KISELOG TIJESTA .....	45
<b>5. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>53</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>54</b>
<b>7. PRILOZI</b>	



# 1. UVOD

Bezglutenski kruh je kruh koji je pripremljen od sirovina koje ne sadrže protein gluten. Njegova fizikalna, senzorska i nutritivna svojstva razlikuju se u odnosu na pšenični kruh. U svrhu poboljšanja tehnoloških svojstava bezglutenskog kruha primjenjuju se brojni aditivi kao što su gume, emulgatori, želatinizirana brašna, škrobovi i enzimi.

Osim na primjenu različitih aditiva, novija istraživanja usmjerena su i na upotrebu brašna mahunarki u proizvodnji bezglutenskog kruha. Mahunarke predstavljaju važan izvor proteina, ugljikohidrata, vitamina, mineralnih tvari i polifenolnih spojeva. Dodatkom brašna mahunarki može se poboljšati kvaliteta bezglutenskog kruha – povećati nutritivna vrijednost, poboljšati fizikalna i senzorska svojstva te produljiti njegovu trajnost.

Dodatak kiselog tijesta također može poboljšati kvalitetu bezglutenskog kruha. Kiselo tijesto predstavlja složeni mikrobiološki ekosustav, uglavnom predstavljen bakterijama mliječne kiseline i kvascima, čija metabolička aktivnosti doprinosi poboljšanju okusa, mirisa, arome, teksture kruha te produljenju njegove trajnosti.

Na trajnost bezglutenskog kruha utječe veliki udjel vode i škroba pa su ovi kruhovi posebno skloni brzom starenju i mikrobiološkom kvarenju. Kako bi se produljila njihova trajnost, važno je pravilno uskladištiti proizvod. Primjenom vakuum hlađenja postiže se učinak hlađenja isparavanjem vode izravno iz proizvoda, a karakterizira ga brzina i smanjena mogućnost kontaminacije plijesnima. Pakiranje u modificiranoj atmosferi temelji se na zamjeni plinova iz zraka s atmosferom točno određenog sastava. Tako se količina  $O_2$  mijenja različitim kombinacijama  $CO_2$  i  $N_2$  što usporava rast mikroorganizama, bakterija i plijesni tijekom skladištenja.

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj dodatka brašna žutog graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i različitog udjela kiselog tijesta na fizikalna i senzorska svojstva bezglutenskog kruha. Nakon definiranja optimalnog udjela dodanog kiselog tijesta, cilj je bio odrediti trajnost polupečenog kruha ohlađenog u vakuumu i pakiranog u modificiranoj atmosferi.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. CELIJAKIJA**

Danas je celijakija najčešći poremećaj u prehrani na svijetu koji pogađa oko 1 % europske populacije (Miñarro i sur., 2012). Celijakija je stečena i doživotna bolest tankog crijeva uzrokovana konzumacijom glutena koji se nalazi u pšenici, ječmu i raži. Dolazi do oštećenja sluznice tankog crijeva, a zadebljana sluznica ima smanjenu moć apsorpcije što uzrokuje malapsorpciju hranjivih tvari. Za sada jedini općeprihvaćeni način liječenja jest doživotna prehrana bez glutena (Barbarić, 2008).

### **2.2. BEZGLUTENSKI KRUH**

Gluten je protein koji gradi strukturu visokokvalitetnih proizvoda na bazi žitarica te njegova zamjena danas predstavlja tehnološki izazov brojnih industrija. Zahtjevi za zamjenom glutena i proizvodnjom bezglutenskog kruha rastu s učestalijom pojavom intolerancije na gluten (Gallagher i sur., 2004). Gluten je glavni sastojak koji formira strukturu tijesta, odgovoran je za visko-elastična svojstva istog te doprinosi izgledu i strukturi mnogih pečenih proizvoda. Važan je za zadržavanje plina kako bi se postigao željeni volumen i tekstura kruha. Glutenin i prolamin su glavne frakcije glutena. Dok prolamin osigurava viskoznost i rastezljivost u tijesta, glutenin je odgovoran za njegovu elastičnost i kohezivnost (Demirkesen i sur., 2010).

Glavni problem pri proizvodnji bezglutenskog kruha je tijesto koje je polutekuće konzistencije koje ne može zadržati plinove nastale tijekom fermentacije pa je nastali kruh zbijene i mrvljive strukture, nepoželjne boje i okusa, smanjenog volumena i bržeg starenja (Torbica i sur., 2010). Iz navedenih razloga proizvodnja bezglutenskog kruha je poprilično zahtjevna. Istraživanja i razvoj proizvoda bez glutena uključuju primjenu škroba, enzima, mliječnih proizvoda, guma (ksantan guma, guar guma, gume rogača (LBG), ksantan-guar i ksantan-LBG) te hidrokoloida i ostalih ne glutenskih proteina kao kvalitetne zamjene za gluten (Demirkesen i sur., 2010). Dodatak različitih brašna koja ne sadrže gluten (proso, kukuruz, riža, grašak, sirak) te proteini iz mliječnih proizvoda utječu na poboljšanu strukturu i svojstva zadržavanja plina te istovremeno poboljšavaju nutritivnu kvalitetu ovih kruhova (Sciarini i sur., 2008).

## 2.3. MAHUNARKE – SIROVINE ZA PROIZVODNJU BEZGLUTENSKOG KRUHA

Nakon žitarica, mahunarke su druga najzastupljenija poljoprivredna kultura na svijetu (Curiel i sur., 2015). Mahunarke su važan izvor proteina, ugljikohidrata, mineralnih tvari (osobito kalcija i željeza) te vitamina topljivih u vodi, osobito vitamina B skupine (Kauri sur., 2007; De la Hera i sur., 2012). Sadrže nizak udjel masti te predstavljaju važan izvor polifenola i imaju visoku antioksidacijsku aktivnost. Proteini mahunarki bogati su lizinom, ali siromašni aminokiselinama koje sadrže sumpor, dok je kod žitarica obrnuto. Zbog toga, kombinacija žitarica i proteina mahunarki osigurava bolji odnos esencijalnih aminokiselina koji je vrlo važan za uravnoteženu prehranu (De la Hera i sur., 2012).

Osim što mahunarke sadrže brojne nutritivne spojeve, sadrže i manju količinu antinutritivnih spojeva. Termičkom obradom se količina dostupnosti nutritivnih spojeva kao i probavljivost mahunarki povećava, a istovremeno se količina antinutritivnih spojeva smanjuje. Antinutritivni spojevi kao što su tanini, saponini i fitinska kiselina su termostabilni pa se njihov udjel može smanjiti prethodnim ljuštenjem, namakanjem ili klijanjem (Muzquizi sur., 2012).

U posljednjih 30-ak godina provedena su brojna istraživanja u kojima je analiziran učinak dodatka brašna mahunarki (brašno slanutka, graška, lupine i graha) na funkcionalna svojstva tijesta i kruha (De la Hera i sur., 2012). Na slici 1 prikazani su plodovi mahunarki.



Slika 1. Mahunarke (Anonymous, 2019)

### 2.3.1. Brašno žutog graška

Žuti poljski grašak (*Pisum sativum L.*) je jednogodišnja biljka iz porodice mahunarki i uzgaja se širom svijeta kao hrana za ljude i životinje (Dahl i sur., 2012). Predstavlja jeftin izvor proteina, škroba, vlakana, vitamina i minerala (Agboola i sur., 2010). Curiel i suradnici (2015) određivali su kemijski sastav brašna mahunarki. Među svim ispitanim mahunarkama, brašno

graška sadržavalo je najveći udjel pepela (4,6 %), vlakana (35,3 %) i visok udjel proteina (19,4 %), što je znatno veći udjel proteina u odnosu na žitarice. U svojim istraživanjima utvrdili su kako je brašno graška pogodno i za fermentaciju pri čemu se može koristiti samostalno ili kao dodatak žitaricama u pripremi bezglutenskog kruha. Fermentacijom brašna graška povećava se koncentracija slobodnih kiselina, topljivih vlakana, ukupnih fenola, kao i antioksidativna aktivnost te aktivnost fitaze (Curiel i sur., 2015). Zbog niskog glikemijskog indeksa, smatra se korisnim i u prevenciji i liječenju dijabetesa tipa 2. Grašak, kao i druge mahunarke, sadrži značajne količine rafinoze i oligosaharide koji sadrže galaktozu koji mogu imati prebiotičko djelovanje u debelom crijevu (Dahl i sur., 2012). Osim utjecaja na nutritivna svojstva, dodatak brašna graška u proizvodnji kruha može poboljšati fizikalna i senzorska svojstva budući da proteini graška smanjuju tvrdoću kruha te mogu produljiti njegovu trajnost (Ziobro i sur., 2013). Novija istraživanja koja su proveli Chaudhary i suradnici pokazala su da zamjena rafiniranog pšeničnog brašna s cjelovitim brašnom žutog graška može značajno smanjiti emisiju CO<sub>2</sub> i istodobno povećati prehrambenu gustoću nekih vegetarijanskih proizvoda kao što su kruh i tjestenina (Chaudhary i sur., 2018). Na slici 2 prikazano je brašno žutog graška.



Slika 2. Brašno žutog graška (Anonymous, 2019)

## **2.4. ŽITARICE BEZ GLUTENA ZA PROIZVODNJU BEZGLUTENSKOG KRUHA**

### **2.4.1. Riža i rižino brašno**

Rižino brašno se sve češće upotrebljava kao zamjena za pšenično brašno pri proizvodnji raznih pekarskih proizvoda namijenjenih osobama oboljelim od celijakije. Predstavlja najpogodnije brašno od žitarica za proizvodnju proizvoda bez glutena zbog svog okusa, bijele boje, probavljivosti i hipoalergijskih svojstava (nizak sadržaj proteina, natrija, prolamina i prisutnost lako probavljivih ugljikohidrata) (Gujral i Rosell, 2004). Zbog niskog sadržaja prolamina i proteina koji nemaju elastično-plastična svojstva, prilikom miješanja s vodom, proteini riže nisu u stanju formirati visko-elastično tijesto koje je potrebno za zadržavanje CO<sub>2</sub> proizvedenog

tijekom pripreme kvasnih proizvoda, što dovodi do proizvoda s niskim specifičnim volumenom. Kako bi se riješio problem zadržavanja plina i specifičnog volumena dodaju se hidrokoloidi. Najbolje se pokazao dodatak kombinacije hidroksimetilceluloze (HPMC) i karboksimetilceluloze (CMC) što rezultira najboljim zadržavanjem plinova i najvećim specifičnim volumenom. Također, dodatkom enzima kao što su transferaza i transglutaminaza poboljšavaju se tehnološke kvalitete kruha na bazi riže (Rosell i Collar, 2007). Na slici 3 prikazano je rižino brašno.



Slika 3. Rižino brašno (Anonymous, 2019)

#### 2.4.2. Proso i brašno prosa

Proso (*Panicum miliaceum L.*) predstavlja jednu od rijetkih žitarica koja prirodno ne sadrži gluten i slatkog je okusa (Lu i sur., 2009). Brašno prosa smatra se dobrim izvorom ugljikohidrata (70-74 %), ima visok udjel proteina (12-14 %) te je bogatiji esencijalnim aminokiselinama od pšenice (Kalinova i Moudry, 2006). Sve vrste prosa su lako probavljive žitarice. Sadrže visok postotak lecitina koji je neophodan za pravilno funkcioniranje živčanog sustava. Proso je također bogato mikronutrijentima kao što su vitamini B skupine (Pathak, 2013). Zahvaljujući sadržaju antioksidansa, konzumacija prosa djeluje preventivno na nastanak raka, kardiovaskularnih bolesti, smanjuje rizik od srčanih oboljenja, snižava tlak i razinu kolesterola (Saleh i sur., 2013). Na slici 4 prikazano je brašno prosa.



Slika 4. Brašno prosa (Anonymous, 2019)

## 2.5. PRIMJENA KISELOG TIJESTA U PROIZVODNJI BEZGLUTENSKOG KRUHA

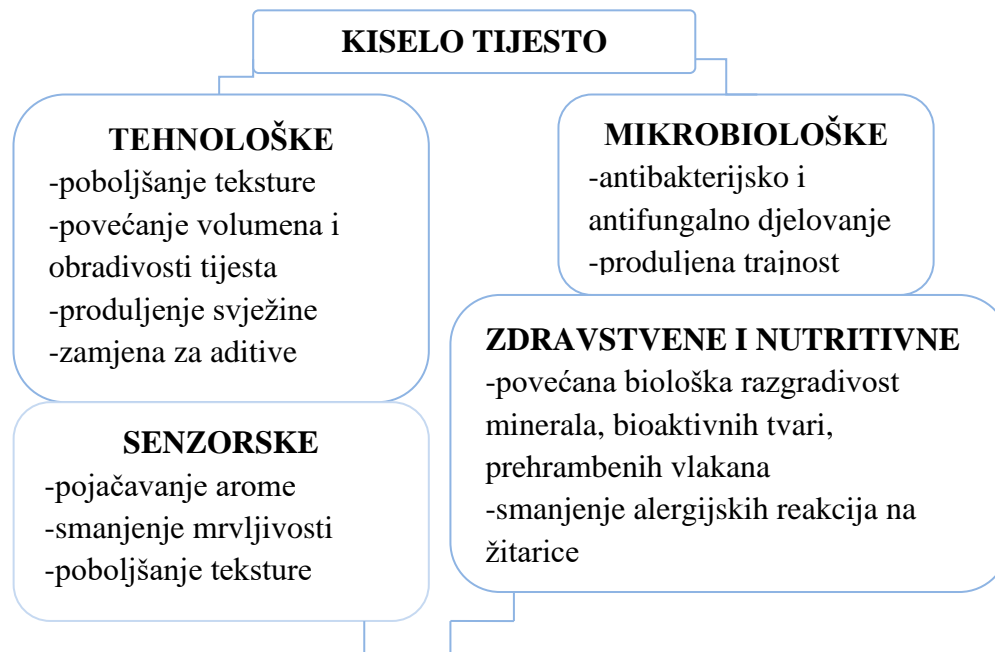
Proizvodnja kruha uz dodatak kiselog tijesta poznata je još od antičkog doba, a danas sve veća osviještenost i želja potrošača za kvalitetnim kruhom potiče pripremu kruha s njegovim dodatkom. Kiselo tijesto je mješavina brašna i vode, fermentirane s bakterijama mliječne kiseline (BMK) i kvasaca. To je zapravo međuproizvod koji sadrži metabolički aktivne kvasce i BMK (De Vuyst i Neysens, 2005; Moroni i sur., 2009; Mrvčić i sur., 2011). Varijacije u procesnim parametrima uključujući temperaturu, prinos tijesta kao i količinu i sastav starter kultura određuju kvalitetu i svojstva kiselog tijesta (Arendt i sur., 2007).

Uobičajeni omjer BMK i kvasaca u kiselom tijestu je oko 100:1. Mikrobiološkim istraživanjima otkriveno je više od 50 vrsta BMK i više od 25 vrsta kvasaca od kojih su *Saccharomyces* i *Candida* najzastupljeniji. Najčešće korištene BMK su vrste iz rodova *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Weissella* i *Leuconostoc* (De Vuyst i Vancanneyt, 2007; De Vuyst i Neysens, 2005). BMK su dominantni mikroorganizmi u kiselom tijestu pa reološka, senzorska i nutritivna svojstva ovise o aktivnosti BMK. Za razliku od većine homofermentativnih vrsta BMK koje su prisutne u fermentiranim proizvodima, heterofermentativne vrste BMK igraju glavnu ulogu u fermentaciji kiselog tijesta. One su odgovorne za zakiseljavanje, a kvasci za dizanje tijesta (Corsetti i Settanni, 2007). Fermentacija i kiseljenje tijesta mogu nastupiti spontano ili dodatkom starter kulture. Tijekom fermentacije dolazi do metaboličke aktivnosti mikroflore kiselog tijesta te se događaju brojne biokemijske promjene ugljikohidrata i proteina brašna, kao i promjene aktivnosti enzima brašna (Gänzle i sur., 2007). Mehanizam djelovanja BMK na strukturu tijesta i kruha vrlo je kompleksan i dijeli se na primarni i sekundarni učinak zakiseljavanja (Arendt i sur., 2007).

Ovisno o vrsti procesa razlikuju se tri vrste kiselog tijesta: tip I, II i III. Tip I (prirodno kiselo tijesto) nastaje miješanjem brašna i vode koje fermentira na temperaturi 25-35 °C tijekom 24-48 h. Stvaranje plina i kiselog okusa znak je početka fermentacije, a karakterizira ga konstantno održavanje aktivnosti mikroorganizama. Tip II je u tekućem stanju, karakterizira ga visoko iskorištenje tijesta i pogodno je za industrijsku primjenu. Kiselo tijesto tipa III je osušeno kiselo tijesto. Proizvodi se s BMK koje su otporne na sušenje, a široku primjenu pronalazi i u industrijskoj proizvodnji jer osigurava standardnu kvalitetu krajnjih pekarskih proizvoda (Mrvčić i sur., 2011).

Dodatak kiselog tijesta u kojem BMK tijekom fermentacije proizvode mliječnu i octenu kiselinu te druge metabolite (alkohol, ester) ima značajan utjecaj na tehnološka, senzorska i

nutritivna svojstva krušnog tijesta i kruha. Kada se koristi u optimalnim omjerima, kiselo tijesto može poboljšati volumen, teksturu, okus, povećati trajnost proizvoda te zaštititi kruh od ranog kvarenja pod utjecajem djelovanja plijesni i bakterija. Proizvodnjom kruha uz dodatak kiselog tijesta smanjuje se potreba za uporabom aditiva u njegovoj proizvodnji (De Vuyst i Neysens, 2005; Moroni i sur., 2009; Mrvčić i sur., 2011). Na slici 5 prikazan je shematski prikaz prednosti proizvodnje pekarskih proizvoda uz dodatak kiselog tijesta.



Slika 5. Prednosti proizvodnje pekarskih proizvoda s dodatkom kiselog tijesta (Mrvčić i sur., 2011)

## 2.6. PRODULJENJE TRAJNOSTI KRUHA

Rok trajanja definiran je kao period vremena unutar kojeg će prehrambeni proizvod, skladišten u preporučenim uvjetima, ostati siguran za potrošnju, ali i zadržati svoja poželjna i karakteristična senzorska, kemijska, fizikalna, mikrobiološka i funkcionalna deklarirana svojstva. Tradicionalne metode za određivanje roka trajanja uključuju skladištenje proizvoda pri različitim temperaturama i određivanje kvarenja mikrobiološkim ili senzorskim metodama (Jalilzadeh i sur., 2015; Galić i sur., 2009). Sa sigurnosnog i senzorskog stajališta, četiri glavna čimbenika koja mogu ograničiti rok trajanja su formulacija, obrada, pakiranje i uvjeti skladištenja. Općenito, pravilno uskladištena lako kvarljiva hrana ima rok trajanja do 14 dana koji je uvjetovan mikrobiološkim kvarenjem i biokemijskim propadanjem (Galić i sur., 2009).

Starenje kruha je proces kemijskih i fizikalnih promjena koje uključuju preraspodjelu vlage, sušenje, retrogradaciju škroba, gubitak okusa i arome (Kotsianis i sur., 2002). Mnogi komercijalno dostupni bezglutenski kruhovi su slabije kvalitete i kraćeg roka trajanja od onih koji sadrže gluten.

Mliječni proteini su funkcionalni sastojci koji se danas sve češće ugrađuju u brojne prehrambene proizvode u svrhu poboljšanja kvalitete i produljenja roka trajanja (Gallagher i sur., 2003). Osim mliječnih proteina, dodatak hidrokoloida kao što su HPMC, CMC, guar guma, karagenan, ksantan i glukan u bezglutenskom kruhu povećavaju viskoznost tijesta te tako doprinose zadržavanju razvijenih plinova. Isto tako, oni produljuju trajnost i pozitivno utječu na sveukupnu strukturu i teksturu kruha (Anton i Artfield, 2008).

U svrhu produljenja trajnosti, u pekarskoj industriji provodi se modernizacija pogona te razvijaju novi ambalažni materijali za pakiranje proizvoda. Jedan od novijih načina koji se danas koristi za pakiranje prehrambenih proizvoda je pakiranje u modificiranoj atmosferi (MAP). Pakiranjem u MAP-u se značajno može produžiti rok trajanja prehrambenih proizvoda mijenjanjem relativnih udjela atmosferskih plinova (Kotsianis i sur., 2002).

#### 2.6.1. Pakiranje u modificiranoj atmosferi

U usporedbi s tradicionalnim načinom pakiranja, MAP nudi brojne prednosti, a mogu se pakirati rashlađene, niskokalorične, lako kvarljive te minimalno procesirane namirnice (Gutierrez i sur., 2011; Kotsianis i sur., 2002). Metoda pakiranja u modificiranoj atmosferi temelji se na zamjeni plinova iz zraka s atmosferom plinova točno određenog sastava. Vrsta plinova i omjer plinova u pakovini ovise o brojnim čimbenicima kao što su stopa propusnosti plinova ( $\text{CO}_2$  i  $\text{O}_2$ ), temperatura skladištenja, udjel vlage u proizvodu, tip proizvoda te njegova težina (Rodríguez-Aguilera i Oliveira, 2009). Uporaba MAP-a smatra se alternativnom metodom čuvanja, a nekoliko studija pokazalo je kako zamjena  $\text{O}_2$  različitim koncentracijama  $\text{CO}_2$  i  $\text{N}_2$  u pakovini koja se čuva u hladnjaku usporava rast aerobnih mikroorganizama, plijesni, kvasaca i proteolitičkih bakterija. Glavni faktor koji ograničava rok trajanja pekarskih proizvoda je rast plijesni. Tako se npr. rast plijesni može učinkovito kontrolirati s dodatkom  $\text{CO}_2$  i niskom razinom  $\text{O}_2$  (manje od 1 %) te tako produžiti rok trajanja proizvoda (Gutierrez i sur., 2011; Galić i sur., 2009). Međutim, visoka topljivost  $\text{CO}_2$  može dovesti do promjene okusa i narušavanja ambalaže, ali se ovi problemi mogu lako prevladati uporabom  $\text{N}_2$ . Dodatni problem je što aerobno kvarenje može nastati čak i kod vrlo malog ostatka  $\text{O}_2$  (zrak koji ostaje u hrani, loše ispiranje plina) (Rodríguez-Aguilera i Oliveira, 2009).



### 2.6.2. Vakuum hlađenje

Vakuum hlađenje je brza metoda hlađenja pri kojem se porozni proizvod koji sadrži slobodnu vodu hladi njenim isparavanjem pod sniženim tlakom. Vakuum hlađenje se upotrebljava kao učinkovita metoda za prethlađivanje proizvoda u svrhu produljenja roka trajanja. Primjenjuje se za razne proizvode–meso, ribu, voće i povrće, pekarske proizvode. Brzina i učinkovitost su glavne prednosti vakuum hlađenja u usporedbi s konvencionalnim (Wang i Sun, 2001). Vakuum hlađenje pekarskih proizvoda obično se odvija u temperaturnom rasponu od 98 do 30 °C što rezultira gubitkom oko 1 % mase za pad temperature od 10 °C, dok je kod konvencionalnog hlađenja uobičajeni gubitak mase od 3-5 %. Raspodjela vlage u vakuum hlađenom kruhu je ravnomjernija što je ključno za produljenje roka trajanja pečenih proizvoda. Nadalje, proizvod se hladi u sterilnom vakuum okolišu pa je smanjena mogućnost kontaminacije plijesnima (Wang i Sun, 2001; McDonald i Sun, 2000).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj dodatka brašna žutog graška, prekursora aromatskih spojeva i enzima te kiselog tijesta na fizikalna svojstva, senzorska svojstva i trajnost bezglutenskog kruha.

Bezglutenski kruh pripremljen je prema 4 različite recepture. Recepture za pripremu kruha razlikovale su se s obzirom na dodatak brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i udjel dodanog kiselog tijesta. U tablici 1 se nalazi opis pripremljenih kruhova.

Tablica 1. Opis pripremljenih kruhova

Uzorak	Brašno žutog graška	Prekursori aromatskih spojeva i enzimi	Udjel kiselog tijesta
0-G	-	-	-
10 % KT	+	+	10 %
20 % KT	+	+	20 %
30 % KT	+	+	30 %

Navedeni kruhovi pripremljeni su tehnologijom direktnog pečenja te im je određen specifični volumen, boja kore i sredine, tekstura sredine i senzorska svojstva. Na temelju rezultata provedenih analiza definiran je optimalni udjel kiselog tijesta za pripremu kruha.

Kruhu 0-G i kruhu s optimalnim udjelom kiselog tijesta određena je trajnost. Navedeni kruhovi su proizvedeni tehnologijom polupečenja, ohlađeni uz primjenu vakuuma, zapakirani u modificiranoj atmosferi te skladišteni 30 dana pri 20 °C i relativnoj vlažnosti zraka 50 %. Analiza trajnosti provedena je 1., 5., 10., 15., 20., 25. i 30. dan skladištenja, a uključivala je određivanje specifičnog volumena, boje kore i sredine, teksture sredine, mikrobiološke ispravnosti te sastava atmosfere u pakovini.

#### 3.1. PRIPREMA KRUHA

##### 3.1.1. Materijali

###### *Sirovine*

- Brašno žutog graška (Fuszerhaz, Mađarska)
- Integralno rižino brašno (Advent, Hrvatska)

- Integralno brašno prosa (Werz, Njemačka)
- Kukuruzni ekstrudat (Naše klasje, Hrvatska)
- Kukuruzni škrob (Agrana, Austrija)
- Bjelanjak u prahu (Elcon- Prehrambeni proizvodi d.o.o., Hrvatska)
- Hidrokoloidi Wellence Gluten Free 47129 i Methocell K4M Food Grade (The Dow Chemical Company, SAD)
- Voda (vodovodna voda)
- Sitna morska sol (Solana Pag, Hrvatska)
- Konzumni bijeli šećer (Viro d.d., Hrvatska)
- Suhi instant kvasac (Kvasac d.o.o., Hrvatska)
- Prašak za pecivo (Podravka, Hrvatska)
- Biljna mast (Zvijezda, Hrvatska)
- Emulgator MONO 40 (Juchem, Njemačka)
- L+ arginin (98,5-101 %, Fischer Scientific, SAD)
- L- prolin (> 99 %, AcrosOrganics, Belgija)
- D+ fruktoza (99 %, AcrosOrganics, Belgija)
- Fungalnaproteaza (Bio-cat, 500 000 HUT g<sup>-1</sup>,SAD)

#### *Uređaji i oprema*

- Tehnička vaga (Kern PLB 2000-2, Njemačka)
- Plamenik
- Autoklav (Sutjeska 1-62-161, Srbija)
- Vodena kupelj (Stuart SBS40, Velika Britanija)
- Vorteks (IKA MS3 basic, Hrvatska)
- Centrifuga (Rotina35, Njemačka)
- Termostat (Memmert 100- 800, Hrvatska)
- Analitička vaga (KERN ALS 220-4N, Njemačka)
- Ručni mikser (Tefal, Francuska)
- Stolni mikser (Electrolux, Švedska)
- pH-metar (Testo, Njemačka)
- Fermentacijska komora (Weisheu, Njemačka)
- Etažna peć (Weisheu, Njemačka)

- Zapisivač podataka OM-CP-PH 101 (Omega Engineering, UK)
- Klima komora za čuvanje uzoraka (Memmert HPP 110, Njemačka)
- Uređaj za pakiranje u modificiranu atmosferu (Dorado, Besser, Italija)
- Vakuumpumpa (LVS 105 T-10 ef, IlmvacGmbH, Njemačka)
- Vrećice za pakiranje u MAP (Dora-Pak d.o.o. , Hrvatska)
- Vakuumpomora s dvostrukim plaštem (CC 515, Huber, Njemačka)
- Laboratorijske čaše
- Silikonski kalupi
- Sterilne tikvice, epruvete, Petrijeve ploče, pipete
- Staklene boce, stakleni štapić, metalna špatula

### *Kemikalije*

- Bakterijska kultura *Lactobacillus brevis* DSM 20054 (DSMZ, Njemačka)
- MRS bujon: homogenizirano je 55,2 g suhe podloge MRS BROTH with tween 80 (Biolife, Italija) u 1 L hladne destilirane vode, zagrijavano uz miješanje dok se podloga nije otopila te je potom po 200 mL preliveno u staklene boce i sterilizirano u autoklavu (15 minuta pri 121 °C)
- MRS agar: homogenizirano je 70,2 g suhe podloge MRS AGAR with tween 80 (Biolife, Italija) u 1 L hladne destilirane vode, zagrijavano uz miješanje dok se podloga nije otopila te je potom po 200 mL preliveno u staklene boce i sterilizirano u autoklavu (15 minuta pri 121 °C)
- Sterilni zrak (Messer Croatia plin d.o.o, Hrvatska)
- 96 % etanol (Kefo, Hrvatska)

### 3.1.2. Priprema starter kulture

#### *3.1.2.1. Propagacija bakterija mliječne kiseline*

Bakterijska kultura *Lactobacillus brevis* DSM 20054 čuvana je u suspenziji 25 % glicerola pri -18 °C. Neposredno prije naciepljivanja, bakterijska kultura je odmrznuta i homogenizirana te je 0,1 mL kulture naciepljeno u 10 mL MRS bujona predgrijanog na 30 °C. Epruveta s naciepljenom kulturom inkubirana je 24 ± 2 sata pri 30 °C ± 1 °C (faza 1). Nakon inkubacije

je u sterilnim uvjetima po 1 mL tekuće podloge s poraslom bakterijskom kulturom iz faze 1 prenesen u tri epruvete s 10 mL MRS bujona predgrijanog na 30 °C. Epruvete s naciijepljenom kulturom inkubirane su  $24 \pm 2$  sata pri  $30 \pm 1$  °C (faza 2). Porasla bakterijska kultura iz faze 2 je u sterilnim uvjetima naciijepljena u 200 mL MRS bujona predgrijanog na 30 °C. Naciijepljena podloga inkubirana je  $72 \pm 2$  sata pri  $30 \pm 1$  °C (faza 3).

Nakon završene inkubacije u fazi 3, MRS bujon s poraslom biomasom je centrifugiran pri 4000 RPM tijekom 10 minuta. Biomasa je isprana dva puta s 50 mL sterilne vode nakon čega je resuspendirana u 100 mL sterilne vode.

### 3.1.2.2. Određivanje broja živih stanica bakterija mliječne kiseline

U Petrijevu zdjelicu naciijepljen je 1 mL decimalnog razrjeđenja suspenzije biomase te je zaliven s 15 mL otopljenog MRS agara. Sadržaj Petrijevih ploča je pažljivo homogeniziran rotacijom po radnoj površini. Nakon što se prvi sloj agara ukrutio, na njega je izliven drugi sloj MRS agara kako bi se osigurali anaerobni uvjeti za rast bakterija. Ploče su inkubirane pri 30 °C tijekom 72 sata. Analiza je provedena na 3 decimalna razrjeđenja u 2 ponavljanja. Nakon inkubacije su prebrojane porasle kolonije (engl. *ColonyFormingUnits*, CFU) na pločama te je krajnji rezultat izražen kao srednja vrijednost očitanih ploča.

### 3.1.3. Priprema kiselog tijesta

U tablici 2 se nalazi receptura za pripremu kiselog tijesta.

Tablica 2. Receptura za pripremu kiselog tijesta ovisno o postotku dodatka kiselog tijesta u krušni zamjes

Sirovina	Udjel (%)
Integralno rižino brašno	20
Integralno proseno brašno	7,5
Brašno žutog graška	12,5
Voda	60
Arginin	0,1
Proteaza (na masu proteina u kiselom tijestu)	0,25

Inokulum bakterijske kulture *Lactobacillus brevis* DSM 20054 iznosio je oko  $10^6$  CFU g<sup>-1</sup> tijesta na početku fermentacije. Sve sirovine homogenizirane su pomoću ručne miješalice i

stavljene na fermentaciju u zatvorenoj posudi pri 37 °C tijekom 16 sati. pH vrijednost kiselog tijesta izmjerena je na početku i na kraju fermentacije.

#### 3.1.4. Priprema zamjesa

U ovom radu korištene su 4 recepture za pripremu krušnog tijesta. Recepture za pripremu krušnog tijesta prikazane su u tablici 3.

Tablica 3. Receptura za pripremu krušnog tijesta

Sirovine	Udjel sirovina izražen na masu brašna (%)	
	0-G	10 %, 20 %, 30 % KT
Integralno rižino brašno	65	40
Kukuruzni škrob	15	15
Integralno proseno brašno	15	15
Brašno žutog graška	0	25
Kukuruzni ekstrudat	5	5
Biljna mast	3	3
Hidrokoloidi Wellence	0,5	0,5
Hidrokoloidi Methocell	1,5	1,5
Sol	1,8	1,8
Prašak za pecivo	3	3
Emulgator MONO 40	0,5	0,5
Šećer	2	2
Kvasac	1,6	1,6
Voda	115	115
Bjelanjak u prahu	10	10
Prolin	-	0,1
Fruktoza	-	1

Kiselo tijesto je dodavano u iznosu od 10 %, 20 % ili 30 % na ukupnu masu tijesta.

Suhi sastojci za pripremu krušnog tijesta homogenizirani su pomoću stolne miješalice. Istovremeno su kvasac i šećer pomiješani u vodi predgrijanoj na 35 °C (masa vode = 7 × masa kvasca) stavljeni na predfermentaciju u fermentacijsku komoru tijekom 10 minuta pri 35 °C i 85 % relativne vlažnosti zraka. Nakon završene predfermentacije, suhim sastojcima dodana je otopljena biljna mast, kvasac i kiselo tijesto (za uzorke koji sadrže kiselo tijesto). Smjesa je

zatim miješana 3 minute na brzini 1 uz dodatak ostatka vode. Miješanje je nastavljeno na brzini 3 1,5 minuta, nakon čega je dodan prethodno umućeni bjelanjak (15 sekundi na brzini 1,45 sekundi na brzini 4,30 sekundi na brzini 5). Nakon dodatka bjelanjka, smjesa je miješana 1 minutu na brzini 1, zatim promiješana lopaticom i miješana mikserom još 1 minutu na brzini 1. Po 100 g krušnog tijesta odvagano je u silikonske kalupe te je tijesto stavljeno na fermentaciju pri 35 °C i 85 % relativne vlažnosti, tijekom 45 minuta za uzorke s dodatkom kiselog tijesta, odnosno 50 minuta za uzorke bez dodatka kiselog tijesta. U tablici 4 prikazani su uvjeti direktnog pečenja i uvjeti polupečenja i dopečenja kruha.

Tablica 4. Uvjeti pečenja kruha

<b>Parametar</b>	<b>Direktno pečenje</b>	<b>Polupečenje</b>	<b>Dopečenje</b>
Temperatura predgrijavanja	250 °C	250 °C	230 °C
Temperatura pečenja	230 °C	230 °C	200 °C
Vrijeme pečenja	15 minuta	10 minuta	12 minuta
Naparavanje	100 mL	100 mL	-

Kruh se nakon direktnog pečenja i dopečenja hladio 1,5 sati na sobnoj temperaturi nakon čega je slijedila analiza kruha.

Polupečeni kruh hlađen je u vakuum komori do postizanja temperature 20 °C u sredini kruha. Pri vakuum hlađenju je temperatura okoline u vakuum komori iznosila -12 °C, a minimalni postignuti tlak 30 mbar. Vakuum hlađenje je trajalo oko 10 minuta.

Nakon hlađenja je površina kruha pošpricana 96 % etanolom te je kruh zapakiran u dvoslojne poliamid/polietilen vrećice (PA/PE) uz upuhivanje modificirane atmosfere (70 % CO<sub>2</sub> i 30 % N<sub>2</sub>) i termozavarivanje. Vrećice s kruhom pohranjene su u klima komoru pri temperaturi 20 °C i relativnoj vlažnosti zraka 50 %. Na slici 6 nalazi se polupečeni kruh pakiran u modificiranoj atmosferi.



Slika 6. Polupečeni kruh zapakiran u nepropusnu vrećicu s modificiranim atmosferom  
(vlastita fotografija)

## 3.2. ANALIZE KRUHA

### 3.2.1. Materijali

#### *Uređaji i oprema*

- Tehnička vaga (Kern PLB 2000-2, Njemačka)
- Kolorimetar (Konica Minolta, Japan)
- Analizator teksture TA.HD.Plus (Stable Micro Systems, Velika Britanija)
- Rezalica (R504N/01 tip AS8ST, Gorenje, Slovenija)
- Male staklene bočice, kartonski tanjuri i male plastične čaše za pripremu asocijacija
- Magnetska miješalica (IKA, SAD)
- Plinski analizator (OXIBABY 6.0 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, Wittgass, Witten, Njemačka)
- Električni grijač
- Sterilne Erlenmeyerove tikvice, 250 mL
- Sterilne epruvete, pipete, Petrijeve ploče
- Plamenik
- Vorteks (IKA MS3 basic, SAD)
- pH metar (Jenway 3510,UK)
- Staklene boce, 250 mL



## *Kemikalije*

- Plate Count Agar (PCA): homogenizirano 5 g triptona (Biolife, Italija), 2,5 g ekstrakta kvasca (Biolife, Italija), 1 g D(+)glukoze (Fluka, Švicarska) i 15 g agara (Liofilchem, Italija) u 1 L hladne destilirane vode, zagrijavano uz miješanje dok se podloga nije otopila te je potom po 200 mL preliveno u staklene boce i sterilizirano u autoklavu (15 minuta pri 121 °C)
- Yeast Malt Agar (YM): homogenizirano 21 g suhe podloge Yeast Malt Broth (Sigma, Njemačka) i 21 g agara (Liofilchem, Italija) u 1 L hladne destilirane vode, zagrijavano uz miješanje dok se podloga nije otopila te je potom po 200 mL preliveno u staklene boce i sterilizirano u autoklavu (15 minuta pri 121 °C)
- Cikloheksimid (Sigma, Njemačka)

### 3.2.2. Specifični volumen kruha

Volumen kruha određen je prema standardnoj metodi AACC 10-05.01 nasipanjem uljane repice (AACC, 2000). Kruh je izvagan nakon 1,5 sati hlađenja. Analiza je provedena u 4 ponavljanja za svaki uzorak. Specifični volumen izražen je kao omjer volumena i mase kruha ( $\text{mL g}^{-1}$ ).

### 3.2.3. Boja sredine i kore kruha

Boja kore i sredine kruha određena je pomoću kolorimetra (Spectrophotometer CH-3500 D, Konica Minolta, Japan). Uzorak (gornja kora kruha ili dvije šnite kruha debljine 12,5 mm) je postavljen na otvor kolorimetra promjera 30 mm i poklopljen kutijom te je pomoću računalnog programa (Spectramagic NX, Konica-Minolta, Japan) određena refleksija uzoraka. Rezultati određivanja boje prikazani su pomoću parametara  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ . Prema CIELAB (Commission Internationale de l'Eclairage's) sustavu boja, vrijednost  $L^*$  je aproksimativna mjera svjetlosti, odnosno svojstvo prema kojem se određena boja može smatrati jednakom boji između bijele (100) i crne (0) (Granato i Masson, 2010). Pozitivna vrijednost parametra  $a^*$  predstavlja crvenu boju, a negativna zelenu boju. Pozitivna vrijednost parametra  $b^*$  predstavlja žutu boju, a negativna plavu boju (Pathare i sur., 2012). Analiza boje kore kruha provedena je u 4 ponavljanja, a boje sredine kruha u 12 ponavljanja za svaki uzorak.

### 3.2.4. Određivanje teksture sredine kruha

Tekstura sredine kruha određena je pomoću analizatora teksture TA.HD plus (Stable Micro Systems, Velika Britanija), uz primjenu TPA testa (engl. *Texture Profile Analysis*) s

dvostrukom kompresijom. Pri mjerenju je korištena aluminijska sonda promjera 25 mm i uteg opterećenja od 5 kg. Analiza je provedena pri sljedećim uvjetima: brzina sonde prije, tijekom i nakon testa 2 mm/s, naprezanje (*strain*) 50 %, vrijeme testa 30 s, snaga okidača (*triggerforce*) 20 g. Analiza teksture provedena je nakon 1,5 sati hlađenja kruha. Neposredno prije analize, kruh je narezan na šnite debljine 12,5 mm pomoću rezalice (R504N/01 tip AS8ST, Gorenje, Slovenija) te je nožem uklonjena kora. Pri analizi su na stalak analizatora teksture su stavljene dvije šnite kruha, čime je postignuta ukupna debljina kruha od 25 mm. Mjerenje je za svaki uzorak provedeno u 6 ponavljanja. Rezultati analize obrađeni su pomoću programa Texture Exponent 32 (Stable Micro Systems, Velika Britanija) i izraženi kao tvrdoća, elastičnost, rezilijencija, kohezivnost i žvkljivost sredine kruha.

### 3.2.5. Senzorska analiza

Senzorska analiza je provedena u Laboratoriju za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji opremljenom za senzorska analize. Senzorska analiza obuhvaćala je deskriptivnu analizu mirisa, okusa i arome te izgleda i teksture kruha. U tablici 5 prikazane su demografske karakteristike sudionika senzorskih analiza. U analizu su bili uključeni uzorci direktno pečenog kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT.

Tablica 5. Demografske karakteristike sudionika senzorskih analiza

	<b>Deskriptivna analiza mirisa</b>	<b>Deskriptivna analiza okusa i arome</b>	<b>Deskriptivna analiza izgleda i teksture</b>	<b>Hedonistička analiza i nizanje po preferenciji</b>
Ukupno sudionika	14 panelista	15 panelista	14 panelista	58 potrošača
Spol	13 žena	14 žena	13 žena	48 žena
	1 muškarac	1 muškarac	1 muškarac	10 muškaraca
Dob	26 g. – 56 g.	26 g. –56 g.	26 g. –56 g.	24 g. – 61 g.

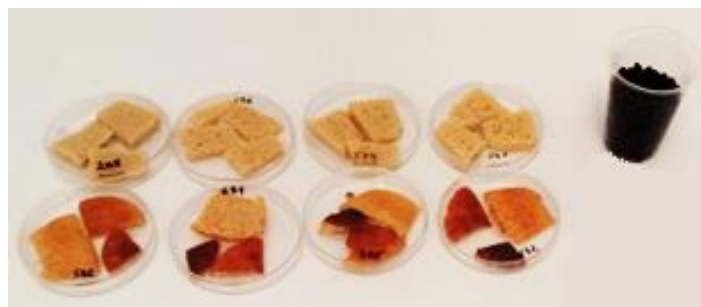
#### 3.2.5.1. Senzorska analiza mirisa kruha

Analiza je provedena između 13 i 14 sati. Od panelista je prije senzorske analize uzoraka traženo da se prisjete atributa mirisa i njihovih intenziteta. Asocijacije za attribute mirisa pripremljene su neposredno prije senzorske analize, a opis pripreme i pripadajući intenziteti nalaze se u tablici 6.

Tablica 6. Prikaz pripremljenih asocijacija za attribute mirisa i pripadajućih intenziteta

Mirisni atribut	Asocijacija	Intenzitet
Po svježe pečenom kruhu	Kora svježe pečenog kruha	10/10
Po kvascu	5 %-tna otopina svježeg kvasca	10/10
Po sirovom tijestu	Tijesto za pripremu kruha	10/10
Po kukuruzu	20 %-tna otopina kukuruzne krupice u toploj vodi	9/10
Po kikirikiju	Oljušteni kikiriki	8/10
Po grašku	20 %-tna otopina brašna žutog graška u toploj vodi	10/10
Po prženom šećeru	Karamelizirani šećer	7/10
Po kokicama	Svježe kokice	10/10
Po kiselom tijestu	Kiselo tijesto	10/10
Po kuhanoj riži	20 %-tna otopina riže u toploj vodi	10/10
Po masnom	Zagrijana biljna mast	9/10
Po zagorenom	Izgoreni pšenični kruh	8/10

Panelistima su u Petrijevim zdjelicama poslužena 4 uzorka sredine kruha i 4 uzorka kore kruha označena troznamenkastim kodovima te čaša sa zrcima kave za „odmaranje“ olfaktornih receptora. Test kojeg su panelisti ispunjavali sastojao se od dva dijela: deskriptivnog testa i hedonističkog testa. U deskriptivnom dijelu testa se od panelista tražilo da na ljestvici od 0 do 10 ocijene intenzitet mirisnih atributa (0 izostanak intenziteta mirisa, a 10 najjači intenzitet mirisa), s mogućnošću izražavanja ocjene intenziteta na jednu decimalu. Kod hedonističkog dijela testa tražilo se od panelista da ocijene sviđanje mirisa uzoraka na skali od 1 do 9, pri čemu je opis ocjena bio definiran (1–izrazito mi se ne sviđa, 5–niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa, 9–izrazito mi se sviđa), s mogućnošću izražavanja ocjene cijelim brojem. Primjer testa nalazi se u prilogu 7.1, a na slici 8 je prikazan primjer postavljene senzorske analize mirisa.



Slika 8. Primjer postavljene senzorske analize mirisa (vlastita fotografija)

### 3.2.5.2. Senzorska analiza okusa i arome kruha

Analiza je provedena između 13 i 14 sati. Od panelista je prije senzorske analize uzoraka traženo da se prisjete atributa arome, okusa i njihovih intenziteta. Asocijacije za okuse i attribute arome pripremljene su neposredno prije senzorske analize, a opis pripreme i pripadajući intenziteti se nalaze u tablici 7.

Tablica 7. Prikaz asocijacija za okus i aromu i intenzitet (Kovač, 2017)

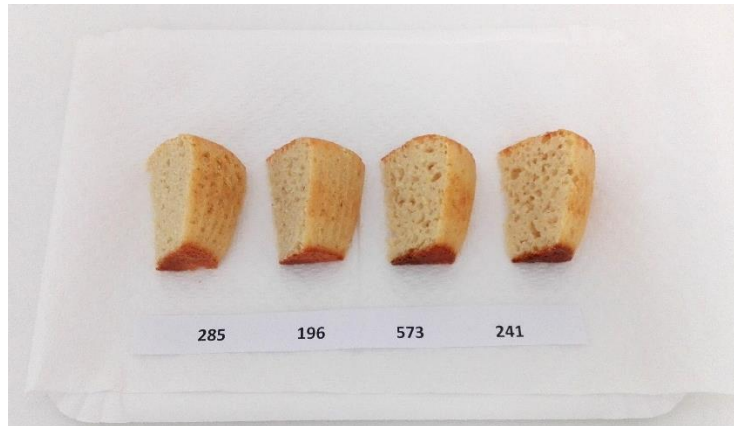
	<b>ATRIBUT</b>	<b>DEFINICIJA</b>	<b>ASOCIJACIJA</b>	<b>INTENZITET</b>
<b>OKUS</b>	Slatko	Osnovni okus	Saharoza	2,5/10
	Slano	Osnovni okus	Natrijev klorid	2,5/10
	Kiselo	Osnovni okus	Limunska kiselina	2,5/10
	Gorko	Osnovni okus	Kofein	2,5/10
<b>AROMA</b>	Sveukupna kisela aroma	Sveukupna aroma povezana s kiselim (mliječno, citrusno, jabučno, octeno kiselo)	Kefir	4/10
	Mliječna aroma	Aroma povezana s rastopljenim maslacem	Rastopljeni maslac	10/10
	Tijesto	Vlažna aroma nepečenog tijesta	Sirovo tijesto	10/10
	Kvasac	Aroma kvasca	5 % svježeg kvasca u vodi	6/10
	Riža	Aroma kuhane riže	Kuhana riža	2/10
	Kukuruz	Aroma kuhanog kukuruza	Kuhana kukuruzna krupica	6/10
	Žitarice	Lagana, škrobasta aroma kuhanih žitarica	Kuhana tjestenina	7/10
	Grašak	Grašakasta, zelena aroma	20 % brašna graška u vodi	10/10

Tablica 7. Prikaz asocijacija za okus i aromu i intenzitet- nastavak

AROMA			Zrno graška sirovo	7/10
	Orašasto	Orašasta aroma kikirikija	Kikiriki, oljušteni	8/10
	Prašnjavo, zagušljivo	Aroma povezana sa suhim, zatvorenim prostorima (tavan, ormar), stara knjiga	Stara knjiga*	8/10
	Kokice	Aroma svježe pečenih kokica	Kokice	7/10
	Pečeno	Smeđa aroma pečenog	Prepečenac	10/10
	Masno	Aroma povezana s masnim	Biljno ulje	10/10
	Užeglo	Aroma užeglog ulja	Užeglo ulje	9/10
	Svježi kruh	Aroma svježe pečenog pšeničnog kruha	Kora i sredina svježeg kruha	10/10

\* Nije bilo pripremljene asocijacije

Panelistima su poslužena 4 uzorka kruha označena troznamenkastim kodovima i čaša s vodom. Test kojeg su panelisti ispunjavali sastojao se od dva dijela: deskriptivnog testa i hedonističkog testa. U deskriptivnom dijelu testa se od panelista tražilo da na ljestvici od 0 do 10 ocijene intenzitet okusa i atributa arome (0 izostanak intenziteta, a 10 najjači intenzitet), s mogućnošću izražavanja ocjene intenziteta na jednu decimalu. Kod hedonističkog dijela testa tražilo se od panelista da ocijene sviđanje okusa i arome uzoraka na ljestvici od 1 do 9, pri čemu je opis ocjena bio definiran (1–izrazito mi se ne sviđa, 5–niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa, 9–izrazito mi se sviđa), s mogućnošću izražavanja ocjene cijelim brojem. Primjer testa nalazi se u prilogu 7.2, a na slici 9 je prikazan primjer postavljene senzorske analize.



Slika 9. Primjer postavljene deskriptivne i hedonističke senzorske analize okusa, arome, izgleda i teksture kruha (vlastita fotografija)

#### *3.2.5.3. Senzorska analiza izgleda i teksture kruha*

Panelistima su poslužena 4 uzorka kruha označena troznamenkastim kodovima i čaša s vodom. U deskriptivnom testu se od panelista tražilo da na ljestvici od 0 do 10 ocijene intenzitet svojstava izgleda i teksture kruha (0 izostanak intenziteta, a 10 najjači intenzitet), s mogućnošću izražavanja ocjene intenziteta na jednu decimalu. Primjer testa nalazi se u prilogu 7.3, a na slici 9 je prikazan primjer postavljene senzorske analize.

#### *3.2.5.4. Hedonistička senzorska analiza sveukupnog doživljaja kruha i test nizanja po preferenciji*

U hedonističkoj senzorskoj analizi sveukupnog doživljaja kruha i testu nizanja po preferenciji sudjelovalo je ukupno 58 potrošača (studenti i zaposlenici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta). U hedonističkom testu je od potrošača traženo da, s obzirom na sveukupni doživljaj, ocijene kruh na ljestvici od 1 do 9, pri čemu je opis ocjena bio definiran (1–izrazito mi se ne sviđa, 5–niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa, 9–izrazito mi se sviđa), s mogućnošću izražavanja ocjene cijelim brojem. U testu nizanja po preferenciji je od potrošača očekivalo da s obzirom na preferenciju nanižu kruhove na ljestvici od 1 do 4, pri čemu je 1–najviše preferiram, a 4–najmanje preferiram. Primjer testa nalazi se u prilogu 7.4, a na slici 9 je prikazan primjer postavljene senzorske analize.

#### 3.2.6. Metoda određivanja sastava atmosfere

Sastav atmosfere u pakiranju određen je pomoću plinskog analizatora (OXIBABY 6.0 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, Wittgass, Witten, Njemačka). Tankom iglom uređaja probušena je pakovina te nakon par

sekundi na zaslonu očitani udjel O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub>. Analiza sastava atmosfere u pakovini provedena je u 4 ponavljanja za svaki uzorak.

### 3.2.7. Mikrobiološka analiza polupečenog kruha

Mikrobiološka analiza polupečenog kruha obuhvaćala je određivanje aerobnih mezofilnih bakterija, aerobnih sporogenih bakterija te kvasaca i plijesni. Osim mikrobiološke analize polupečenog kruha, svaki dan skladištenja proveden je i vizualni pregled polupečenog kruha kako bi se utvrdio vidljivi porast plijesni.

#### 3.2.7.1. Priprema uzorka

U sterilnu Erlenmeyerovu tikvicu izvagano je 10 g uzorka, dodano je 90 mL sterilne vode te je uzorak stavljen na homogenizaciju na magnetskoj miješalici tijekom 20 minuta, uz brzinu miješanja 3. Pripremljena suspenzija korištena je za pripremu decimalnih razrjeđenja.

#### 3.2.7.2. Određivanje kvasaca i plijesni

Na Petrijevu ploču za određivanje plijesni prethodno dodana je 1 kap 1 % oksitetraciklina za sprječavanje rasta bakterija, zatim je nacijepljen 1 mL određenog decimalnog razrjeđenja suspenzije uzorka te je zaliven s 15 mL otopljene YM hranjive podloge. Sadržaj Petrijevih ploča pažljivo je homogeniziran rotacijom po radnoj površini. Ploče su inkubirane pri 25 °C tijekom 120 sati. Analiza je provedena na 3 decimalna razrjeđenja u 2 ponavljanja. Nakon inkubacije prebrojane su porasle kolonije na pločama te je krajnji rezultat izražen kao srednja vrijednost očitanih ploča (ICC 139, 1986).

#### 3.2.7.3. Određivanje aerobnih mezofilnih bakterija

Na Petrijevu ploču u koju je prethodno dodana 1 kap cikloheksimida je nacijepljen 1 mL određenog decimalnog razrjeđenja suspenzije uzorka te je zaliven s 15 mL otopljene PCA hranjive podloge. Sadržaj Petrijevih ploča pažljivo je homogeniziran rotacijom po radnoj površini. Ploče su inkubirane pri 30 °C tijekom 72 sata. Analiza je provedena na 3 decimalna razrjeđenja u 2 ponavljanja. Nakon inkubacije prebrojane su porasle kolonije na pločama te je krajnji rezultat izražen kao srednja vrijednost očitanih ploča (ICC 125, 1978).

#### 3.2.7.4. *Određivanje sporogenih bakterija*

U sterilnu epruvetu preneseno je 10 mL suspenzije uzorka koja je zagrijavana pri 80 °C tijekom 10 minuta. Vrijeme zagrijavanja je mjereno od trenutka postizanja 80 °C u epruveti. Po završetku zagrijavanja sadržaj epruvete ohlađen je pod mlazom vode na sobnu temperaturu. Dobivena suspenzija korištena je za pripremu decimalnih razrjeđenja. Na Petrijevu ploču na koju je prethodno dodana 1 kap cikloheksimida nacijepljen je 1 mL određenog decimalnog razrjeđenja suspenzije uzorka te je zaliven s 15 mL otopljene PCA hranjive podloge. Sadržaj Petrijevih ploča pažljivo je homogeniziran rotacijom po radnoj površini. Ploče su inkubirane pri 30 °C tijekom 72 sata. Analiza je provedena na 3 decimalna razrjeđenja u 2 ponavljanja. Nakon inkubacije prebrojane su porasle kolonije na pločama te je krajnji rezultat izražen kao srednja vrijednost očitanih ploča (ICC 144, 1986).

### 3.3. ODREĐIVANJE KEMIJSKOG SASTAVA SIROVINA I KRUHA

#### 3.3.1. Priprema uzorka kruha za analizu

##### *Uređaji i oprema*

- Laboratorijski mlinac (Adler, Poljska)
- Tehnička vaga (Kern PLB 2000-2, Njemačka)

Uzorak kruha pripremljen je za analizu kemijskog sastava prema standardnoj metodi AACC 62-05 (AACC, 1961). Kruh je narezan na sitne kockice debljine 2-3 mm i izvagan na listu glatkog papira pri čemu su zabilježene mase papira i kruha. Narezani kruh stavljen je na zračno sušenje na sobnoj temperaturi 15 do 20 sati nakon čega je izvagan i samljeven u laboratorijskom mlinu. Udjel vode izgubljen zračnim sušenjem kruha izračunat je prema jednadžbi 1.

$$\text{Udjel vode izgubljen zračnim sušenjem (\%)} = \frac{A}{B} \times 100 \quad [1]$$

gdje je:

A– masa izgubljene vode (g)

B– početna masauzorka (g)



### 3.3.2. Određivanje udjela vode u sirovinama i kruhu

#### *Uređaji i oprema*

- Aluminijska posudica s poklopcem
- Električni sušionik (Instrumentaria, ST-01/02, Hrvatska)
- Eksikator sa silikagelom
- Analitička vaga (KERN ALS 220-4N, Njemačka)

Određivanje udjela vode u sirovinama i kruhu provedeno je prema standardnoj metodi AACC 44-15A (AACC, 1999). Izvagano je  $3 \pm 0,0001$  g uzorka brašna ili kruha u prethodno osušenu i izvagano posudicu s poklopcem, nakon čega je uzorak u otklopljenoj posudici stavljen na sušenje pri  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ , tijekom 1,5 sati. Vrijeme sušenja je mjereno od trenutka postizanja temperature  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Nakon sušenja posudica s uzorkom hlađena je do sobne temperature u eksikatoru i izvagana. Analiza je provedena u 2 ponavljanja za svaki uzorak.

Udjel vode u brašnu izračunat je prema jednadžbi 2.

$$\text{Udjel vode (\%)} = \frac{(m_0 - m_1)}{m_0} \times 100 \quad [2]$$

gdje je:

$m_0$  – masa uzorka (g)

$m_1$  – masa uzorka nakon sušenja (g)

Udjel vode u kruhu izračunat je prema jednadžbi 3.

$$\text{Udjel vode u kruhu (\%)} = A + \frac{(100 - A) \times B}{100} \quad [3]$$

gdje je:

A – udjel vode izgubljen zračnim sušenjem

B – udjel vode izgubljen sušenjem u sušioniku

### 3.3.3. Određivanje udjela pepela u sirovinama i kruhu

#### *Uređaji i oprema*

- Porculanske zdjelice
- Eksikator sa silikagelom
- Plamenik
- Analitička vaga (KERN ALS 220-4N, Njemačka)
- Mufolna peć (Heraeus, KR-170, Njemačka)

Određivanje udjela pepela u sirovinama i kruhu provedena je prema standardnoj metodi AACC 08-01 (AACC, 1994). Prethodno izarenu, ohlađenu i izvaganu porculansku zdjelicu je izvagano  $3-5 \pm 0,0001$  g brašna ili kruha. Zatim je posudica s uzorkom zagrijavana na plameniku do potpune karbonizacije uzorka te je stavljena u mufolnu peć na spaljivanje pri  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$  do postizanja svijetlo sivog pepela. Nakon spaljivanja je zdjelica s pepelom hlađena u eksikatoru do sobne temperature i izvagana. Analiza je provedena u 2 ponavljanja za svaki uzorak.

Udjel pepela računat je prema jednadžbi 4.

$$\text{Udjel pepela (\%)} = \frac{\text{masa pepela (g)}}{\text{masa uzorka (g)}} \times 100 \quad [4]$$

### 3.3.4. Određivanje udjela proteina

#### *Uređaji i oprema*

- Analitička vaga (YMC Chyo, Jk-180, Singapur)
- Blok za spaljivanje (Tecator Digestion System 6, 1007 Digester, Foss, UK)
- Uređaj za destilaciju (Kjeltec<sup>TM</sup> 8100, Foss, Danska)
- Erlenmeyerove tikvice, 250 mL
- Kjeldahl kivete
- Dispenzete

#### *Kemikalije*

- $\text{H}_2\text{SO}_4$ , koncentrirana (96 %, CARLO ERBA Reagents, Španjolska)
- Kjeldahl tablete s bakrom, bez žive i selena, 5 g (Merck, Njemačka)
- NaOH, 40 % vodena otopina

- $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 40 g  $\text{L}^{-1}$  vodena otopina s dodatkom indikatora (metil-crveno i bromkrezol-zeleno)
- $\text{HCl}$ , 0,1 N titrival (CARLO ERBA Reagents, Španjolska)

Udjel proteina je određen metodom po Kjeldahlu (HRN ISO, 1999). U Kjeldahl kivetu je odvagano  $1 \pm 0,0001$  g uzorka, dodan je katalizator-Kjeldahl tableta s bakrom i 12 mL koncentrirane  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Kjeldahl kivete su zatim stavljene na spaljivanje do postizanja bistre svijetlo zelene otopine, nakon čega su ohlađene na sobnu temperaturu. U uređaj za destilaciju stavljena je Kjeldahl kiveta i Erlenmeyerova tikvica s 25 mL borne kiseline. Destilacija je provedena pri sljedećim uvjetima: 80 mL vode, 50 mL 40 %  $\text{NaOH}$ , trajanje 4 minute. Uzorak je zatim titiran s 0,1 N  $\text{HCl}$  do pojave crveno-roze boje. Utrošeni volumen  $\text{HCl}$  za titraciju je korišten za izračun udjela proteina. Analiza je provedena u 2 ponavljanja za svaki uzorak. Isti postupak je proveden i pri analizi slijepe probe.

Udjel dušika i proteina izračunat je prema jednadžbama 5.

$$\text{Udjel dušika (\%)} = \frac{(a-b) \times N_{\text{kis}} \times f_{\text{kis}} \times 1,4007}{m \text{ (uzorka)}} \quad [5]$$

$$\text{Udjel proteina (\%)} = \% \text{ N} \times 6,25$$

gdje je:

- a–volumen  $\text{HCl}$  utrošen za titraciju uzorka (mL)
- b–volumen  $\text{HCl}$  utrošen za titraciju slijepe probe (mL)
- $N_{\text{kis}}$ –molaritet kiseline
- $f_{\text{kis}}$ –faktor kiseline
- m–masa uzorka (g)

### 3.3.5. Određivanje udjela masti u sirovinama i kruhu

#### *Uređaji i oprema*

- Analitička vaga (YMC Chyo, Jk-180, Singapur)
- Papirnata čahura, vata
- Aparatura po Soxhletu s tikvicom s okruglim dnom
- Električni sušionik (Instrumentaria, ST-01/02, Hrvatska)

- Eksikator sa silikagelom

#### *Kemikalije*

- Petroleter (CARLO ERBA Reagents, Španjolska)

Udjel masti određen je metodom po Soxhletu, AACC 30-25 (AACC, 1999). U odmašćenu papirnatu čahuru je izvagano  $5 \pm 0,0001$  g uzorka te je čahura s uzorkom stavljena na sušenje pri 100 °C tijekom 1 sat. Papirnata čahura je stavljena u ekstraktor aparaturi po Soxhletu, spojena je i prethodno osušena, ohlađena i izvagana okrugla tikvica s ravnim dnom te dodan petroleter (2,5 volumena ekstraktora). Ekstrakcija je trajala 4 sata, nakon čega je otapalo otpareno, a tikvica s ekstrahiranom masti je sušena do konstantne mase. Analiza je provedena u 2 ponavljanja za svaki uzorak. Udjel masti izračunat je prema jednadžbi 6.

$$\text{Udjel masti (\%)} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_0} \times 100 \quad [6]$$

gdje je:

- $m_0$ —masa uzorka (g),
- $m_1$ —masa tikvice s ekstraktom (g),
- $m_2$ —masa prazne tikvice (g)

#### 3.3.6. HPLC određivanje šećera

##### *Uređaji i oprema*

- Analitička vaga (KERN ALS 220-4N, Njemačka)
- Magnetska miješalica (IKA, SAD)
- Centrifuga (Rotina 35, Njemačka)
- Odmjerna tikvica, 50 mL
- Kivete za centrifugu
- Epruvete
- Filteri za uzorke (FilterBio NY Syringe Filter, LabexLtd, najlonski filter promjera 25 mm, veličina pora 0,45  $\mu$ m)
- Filter za mobilnu fazu (Chrom filter, part no. M047-Ny045, najlonski membranski filteri, veličina pora 0,45  $\mu$ m, promjer filtera 47 mm)
- Ultrazvučna kupelj (USC 300T, VWR, SAD)

- HPLC (Shimadzu, Japan)
- Kontroler (SHIMADZU SCL-10Avp)
- Detektor indeksa loma (SHIMADZU RID-10A)
- Termostat (SHIMADZU CTO-10ASVP)
- Pumpa (SHIMADZU LC-10ADVp)
- Uređaj za degaziranje (SHIMADZU DGV-14A)
- Kolona MetaCarb 67 H, 300 × 6,5 mm (Agilent, SAD)

#### *Kemikalije*

- Carrez I (0,085 mol L<sup>-1</sup> vodena otopina kalij heksacijanoferata (II) trihidrata) (Kemika, min. 99 %, Hrvatska)
- Carrez II (0,25 mol L<sup>-1</sup> vodena otopina cink sulfata heptahidrata) (Kemika, min. 99, 5 %, Hrvatska)
- 0,5 mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (CARLO ERBA Reagents, Španjolska)
- Saharoza, 99,5 % (Sigma, Njemačka)
- D(+)-glukoza, bezvodna, 99,5 % (Fluka, Švicarska)
- D(-)-fruktoza, > 99 % (Sigma, Njemačka)

#### *Priprema uzorka*

Uzorak (5 ± 0,0001 g) je izvagan u odmjernu tikvicu od 50 mL, dodano mu je 30 mL destilirane vode i stavljen je na homogenizaciju na magnetskoj miješalici tijekom 30 minuta, pri brzini miješanja 3. Tikvica je zatim dopunjena destiliranom vodom do oznake i promućkana. Sadržaj tikvice je prenesen u kivetu za centrifugu te centrifugiran 5 minuta pri 10000 RPM. Zatim je 5 mL supernatanta preneseno u novu epruvetu te je dodan 1 mL otopine Carrez I i 1 mL otopine Carrez II. Sadržaj epruvete je promućkan i centrifugiran pri 4000 RPM tijekom 5 min. Dobiveni supernatant je profiltriran preko filtera za špricu. Profiltrirani uzorak je čuvan pri -18 °C do HPLC analize.

#### *HPLC analiza*

Udjel saharoze, glukoze i fruktoze određen je HPLC metodom uz primjenu detektora indeksa loma (engl. *Refractive Index*, RI). Injektirano je 20 µL uzorka. Analiza je provedena uz izokratno eluiranje, protok mobilne faze (0,5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0,5 mL min<sup>-1</sup> te temperaturu kolone do 40 °C. Trajanje analize iznosilo je 25 minuta. HPLC analiza je provedena u 2 ponavljanja za svaki uzorak (Lefebvre i sur., 2002).

Za kvantifikaciju šećera i kiselina primijenjena je metoda vanjskog standarda. Baždarni dijagrami su izrađeni pomoću dobivenih površina pikova analita (y) i njihovih poznatih koncentracija u otopinama standarda (x). HPLC analiza je na svakoj koncentracijskoj razini provedena u tri ponavljanja. U tablici 8 su prikazani parametri kvantifikacije.

Tablica 8. Parametri kvantifikacije šećera

<b>Analit</b>	<b>Koncentracijski raspon (mg mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Analizirane koncentracijske razine</b>	<b>Jednadžba pravca</b>	<b>Koeficijent korelacije (r)</b>
Saharoza	0,10 – 2,51	6	$y = 310694 x + 11428$	0,9997
Glukoza	0,025 – 2,50	10	$y = 330670 x - 1832$	1,0000
Fruktoza	0,032 – 4,11	10	$y = 313152 x - 6320$	1,0000

### 3.3.7. Određivanje škroba

#### *Uređaji i oprema*

- Odmjerne tikvica, 100 mL
- Polarimetar (WincomWXG-4, Kina)
- Erlenmeyerove tikvice, 250 mL
- Stakleni lijevak
- Filter papir

#### *Kemikalije*

- Otopina klorovodične kiseline
- Carrez I (21,9 g cink acetata i 3 g ledene octene kiseline u 100 mL vode)
- Carrez II (10,6 g kalijevog ferocijanida u 100 mL vode)

Udjel škroba određen je polarimetrijskom metodom (Method 23:0, 2014). Odvagano je  $2,5 \pm 0,0001$  g uzorka, prenesen je u odmjernu tikvicu volumena 100 mL te mu je dodano 25 mL klorovodične kiseline. Uzorak je homogeniziran te mu je ponovno dodano 25 mL klorovodične kiseline. Odmjerna tikvica je zatim uronjena u vrijuću vodu tijekom 15

minuta, uz konstantno miješanje prve 3 minute. Po isteku vremena, uzorku je dodano 30 mL hladne vode te je ohlađen na sobnu temperaturu.

Ohlađenom uzorku dodano je 5 mL otopine Carrez I i homogenizirano 30 sekundi, zatim 5 mL otopine Carrez II i homogenizirano 30 sekundi. Tikvica je dopunjena destiliranom vodom do oznake te je zatim uzorak profiltriran. Bistri filtratom napunjena je cijev polarimetra te je izmjeren kut zakretanja.

Udjel škroba izračunava se prema sljedećoj jednadžbi 7.

$$\text{Udjel škroba (\%)} = \frac{100 \times \alpha \times 100}{[\alpha]^{20D} \times L \times m} \quad [7]$$

gdje je:

$\alpha$  – očitani kut zakretanja

$[\alpha]^{20D}$  – specifični kut zakretanja škroba

L – dužina polarizacijske cijevi (2 dm)

m – masa uzorka (g)

### 3.3.8. Obrada rezultata

Za obradu dobivenih rezultata korišten je program Excel 2007 u kojem su izračunate srednje vrijednosti i standardne devijacije, a statistička analiza provedena je pomoću programa Statistica 8 (StatSoft Inc., SAD). Provedena je jednosmjerna analiza varijance, uz *post hoc* Tukey test ( $p < 0,05$ ).

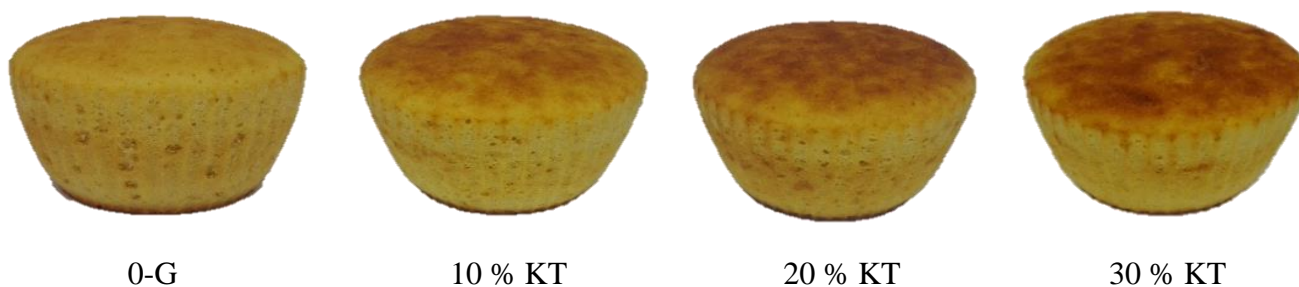
## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U okviru ovog diplomskog rada proizveden je bezglutenski kruh bez i sa dodatkom brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i različitog udjela kiselog tijesta (10 %, 20 %, 30 %) te su određena njegova fizikalna i senzorska svojstva. Rezultati određivanja specifičnog volumena, boje kore i sredine kruha te teksture sredine kruha prikazani su na slikama 12, 13, 14, 15 i 16. Rezultati provedene – deskriptivne i hedonističke senzorske analize mirisa, okusa i arome, izgleda i teksture, hedonističke analiza sveukupnog doživljaja i testa nizanja po preferenciji prikazani su na slikama 17, 18, 19, 20, 21 i 22. Na temelju rezultata provedenih analiza definiran je optimalni udjel dodatka kiselog tijesta. Polupečenom kruhu bez i sa dodatkom brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i 30 % kiselog tijesta određena je trajnost. Polupečeni kruh ohlađen je u vakuumu, zapakiran u modificiranoj atmosferi te skladišten tijekom 30 dana skladištenja pri sobnoj temperaturi. Rezultati određivanja sastava atmosfere u pakovini, specifičnog volumena, boje, teksture te mikrobioloških analiza u svrhu analize trajnosti prikazani su na slikama 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 i 32. Kemijski sastav sirovina korištenih za proizvodnju kruha i proizvedenog kruha prikazan je u tablici 9 i 10.

### 4.1. FIZIKALNA I SENZORSKA SVOJSTVA KRUHA BEZ I SA DODATKOM 10, 20 I 30 % KT

U ovom poglavlju prikazani su rezultati ispitivanja za fizikalna i senzorska svojstva kruha 0-G, 10, 20 i 30 % KT.

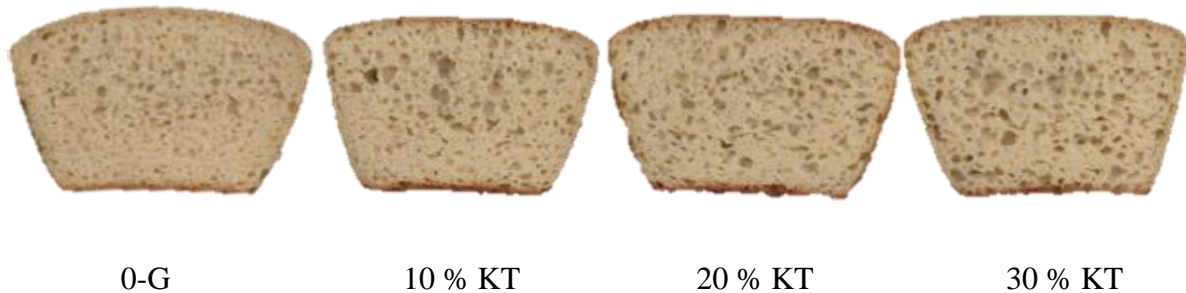
Na slici 10 prikazan je vanjski izgled kruha, a na slici 11 poprečni presjek sredine kruha 0-G i 30 % KT.



Slika 10. Vanjski izgled kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT



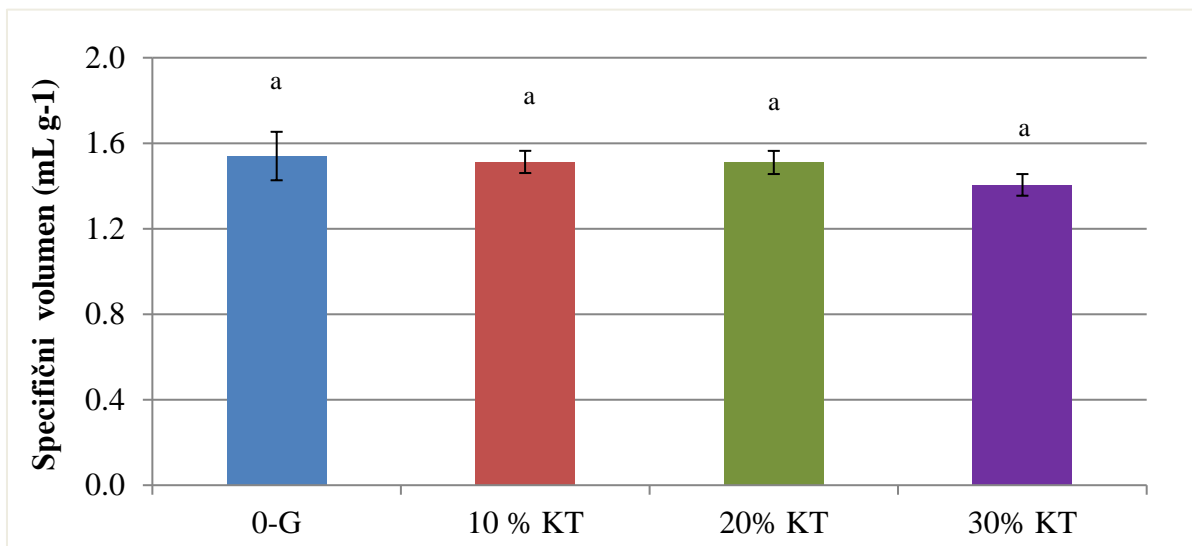
Uzorak 0-G ima najsvjetliju boju kore, a povećanjem udjela kiselog tijesta boja kore postaje tamnija (slika 10). Uzorak s dodatkom 30 % KT ima vidljivo najtamniju koru što se smatra poželjno kod bezglutenskih kruhova budući da ih uobičajeno karakterizira kora svjetlije boje (Gallagher i sur., 2003).



Slika 11. Poprečni presjek sredine kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

Vidljivo je kako poroznost i promjer mjehurića sredine kruha rastu s udjelom dodanog kiselog tijesta, dok je sredina kruha bez kiselog tijesta zbijenija (slika 11).

Na slici 12 prikazani su rezultati za specifični volumen kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT.



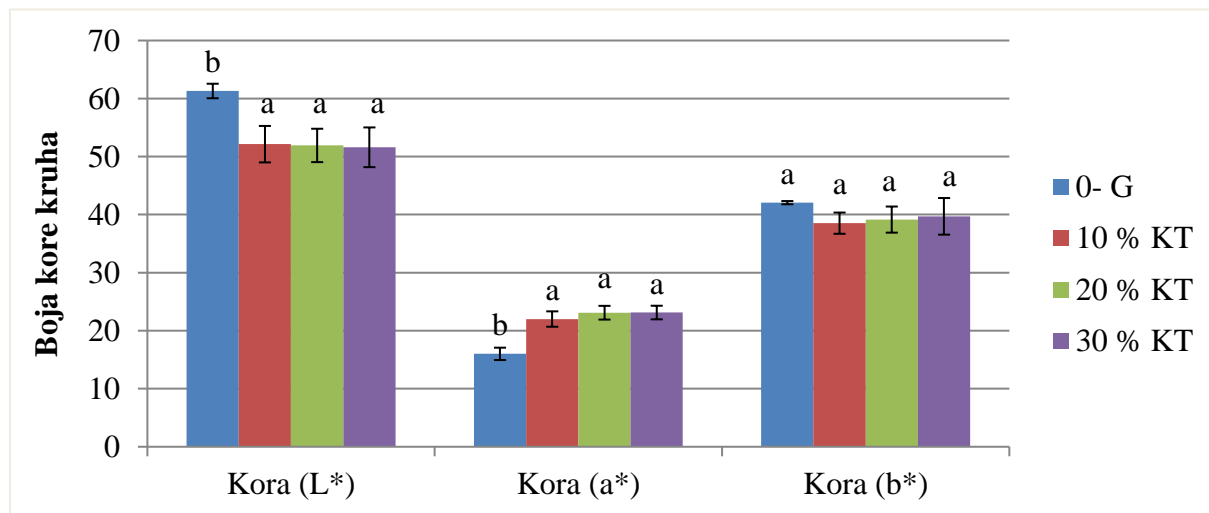
\*različitim slovima označene su statistički značajno različite vrijednosti ( $p < 0,05$ )

Slika 12. Specifični volumen kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

Prema dobivenim rezultatima, nema značajne razlike u specifičnom volumenu kruha 0-G i kruha s 10, 20 i 30 % KT (slika 12). Torrieri i sur. (2014) utvrdili su da se može dodati i 20-30 % kiselog tijesta bez negativnog utjecaja na volumen bezglutenskog kruha, što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja. Istraživanje koje su proveli Arendt i sur. (2007) pokazalo je kako

primjena kiselog tijesta, kao i dodatak proteina graška djeluju na povećanje specifičnog volumena kruha što nije zapaženo u našim istraživanjima budući da je umjesto dodatka proteina graška dodano brašno žutog graška.

Na slici 13 prikazani su rezultati određivanja boje kore kruha, a slici 14 rezultati određivanja boje sredine kruha.



\*različitim slovima označene su statistički značajno različite vrijednosti istog parametra ( $p < 0,05$ )

Slika 13. Boja kore kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

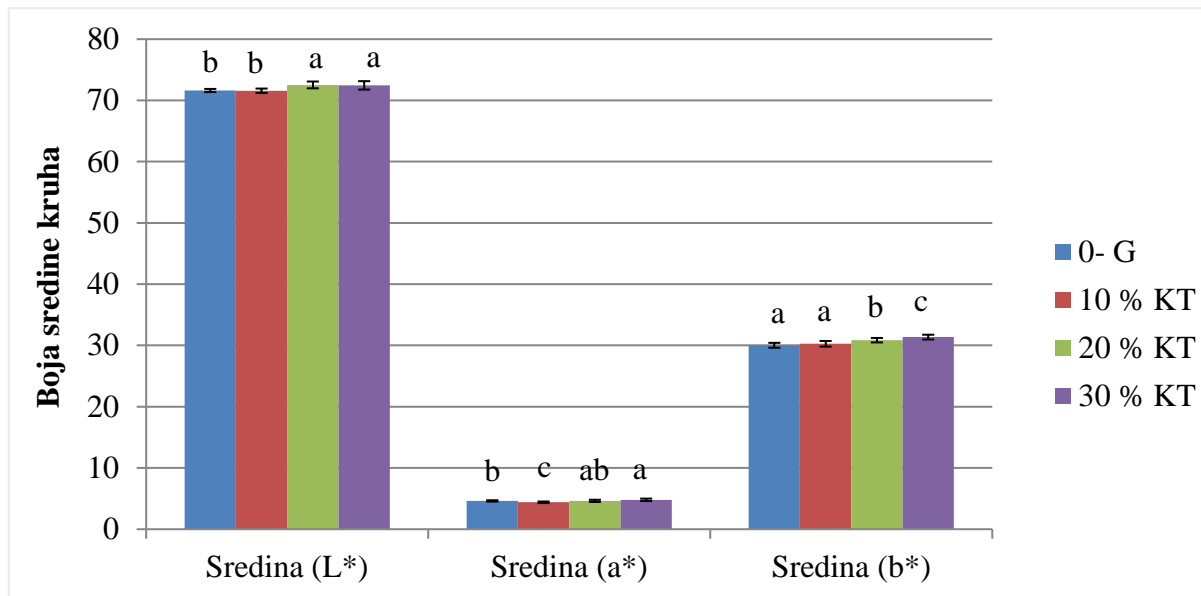
Rezultati određivanja boje kruha prikazani su pomoću parametara L\*, a\* i b\*. Veće L\* vrijednosti označavaju veću svjetlinu uzorka, dok manje L\* vrijednosti označavaju manju tamniju boju uzorka. Pozitivna a\* vrijednost predstavlja veće zasićenje crvenom bojom, a negativna a\* vrijednost veće zasićenje zelenom bojom. Pozitivna b\* vrijednost predstavlja veće zasićenje žutom bojom, a negativna b\* vrijednost veće zasićenje plavom bojom.

Boja kruha ovisi o brojnim fizikalno-kemijskim svojstvima tijesta (sadržaj vode, pH, šećer i sadržaj aminokiselina) i uvjetima pečenja (temperatura, relativna vlažnost i način prijenosa topline). Tako je boja kore uvijek tamnija od sredine kruha jer je kora kruha uvijek izloženiya djelovanju visokih temperatura (Sabanis i sur., 2009).

Prema dobivenim rezultatima određivanja boje kore kruha, kruh 0-G je imao značajno svjetliju koru i izraženiju crvenu boju kore u odnosu na kruhove s dodatkom 10, 20 i 30 % KT. Intenzitet žute boje nije se značajno razlikovao između analiziranih uzoraka (slika 13).

Dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjem Ziobro i sur. (2013) koji su utvrdili niže L\* vrijednosti za koru kruha s dodatkom proteina graška. Tamnija kora kruha s dodatkom kiselog

tijesta posljedica je Maillardovih reakcija i procesa karamelizacije tijekom pečenja (Gomez i sur., 2003).



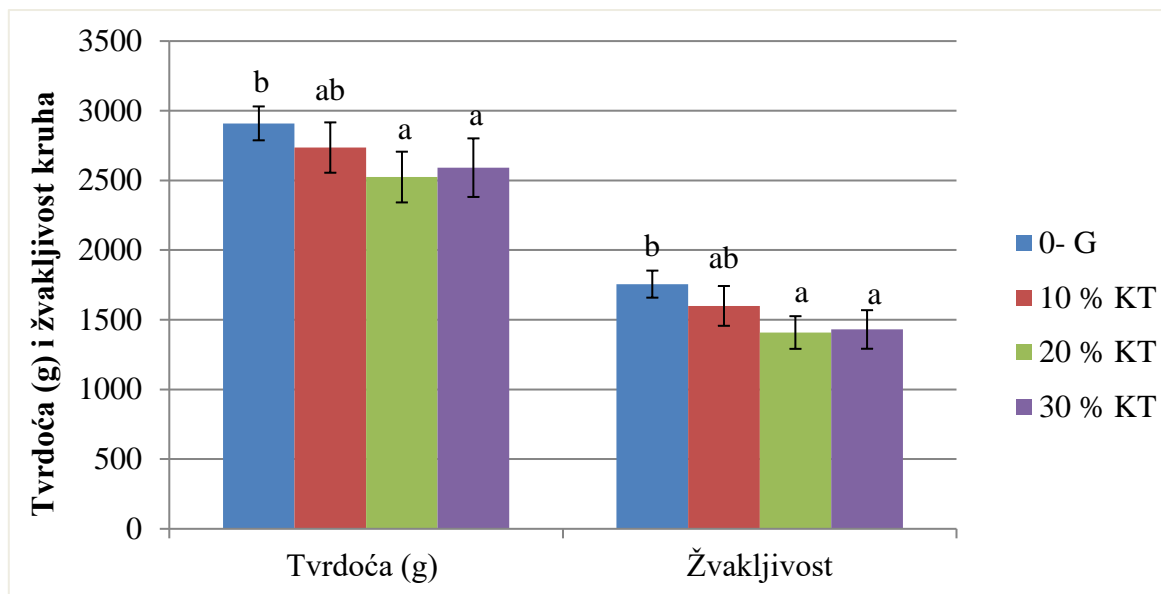
\* različitim slovima označene su statistički značajno različite vrijednosti istog parametra ( $p < 0,05$ )

Slika 14. Boja sredine kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

Prema dobivenim rezultatima, s povećanjem udjela dodanog kiselog tijesta povećava se svjetlina, intenzitet crvene i žute boje sredine kruha (slika 14). Ziobro i sur. (2013) su utvrdili povećanje  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti kod kruha s dodatkom proteina graška, što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom istraživanju.

Tekstura značajno utječe na potrošačevu percepciju kvalitete kruha. Istraživanja su pokazala kako potrošači preferiraju kruh mekane sredine i hrskave kore te će prilikom kupovine prednost dati kruhu koji zadovoljava ta svojstva. Tekstura proizvedenog kruha rezultat je većeg broja čimbenika koji uključuju: korištene sirovine, postupak proizvodnje, skladištenja i distribucije. Najvažnija svojstva teksture sredine kruha su tvrdoća, elastičnost, kohezivnost i žvakljivost (Carson i Sun, 2001). Tekstura sredine kruha ovisi o veličini, obliku i rasporedu mjehurića plina, koji su povezani s ponašanjem glutenske mreže tijekom ekspanzije  $\text{CO}_2$  u fermentaciji i pečenju (Ziobro i sur., 2013).

Teksturalna svojstva analiziranih kruhova prikazana su na slikama 15 i 16. Na slici 15 prikazani su rezultati određivanja tvrdoće i žvakljivosti, a na slici 16 rezultati određivanja elastičnosti, kohezivnosti i rezilijencije.



\*različitim slovima označene su statistički značajno različite vrijednosti istog parametra ( $p < 0,05$ )

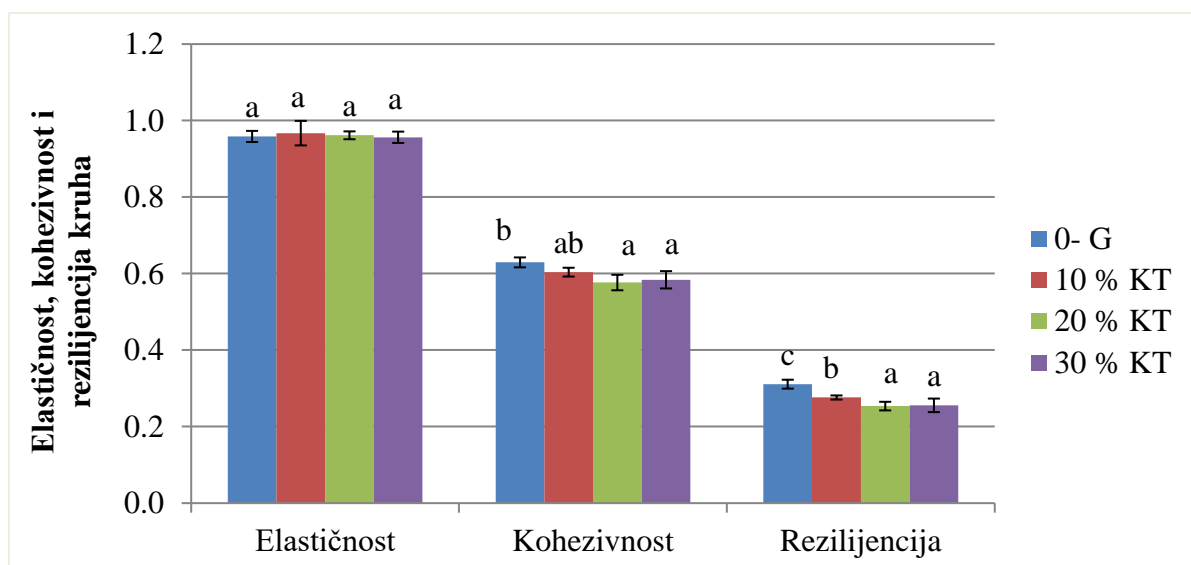
Slika 15. Tvrdoća i žvackljivost kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

Tvrdoća kruha može se definirati kao količina sile potrebne za pregristi sredinu kruha. Žvackljivost je parametar koji opisuje energiju potrebnu da se hrana oblikuje u zalogaj pogodan za gutanje. Poželjno je da žvackljivost bude što manja (Carson i Sun, 2001).

Prema dobivenim rezultatima kruh 0-G bio je najtvrdi i najžvackljiviji. U odnosu na kruh 0-G, za kruh 20 % KT i 30 % KT utvrđena je manja tvrdoća (12-15 %) i žvackljivost (22-24 %) (slika 15).

Tijekom fermentacije kruha s dodatkom kiselog tijesta BMK proizvode razne metabolite-organske kiseline, egzopolisaharide i enzime. Tako određene bakterije iz roda *Lactobacillus* stvaraju egzopolisaharide koji pozitivno djeluju na teksturu, odnosno omekšavaju bezglutenski kruh (Arendt i sur., 2011).

Istraživanje koje su proveli Ziobro i sur. (2013) pokazalo je kako primjena kiselog tijesta, kao i dodatak proteina graška djeluju na tvrdoću sredine kruha. Utvrdili su smanjenje tvrdoće i žvackljivosti kruha u odnosu na kruh bez dodatka kiselog tijesta, što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja.



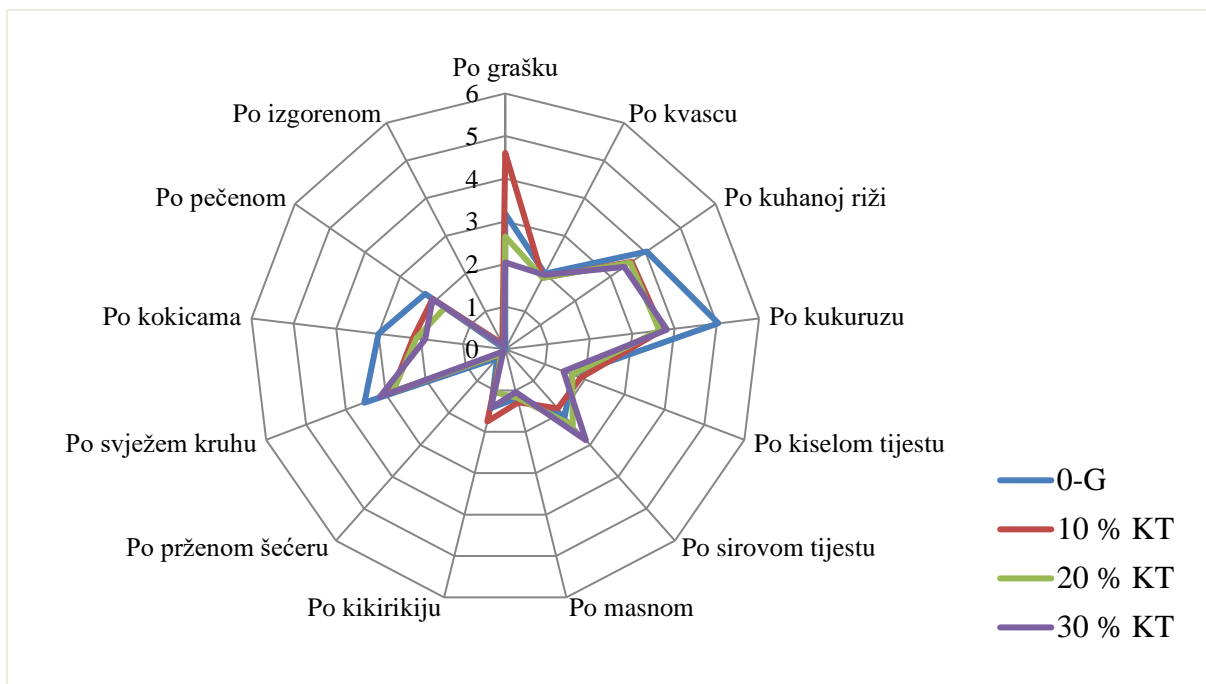
\* različitim slovima označene su statistički značajno različite vrijednosti istog parametra ( $p < 0,05$ )

Slika 16. Elastičnost, kohezivnost i rezilijencija kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

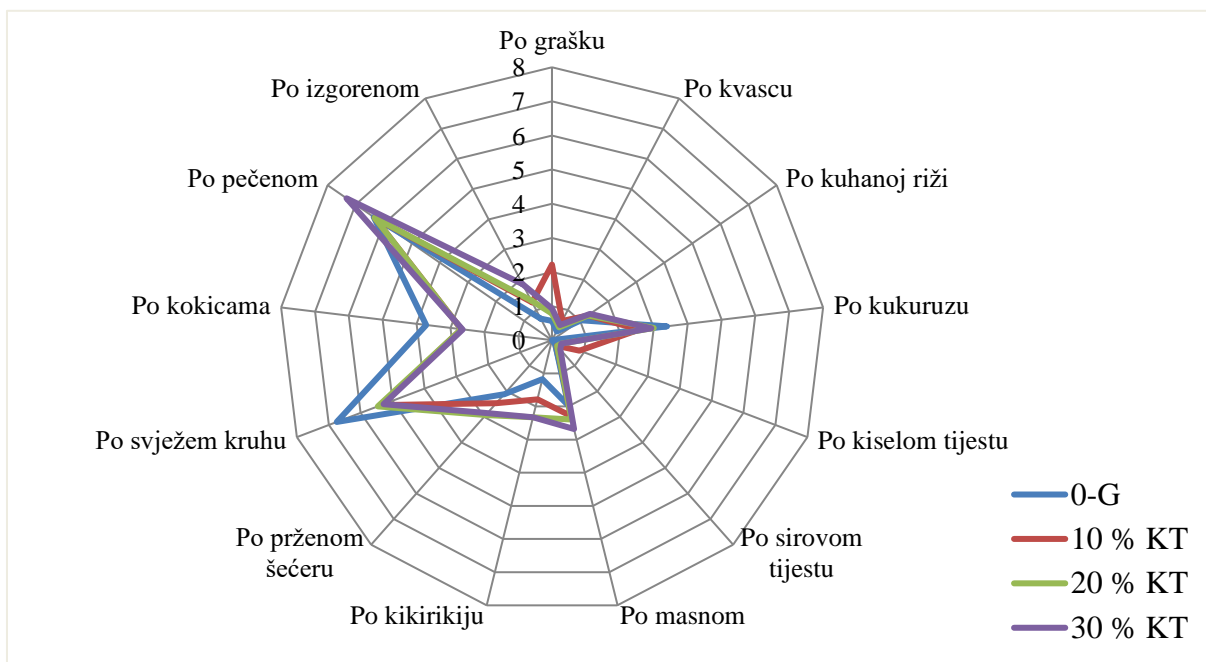
Elastičnost je svojstvo u kojem se kruh vraća u prvobitno stanje nakon uklanjanja primijenjene sile. Rezilijencija kruha ili otpor, definira se kao brzina kojom se kruh vraća u prvobitni položaj nakon primjene sile. Kohezivnost je parametar koji mjeri koliko dobro kruh podnosi drugu deformaciju u odnosu na način na koji se ponaša tijekom prve deformacije (Smerdel i sur., 2012). Prema dobivenim rezultatima, elastičnost se nije značajno razlikovala između analiziranih uzoraka. Najveća vrijednost za svojstvo kohezivnosti i rezilijencije utvrđena je za kruh 0-G. U odnosu na kruh 0-G, za kruh 20 % KT i 30 % KT utvrđena je manja kohezivnost (7-9 %) i rezilijencija (21-22 %) (slika 16).

Arendt i suradnici (2007) utvrdili su kako dodatak kiselog tijesta utječe na povećanje elastičnosti pšeničnog kruha, a kod bezglutenskog kruha nije utvrđena značajna razlika u elastičnosti i kohezivnosti.

Provedena su brojna istraživanja koja su se bavila tehnološkim svojstvima bezglutenskih proizvoda, dok je vrlo malo pažnje posvećeno njihovoj senzorskoj analizi. Rezultati deskriptivne analize mirisa sredine kruha prikazani su na slici 17, a mirisa kore kruha na slici 18.



Slika 17. Srednje vrijednosti intenziteta mirisnih atributa sredine za kruh 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT



Slika 18. Srednje vrijednosti intenziteta mirisnih atributa kore za kruh 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

Mirisni atributi koji najviše karakteriziraju analizirane uzorke sredine kruha su miris po kukuruzu, grašku, kuhanoj riži, svježem kruhu i sirovom tijestu (slika 17). Uspoređujući uzorke s 10, 20 i 30 % KT, intenzitet mirisa po grašku smanjuje se s povećanjem udjela dodanog

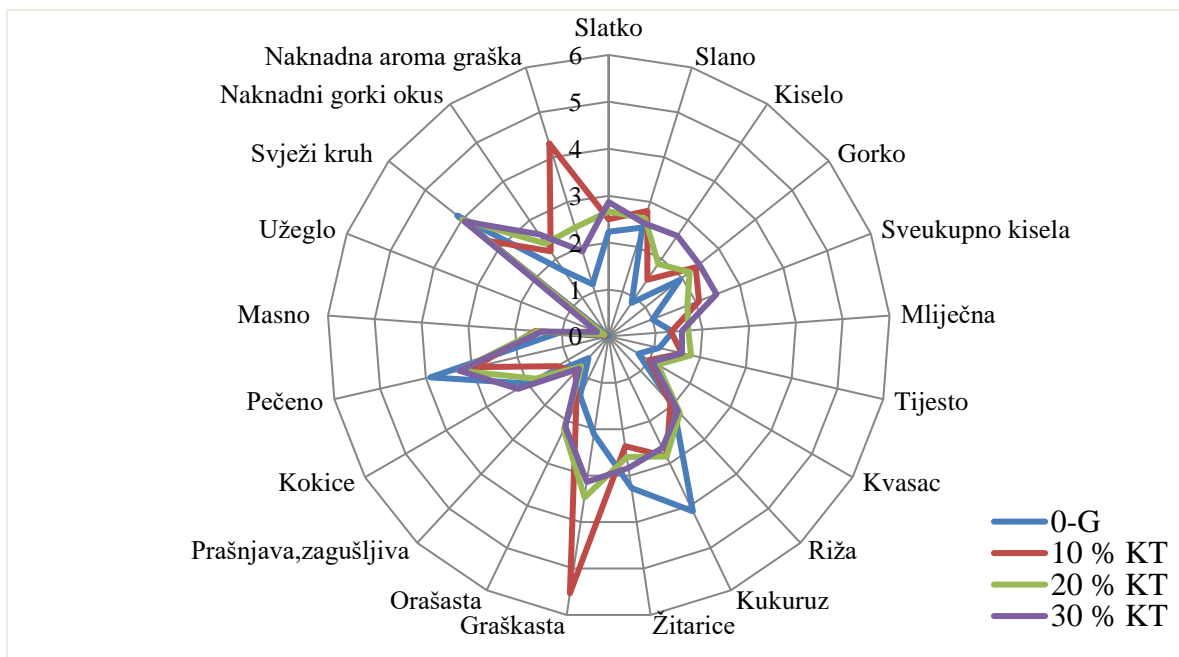
kiselog tijesta. Nasuprot tome, povećava se intenzitet mirisa po sirovom tijestu i svježem kruhu. Kod uzorka sredine kruha 0-G utvrđen je najviši intenzitet mirisa po kukuruzu, kuhanoj riži, svježem kruhu i kokicama (slika 17).

Mirisni atributi koji najviše karakteriziraju analizirane uzorke kore kruha su miris po pečenom, svježem kruhu, kokicama, masnom i kukuruzu (slika 18). U usporedbi s kruhom 0-G, kruhove s 10, 20 i 30% KT karakterizira niži intenzitet mirisa po svježem kruhu, kukuruzu i kokicama. Uspoređujući uzorke s dodatkom brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i različitog udjela kiselog tijesta, intenzitet mirisa po grašku smanjuje se s povećanjem udjela dodanog kiselog tijesta, dok intenzitet mirisa po kikirikiju, masnom i izgorenom raste. Koru kruha 30 % KT karakterizira najviši intenzitet mirisa po pečenom, sirovom tijestu, masnom, kuhanoj riži i izgorenom (slika 18).

Prema dobivenim rezultatima vidljivo je da sredinu i koru kruha karakteriziraju različiti mirisni atributi. Obzirom na utvrđene razlike u intenziteta mirisnih atributa sredine i kore kruha uzoraka 0-G te kruha s 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT, utvrđeno je kako dodatak brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i kiselog tijesta značajno utječe na miris kore i sredine kruha.

U svojim istraživanjima Kovač (2017) navodi kako dodatak kiselog tijesta utječe na smanjenje intenziteta mirisa sredine uzorka po grašku i sirovom tijestu, a dodatak brašna graška povećava intenzitet kore po grašku, kikirikiju i pečenom. Kod uzorka bez dodatka brašna žutog graška za koru kruha povećava se intenzitet mirisa po masnom, kokicama i svježem kruhu, a smanjuje intenziteta mirisa po grašku, kikirikiju, prženom šećeru i po pečenom.

Na slici 19 prikazani su rezultati deskriptivne senzorske analize okusa i arome kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT.



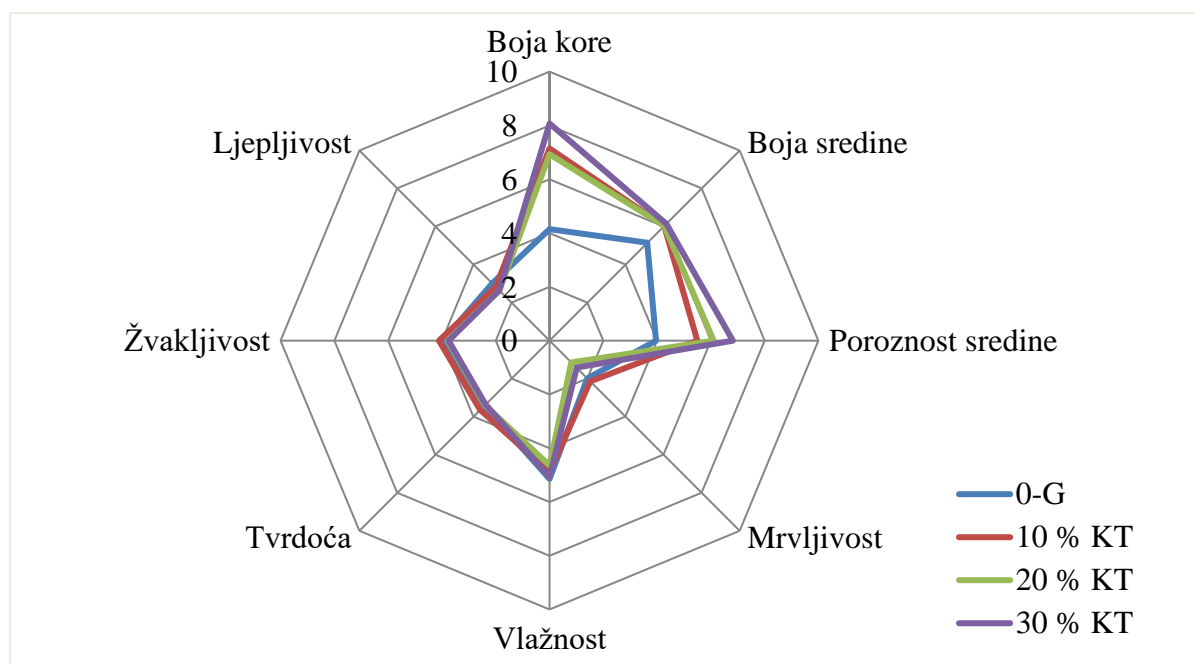
Slika 19. Srednje vrijednosti intenziteta okusa i atributa arome za kruh 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

Uspoređujući s okusom kruha 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT, kruh 0-G karakterizira najniži intenzitet slatkog, slanog, kiselog, gorkog i naknadnog gorkog okusa. S povećanjem udjela dodanog kiselog tijesta povećava se intenzitet slatkog, kiselog i naknadnog gorkog okusa, a smanjuje intenzitet slanog okusa (slika 19).

Uspoređujući s aromom kruha 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT, kruh 0-G karakterizira najniži intenzitet sveukupno kisele arome, arome po tijestu, kvascu, grašku, orašastom, prašnjavom, naknadne arome graška te najviši intenzitet arome po kukuruzu i žitaricama (slika 19). S povećanjem udjela dodanog kiselog tijesta povećava se intenzitet arome po kokicama, pečenom, svježem kruhu, a smanjuje se intenzitet arome graška i naknadne arome graška (slika 19).

Na slici 20 prikazani su rezultati deskriptivne analize izgleda i teksture kruha 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT



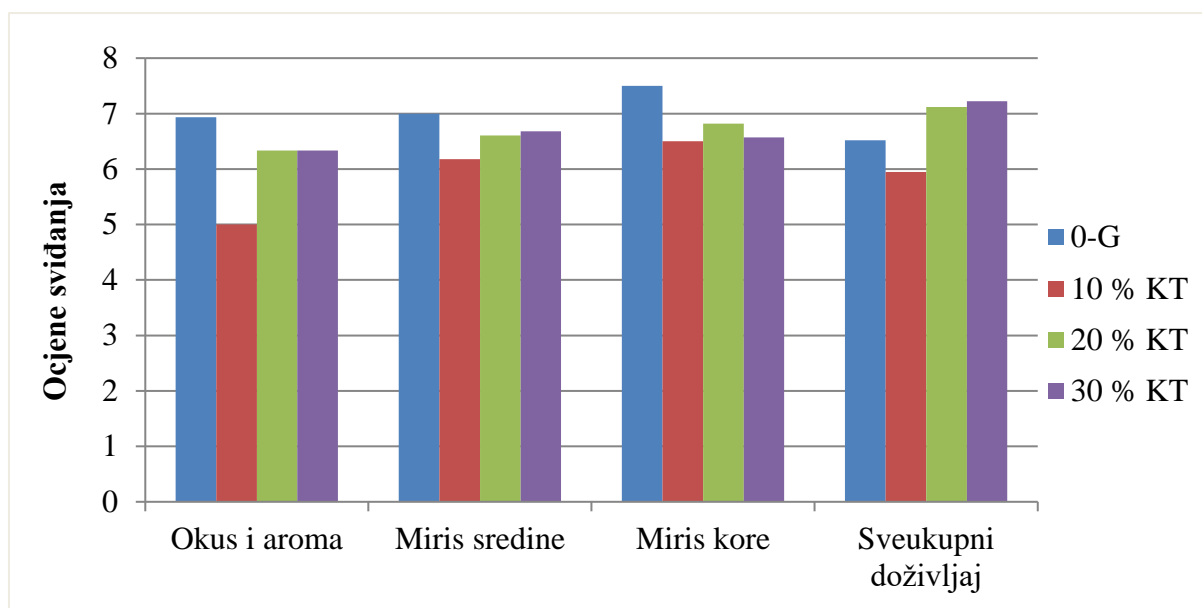


Slika 20. Srednje vrijednosti intenziteta svojstava izgleda i teksture za kruh 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

Prema rezultatima senzorske analize izgleda i teksture (slika 20) uzorak 0-G ima najmanji intenzitet boje kore, sredine i poroznost sredine, a najveći intenzitet ljepljivosti i vlažnosti. Najveći intenzitet boje kore i sredine kruha utvrđen je za kruh s 30 % KT.

Uspoređujući uzorke s 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT, s povećanjem udjela kiselog tijesta povećava se poroznost sredine, a smanjuju tvrdoća i žvakljivost (slika 20).

Na slici 21 prikazani su rezultati hedonističke analize kruhova 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT.



Slika 21. Srednje vrijednosti ocjena sviđanja okusa i arome kruha, mirisa sredine i kore kruha te sveukupnog doživljaja za kruh 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

Najviša ocjena sviđanja okusa i arome kruha, mirisa sredine i kore kruha utvrđena je za kruh 0-G (slika 20). Uspoređujući uzorke kruha s 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT vidljivo je povećanje ocjene sviđanja okusa i arome kruha te mirisa sredine kruha s povećanjem udjela dodanog kiselog tijesta. Obzirom na uzorke s dodatkom brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i kiselog tijesta, najviša ocjena sviđanja mirisa kore utvrđena je za kruh 20 % KT (slika 21).

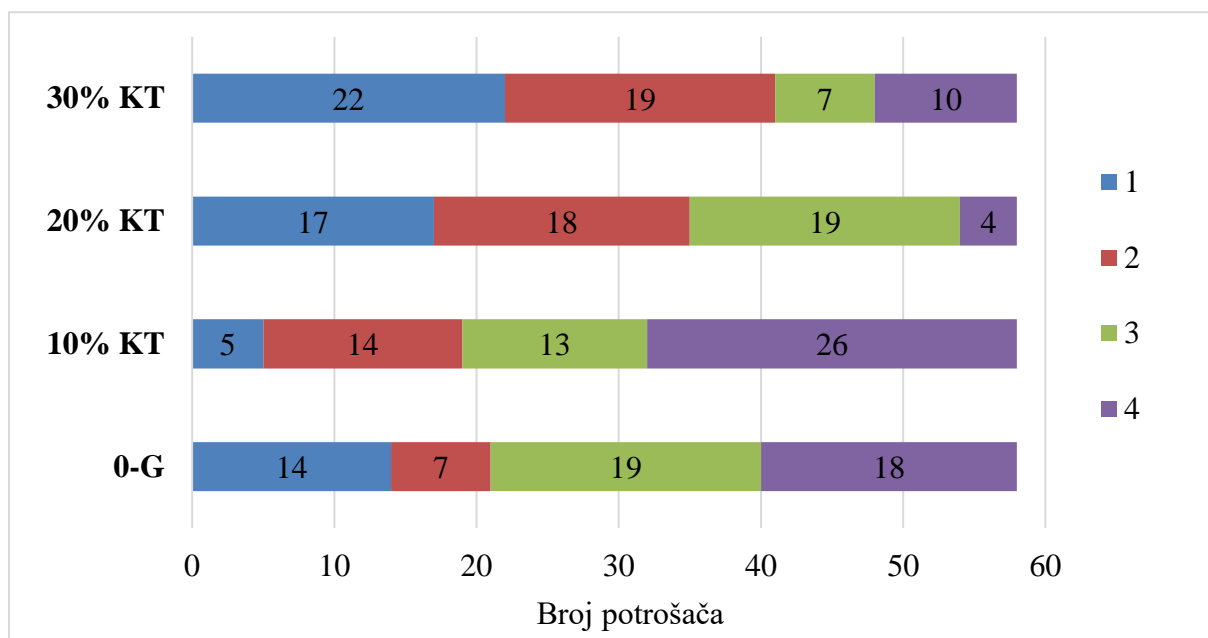
Prema rezultatima hedonističke analize sveukupnog doživljaja, ocjena sviđanja raste s povećanjem udjela dodanog kiselog tijesta, pri čemu je kruh s 30 % KT najbolje ocijenjen od strane potrošača (slika 21). Kombinacija dodatka brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i 20 % ili 30 % kiselog tijesta je pozitivno utjecala na sveukupni doživljaj analiziranog bezglutenskog kruha.

Ziobro i suradnici (2013) ispitivali su utjecaj dodatka proteina mahunarki na senzorska svojstva bezglutenskog kruha te su se proteini graška pokazali najprihvatljivijima. Utvrdili su kako dodatak proteina graška utječe na povećanje prihvatljivosti izgleda, teksture, okusa, mirisa i arome bezglutenskog kruha od strane potrošača.

Code i suradnici (2010) su senzorskom analizom ispitivali svojstva elastičnosti, boje, kiselog okusa i slatkoće za tri različite vrste kruha: pšenični kruh, kruh s dodatkom brašna pšenice, kvinoje, slanutka, heljde i amarantnog brašna te kruh s dodatkom 50 % kiselog tijesta. Od svih

ispitivanih kruhova, kruh s dodatkom kiselog tijesta dobio je najviše bodova od strane panelista za sve ispitivane parametre (osim slatkoće).

Na slici 22 prikazani su rezultati nizanja po preferenciji za kruh 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT.



Slika 22. Rezultati nizanja po preferenciji za kruh 0-G, 10 % KT, 20 % KT i 30 % KT

Iz rezultata provedene analize nizanja po preferenciji vidljivo je kako potrošači najviše preferiraju kruh 30 % KT. Slijedi ga kruh 20 % KT, zatim kruh 0-G dok je najniže rangirani kruh 10 % KT (slika 22).

Na temelju rezultata hedonističke analize sveukupnog doživljaja i testa nizanja po preferenciji, kruh s 30 % KT odabran je kao najbolji prema odabiru potrošača te je korišten u daljnjem istraživanju.

#### 4.2. KEMIJSKI SASTAV BEZGLUTENSKOG KRUHA

U ovom radu određen je kemijski sastav (udjel vode/suhe tvari, pepela, proteina, masti, šećera i škroba) korištenih sirovina i proizvedenog bezglutenskog kruha bez i sa dodatkom brašna žutog graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i 30 % kiselog tijesta. Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 9 i 10.

Tablica 9. Kemijski sastav sirovina (g 100 g<sup>-1</sup>) izražen na suhu tvar (srednja vrijednost ± standardna devijacija)

	<b>Brašno žutog graška</b>	<b>Integralno rižino brašno</b>	<b>Integralno proseno brašno</b>	<b>Kukuruzni ekstrudat</b>
Suha tvar	87,71 ± 0,02	86,62 ± 0,22	87,79 ± 0,23	89,34 ± 0,01
Pepeo	2,69 ± 0,00	1,60 ± 0,02	1,53 ± 0,00	0,64 ± 0,01
Proteini	23,27 ± 0,05	8,36 ± 0,00	11,57 ± 0,01	8,45 ± 0,01
Masti	3,06 ± 0,02	2,03 ± 0,08	4,13 ± 0,03	0,11 ± 0,01
Škrob	49,55 ± 0,43	75,77 ± 0,44	66,89 ± 0,43	76,77 ± 0,43
Šećeri	3,10 ± 0,13	1,14 ± 0,09	0,75 ± 0,09	1,02 ± 0,08

Iz kemijskog sastava sirovina izraženih na suhu tvar vidljivo je kako brašno žutog graška ima najveći udjel pepela, proteina i šećera, a najmanji udjel škroba. Integralno rižino brašno ima najmanji udjel proteina. Integralno proseno brašno ima najveći udjel masti, a najmanji udjel šećera. Kukuruzni ekstrudat ima najveći udjel škroba, a najmanji udjel pepela i masti (tablica 9).

Tablica 10. Kemijski sastav bezglutenskog kruha bez i s dodatkom brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i kiselog tijesta (g 100 g<sup>-1</sup> kruha) (srednja vrijednost ± standardna devijacija)

	<b>0-G</b>	<b>30 % KT</b>
Suha tvar	52,45 ± 0,00	54,27 ± 0,01
Pepeo	2,33 ± 0,01	2,53 ± 0,00
Proteini	7,72 ± 0,02	9,82 ± 0,04
Masti	1,01 ± 0,05	1,41 ± 0,00
Škrob	31,94 ± 0,22	27,63 ± 0,23
Šećeri	1,38 ± 0,05	2,09 ± 0,00

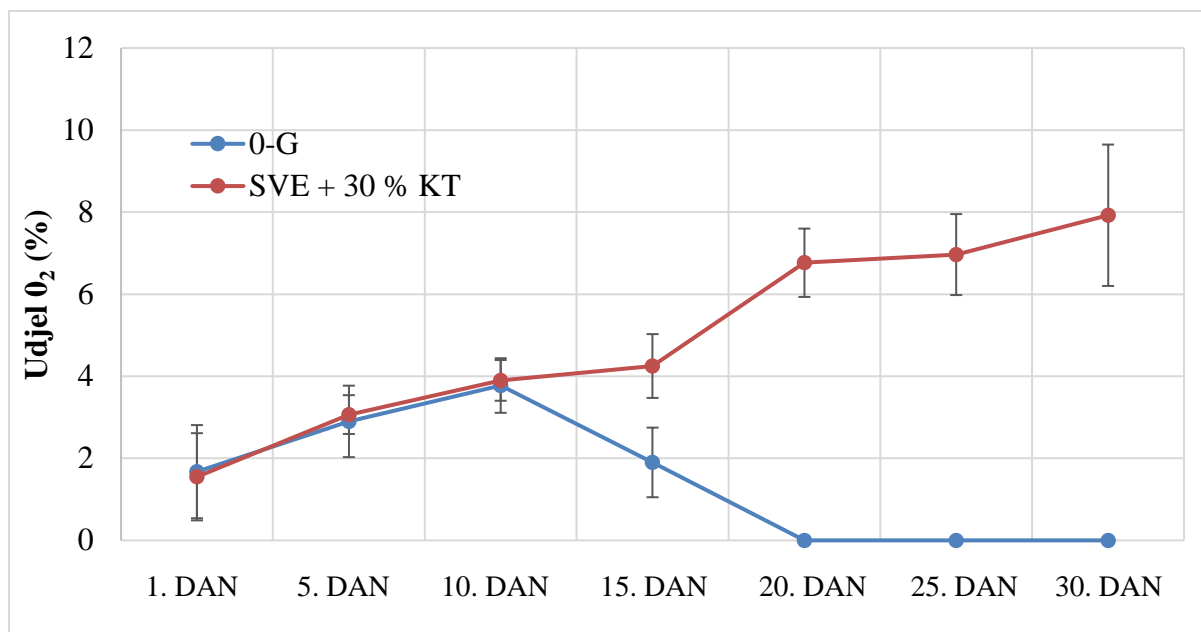
U kruhu s dodatkom brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima te kiselog tijesta (30 % KT) utvrđen je veći udjel pepela, proteina, masti i šećera te manji udjel škroba u odnosu na kruh bez njihovog dodatka (0-G) (tablica 10). Zamjena integralnog rižinog brašna brašnom žutog graška te dodatak fruktoze u pripremi kruha 30 % KT utjecali su na značajnu razliku u kemijskom sastavu proizvedenog kruha. Brašno žutog graška sadrži 1,7 puta više pepela, 2,8

puta više proteina, 1,5 puta više masti, 2,7 puta više šećera i 1,5 puta manje škroba u odnosu na integralno rižino (tablica 9).

#### 4.3. TRAJNOST BEZGLUTENSKOG KRUHA BEZ I S DODATKOM BRAŠNA GRAŠKA, PREKURSORA AROMATSKIH SPOJEVA, ENZIMA I KISELOG TIJESTA

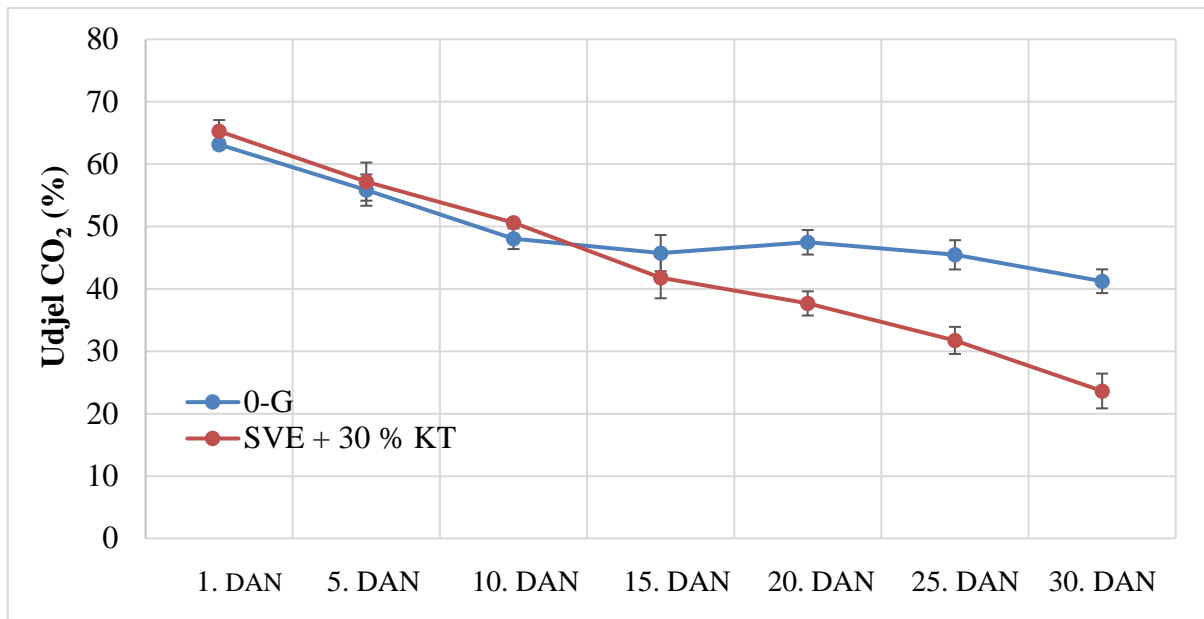
U svrhu određivanja trajnosti bezglutenskih kruhova 0-G i 30 % KT, praćen je sastav plinova ( $O_2$  i  $CO_2$ ) u pakovini, provedena je kolorimetrijska analiza kore i sredine kuha, analiza teksture sredine kruha, mikrobiološka analiza aerobnih mezofilnih bakterija, aerobnih spороgenih bakterija i plijesni te vizualna kontrola porasta plijesni. Analize su provedene svaki 5. dan tijekom 30 dana skladištenja kruha pri sobnoj temperaturi.

Na slici 23 prikazan je udjel  $O_2$ , a na slici 24 udjel  $CO_2$  u pakovini tijekom 30 dana skladištenja.



Slika 23. Udjel  $O_2$  u pakovini tijekom 30 dana skladištenja bezglutenskog kruha

Prema rezultatima istraživanja za oba analizirana kruha 0-G i 30 % KT udjel  $O_2$  rastao je od 1. do 10. dana skladištenja. Od 10. dana skladištenja udjel  $O_2$  za kruh 0-G opada sve do 30. dana skladištenja kad mu je izmjeren udjel 0 %. Kod kruha s 30 % KT udjel  $O_2$  rastao je sve do 30. dana kad je izmjeren udjel 7,9 % (slika 23).

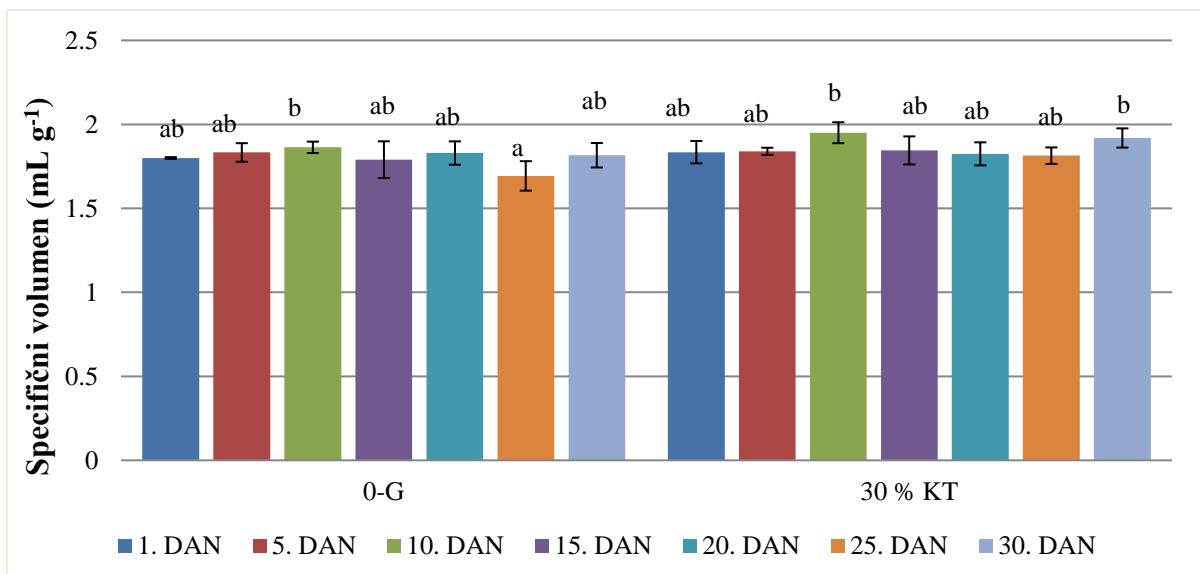


Slika 24. Udjel CO<sub>2</sub> u pakovini tijekom 30 dana skladištenja bezglutenskog kruha

Udjel CO<sub>2</sub> opada od 1. do 30. dana skladištenja za oba analizirana kruha (0-G i 30 % KT), uz utvrđeni značajniji pad udjela CO<sub>2</sub> kod uzorka 30 % KT. Nakon 30. dana skladištenja, udjel CO<sub>2</sub> u pakovini uzorka 30 % KT iznosio je 23,6 %, a 0-G 41,2 % (slika 24).

Posljedica smanjenja udjela CO<sub>2</sub> i porasta/pada udjela O<sub>2</sub> u oba kruha tijekom 30 dana skladištenja rezultat je fizikalnih, kemijskih i mikrobioloških promjena kruha tijekom skladištenja. Smanjenjem udjela CO<sub>2</sub> smanjuje se i njegova zaštitna uloga te dolazi do povećanja mogućnosti mikrobiološkog kvarenja namirnice. Iako se MAP koristi za produžavanje roka trajnosti proizvoda i zadržavanje kvalitete hrane, aerobno kvarenje se i dalje može javiti u takvim proizvodima ovisno o razini zaostalog O<sub>2</sub> (Galić i sur., 2009).

Na slici 25 prikazan je specifični volumen kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja.

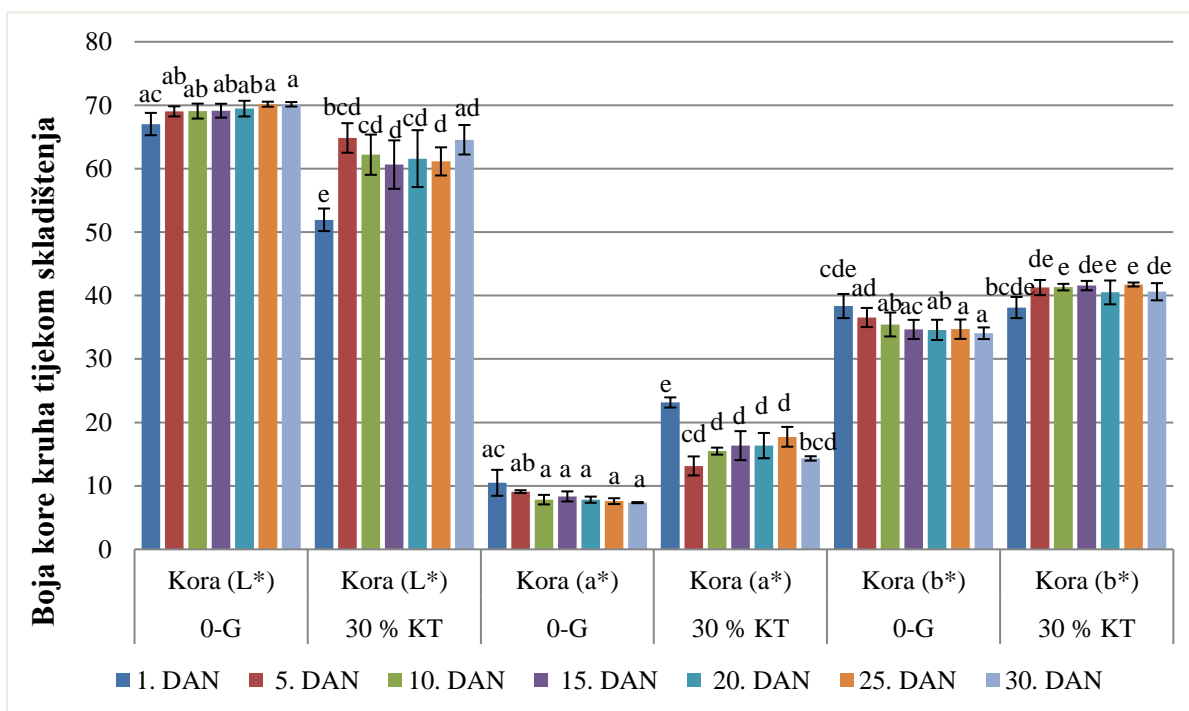


\* različitim slovima označene su statistički značajno različite vrijednosti ( $p < 0,05$ )

Slika 25. Specifični volumen kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja

U usporedbi sa specifičnim volumenom kruha određenim 1. dan skladištenja, nije došlo do njegove značajne promjene tijekom 30. dana skladištenja kruha 0-G i 30 % KT (slika 25).

Na slici 26 prikazani su rezultati određivanja boje kore, a na slici 27 boje sredine kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja.

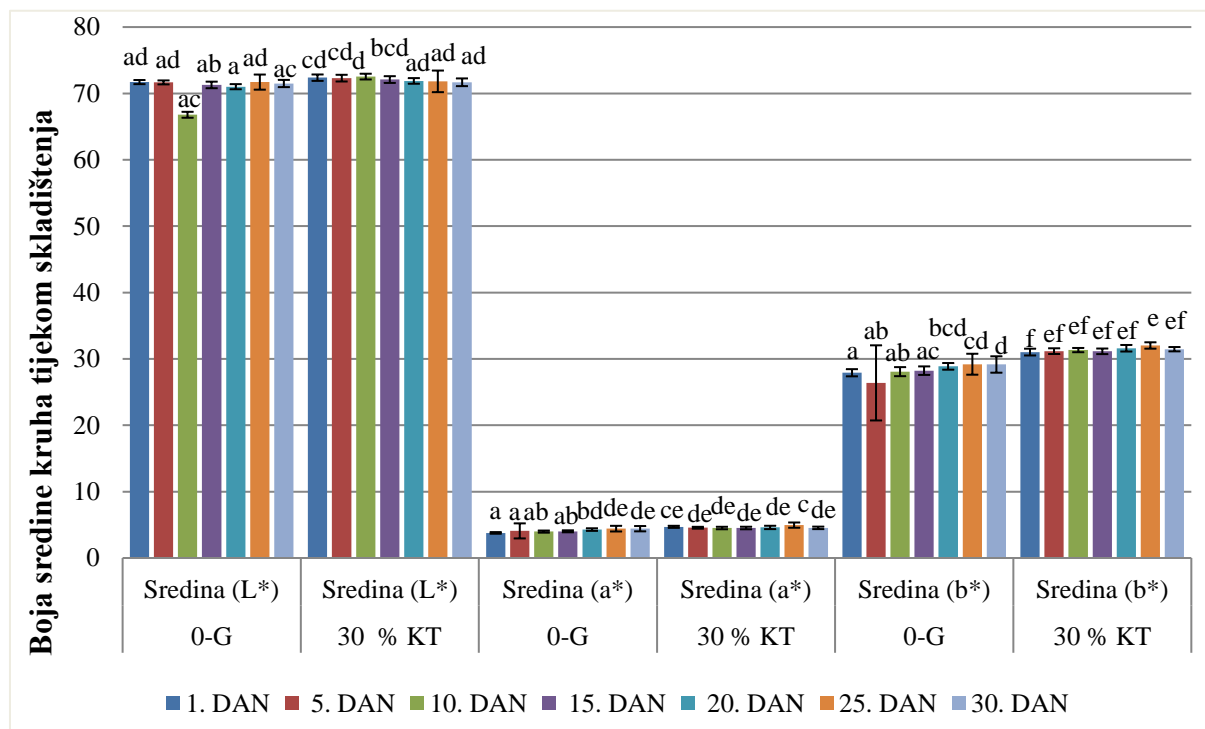


\* različitim slovima označene su statistički značajno različite vrijednosti istog parametra ( $p < 0,05$ )

Slika 26. Boja kore kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja

Svjetlina kore i intenzitet crvene boje kore uzorka 0-G nisu se značajno razlikovali tijekom skladištenja. Kod uzorka 30 % KT utvrđena je svjetlija boja kore i smanjeni intenzitet crvene boje nakon 1. dana skladištenja. Intenzitet žute boje kore uzorka 30 % KT nije se značajno razlikovao tijekom skladištenja, za razliku od uzorka 0-G kod kojeg je utvrđen smanjen intenzitet nakon 15. dana skladištenja (slika 26).

U svojim istraživanjima Khoshakhlagh i suradnici (2014) ispitivali su promjene boje kore djelomično pečenog Sangak kruha pakiranog u modificiranoj atmosferi. Svjetlina kore se povećavala s vremenom skladištenja, a razlog toga bio je gubitak vlage tijekom skladištenja. Uočene su promjene i u vrijednostima parametara  $a^*$  i  $b^*$ . Povećanje vrijednosti parametra  $a^*$  i smanjenje vrijednosti parametra  $b^*$  tijekom vremena skladištenja bile su posljedica migracije vlage iz sredine prema kori uzorka.



\* različitim slovima označene su statistički značajno različite vrijednosti istog parametra ( $p < 0,05$ )

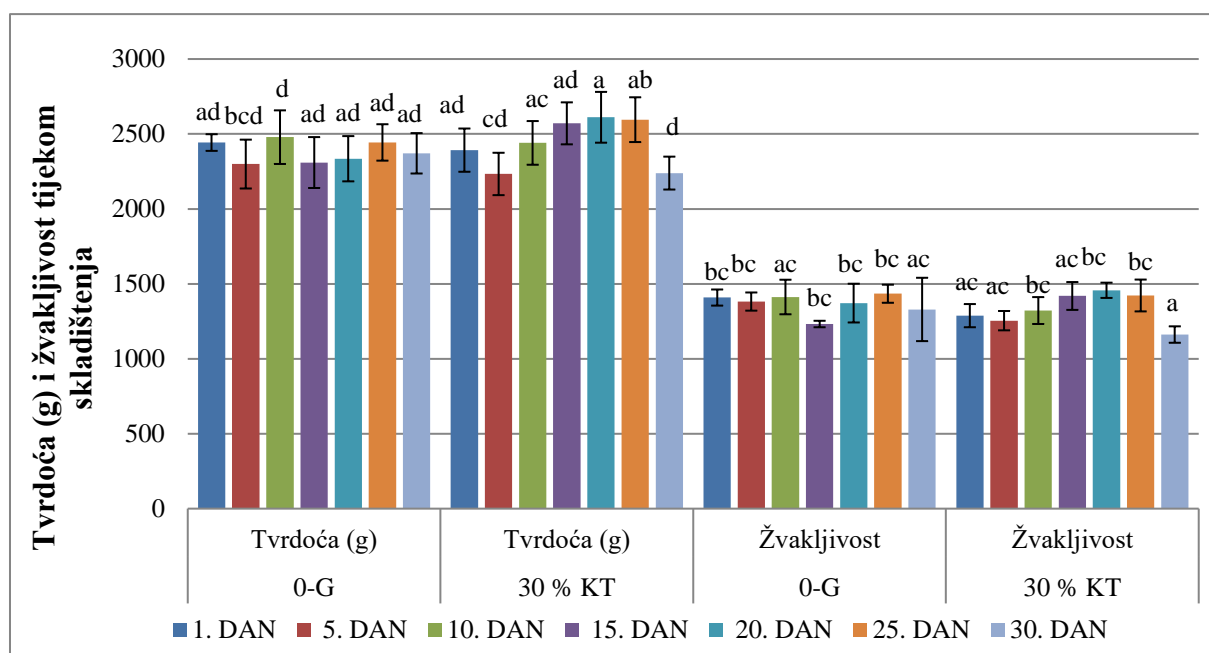
Slika 27. Boja sredine kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja

Prema dobivenim rezultatima, svjetlina sredine kruha nije se značajno razlikovala tijekom skladištenja oba uzorka kruha. Utvrđeno je povećanje intenziteta crvene i žute boje sredine uzorka 0-G nakon 15. dana skladištenja te povećanje intenziteta žute boje sredine uzorka 30 % KT 25. dan skladištenja. Intenzitet crvene boje sredine kruha 30 % KT nije se značajno razlikovao tijekom skladištenja (slika 27).



Gubitak svježine kruha tijekom skladištenja proporcionalan je povećanju tvrdoće sredine kruha. Povećanje tvrdoće najbolji je pokazatelj starenja kruha. Promjene koje nastaju starenjem vidljive su i na kori i u sredini kruha. Sredina tako postaje tvrđa, žilavija, kao i mrvljivija. Proces starenja ubrzava se i retrogradacijom škroba što predstavlja veliki problem i izazov za proizvodnju bezglutenskih kruhova budući da je škrob uobičajeno njihova glavna komponenta (Esteller i Lannes, 2008; Gray i BeMiller, 2003).

Na slici 28 prikazani su rezultati određivanja tvrdoće i žvkljivosti kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja.



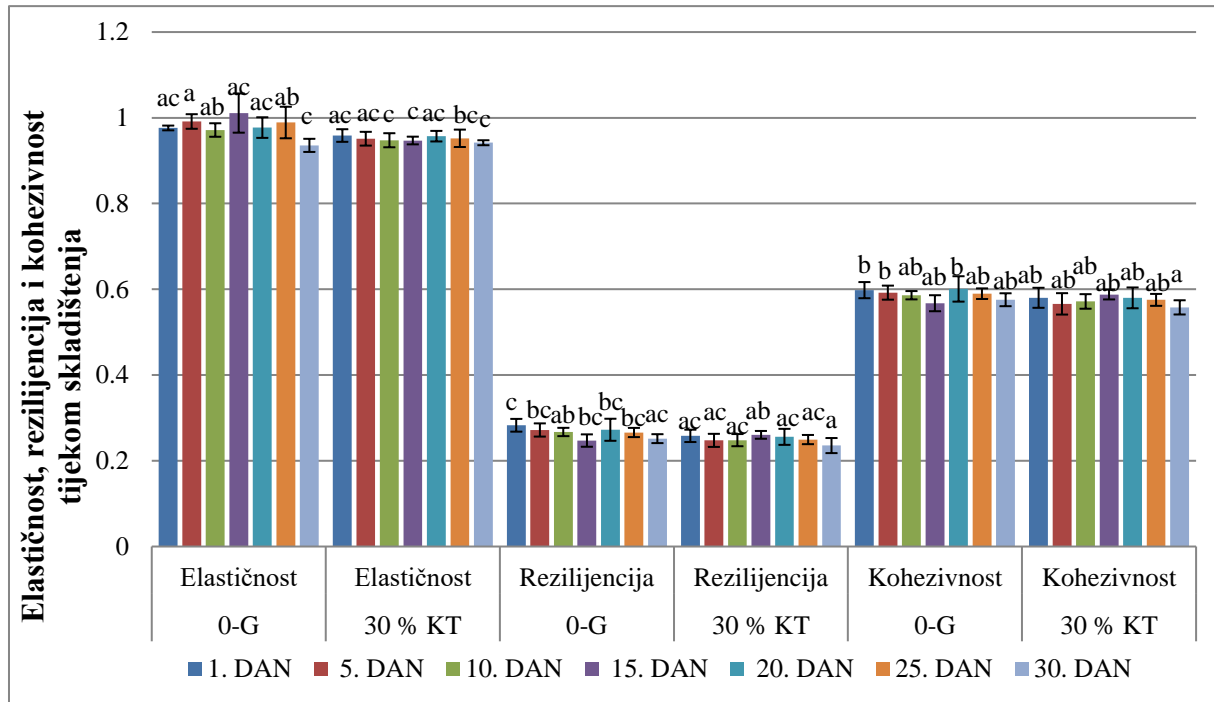
\* različitim slovima označene su statistički značajno različite vrijednosti istog parametra ( $p < 0,05$ )

Slika 28. Tvrdoća i žvkljivost kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja

Prema dobivenim rezultatima utvrđeno je kako se, u odnosu na 1. dan skladištenja, tvrdoća i žvkljivost uzoraka 0-G i 30 % KT nisu značajno razlikovale tijekom 30 dana skladištenja (slika 28).

Khoshakhlagh i suradnici (2014) su uspoređivali rezultate tvrdoće za djelomično pečeni i potpuno pečeni Sangakov kruh. Rezultati su pokazali kako je djelomično pečeni kruh imao mekšu teksturu što je posljedica većeg udjela vode prisutnog u ovom kruhu. Tvrdoća sredine za oba analizirana kruha povećavala se tijekom skladištenja što je posljedica retrogradacije škroba.

Na slici 29 prikazani su rezultati određivanja elastičnosti, rezilijencije i kohezivnosti kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja.



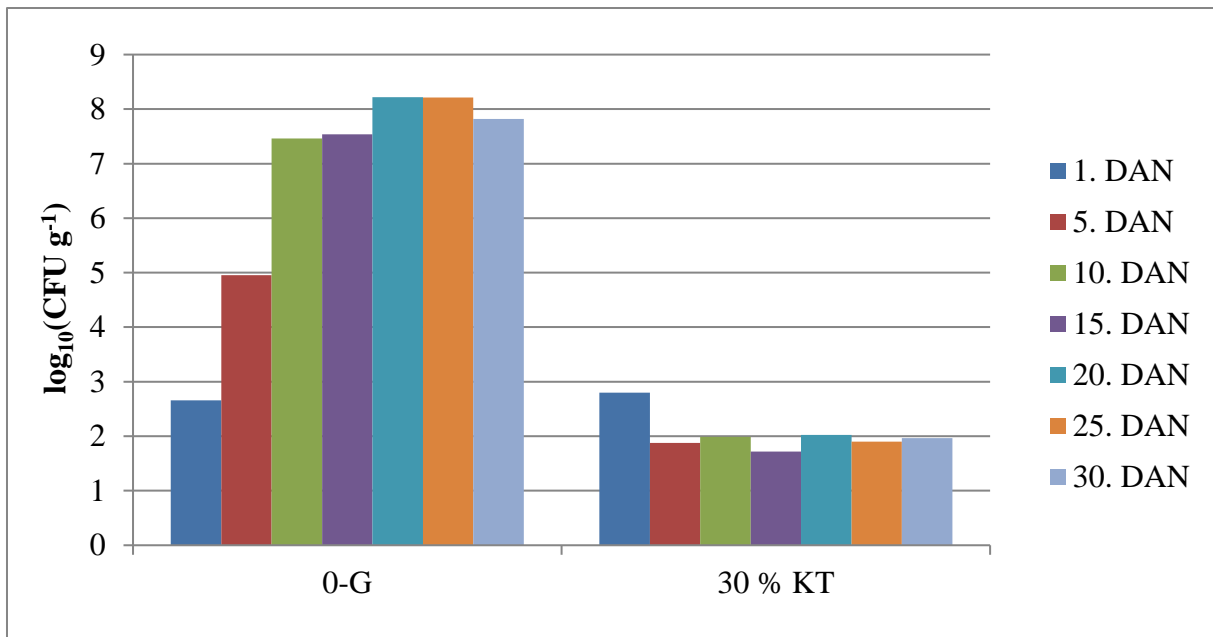
\* različitim slovima označene su statistički značajno različite vrijednosti istog parametra ( $p < 0,05$ )

Slika 29. Elastičnost, rezilijencija i kohezivnost kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja

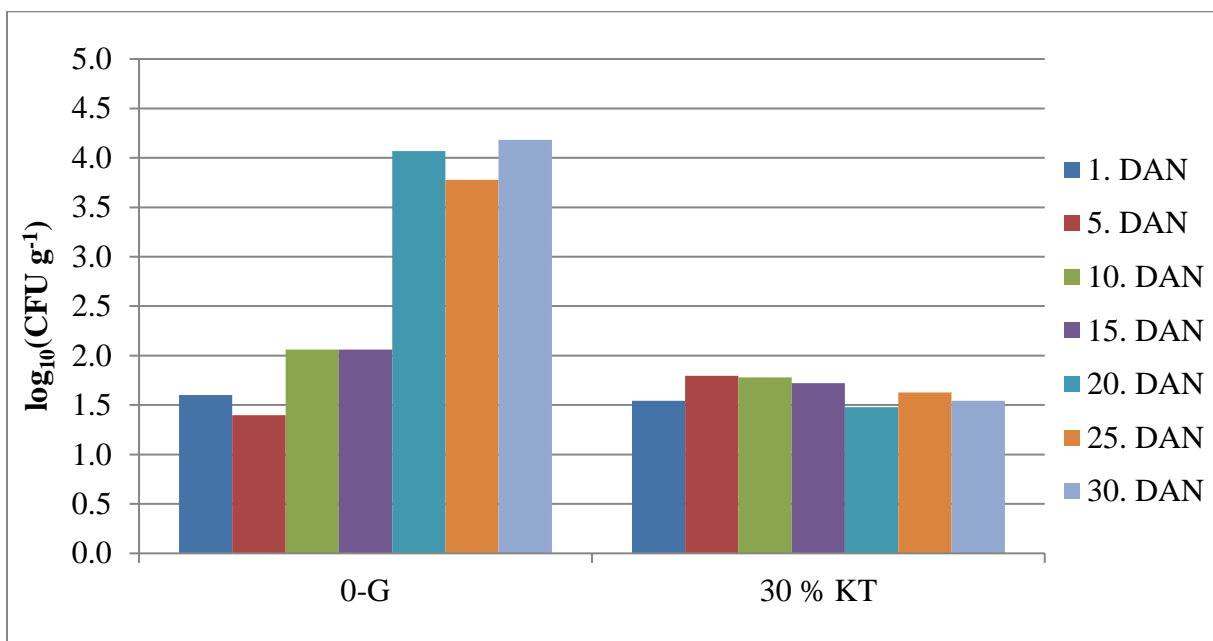
Prema rezultatima utvrđeno je da se elastičnost, rezilijencija i kohezivnost nisu značajno razlikovali tijekom 30 dana skladištenja kruha 0-G i 30 % KT (slika 29).

Kruh je proizvod podložan brzom kvarenju. Mikrobnog rasta rezultira promjenama u teksturi, boji, okusu i nutritivnoj vrijednosti hrane. Ove promjene mogu učiniti hranu potencijalno nesigurnom za konzumaciju. Glavni ograničavajući čimbenik trajnosti pekarskih proizvoda je rast plijesni (Rodriguez-Aguilera i Oliveira, 2009). Za produljenje trajnosti prehrambenih proizvoda koristi se pakiranje u modificiranoj atmosferi. MAP produljuje trajnost proizvoda tako što utječe na kontrolu biokemijske procese razgradnje i oksidacije, suzbija rast bakterija i plijesni te smanjuje gubitak vlage i stabilizira aktivitet vode (Vlašek i sur., 2013). Pakiranje u modificiranoj atmosferi može produljiti mikrobiološku ispravnost kruha. Vlašek i suradnici (2013) utvrdili su produljenje mikrobiološke ispravnosti (određivanjem porasta plijesni) bezglutenskog kruha s 12 na 15 dana pri sobnoj temperaturi, u slučaju pakiranja kruha u MAP.

Rezultati provedenih mikrobioloških analiza prikazani su na slikama 30, 31 i 32.

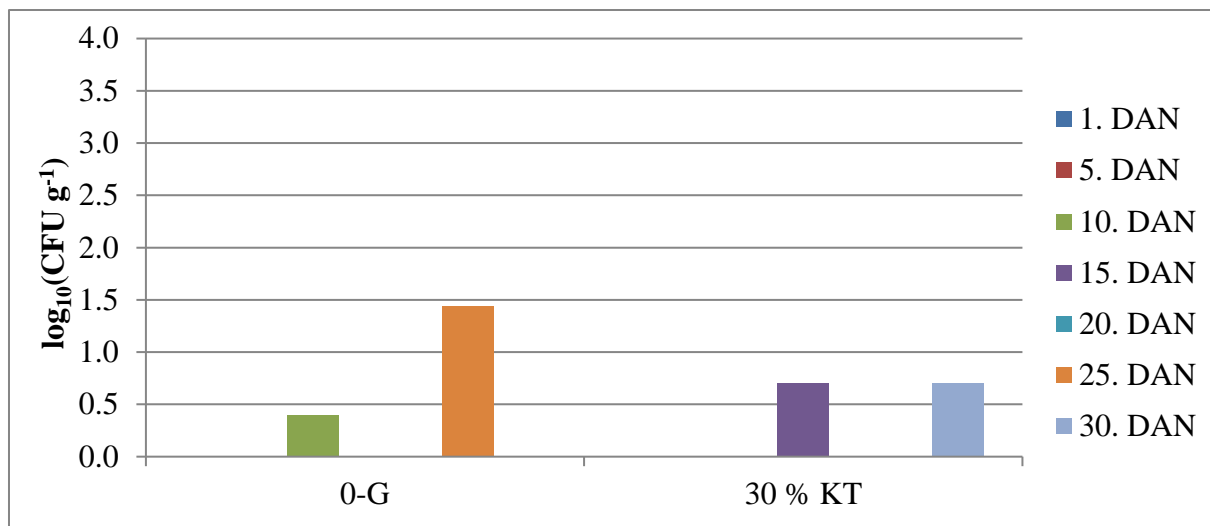


Slika 30. Srednja vrijednost broja poraslih kolonija aerobnih mezofilnih bakterija kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja



Slika 31. Srednja vrijednost broja poraslih kolonija aerobnih sporogenih bakterija kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja

Prema dobivenim rezultatima vidljiv je značajan porast broja aerobnih mezofilnih i aerobnih sporogenih bakterija tijekom skladištenja kruha 0-G. Nasuprot tome, broj aerobnih mezofilnih i aerobnih sporogenih bakterija u kruhu 30 % KT nije se značajno mijenjao tijekom skladištenja (slika 30 i 31).



Slika 32. Srednja vrijednost broja poraslih kolonija plijesni kruha 0-G i 30 % KT tijekom 30 dana skladištenja

Prema rezultatima određivanja porasta plijesni, kod kruha 0-G porast plijesni evidentiran je samo 10. i 25. dan skladištenja, a kod kruha 30 % KT 15. i 30. dan skladištenja (slika 32).

Dodatak kiselog tijesta u kojem BMK tijekom fermentacije proizvode mliječnu i octenu kiselinu te druge metabolite (alkohol, ester) ima značajan utjecaj na produljenje trajnosti proizvoda i zaštitu kruha od ranog kvarenja pod utjecajem djelovanja plijesni i bakterija (Mrvčić i sur., 2011).

Vizualni pregled kruha 0-G i 30 % KT na rast plijesni rađen je svaki dan i utvrđeno je kako nije postojala vidljiva pojava rasta plijesni kod oba uzorka tijekom 30 dana skladištenja.

U Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu definirani su kriteriji za kontrolu mikroorganizama pekarskih proizvoda (kruh, grisini, pereci, mlinci i prepečenci) i hladjenih i smrznutih tijesta. Budući da za polupečene proizvode nisu definirani kriteriji za kontrolu mikroorganizama dobiveni rezultati mikrobioloških analiza uspoređeni su s kriterijima za pekarske proizvode i hladjena i smrznuta tijesta (Pravilnik, 2010).

Prema kriteriju za aerobne mezofilne bakterije za hladjena i smrznuta tijesta ( $< 10^6$  CFU  $g^{-1}$ ) kao i kriteriju za aerobne sporogene bakterije za pekarske proizvode ( $< 10^2$  CFU  $g^{-1}$ ) kruh 0-G bio je mikrobiološki ispravan do 5. dana skladištenja, dok je kruh 30 % KT bio mikrobiološki ispravan kroz sve dane skladištenja. Rast plijesni kroz 30 dana skladištenja bio je kod oba kruha manji od postavljenog kriterija ( $10^4$  CFU  $g^{-1}$ ) za pekarske proizvode.

## 5. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

1. Kruh s dodatkom brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i različitog udjela kiselog tijesta (10 %, 20 %, 30 %) karakterizira tamnija boja i veći intenzitet crvene boje kore; svjetlija boja i veći intenzitet crvene i žute boje sredine kruha; smanjena tvrdoća, žvackljivost, kohezivnost i rezilijencija u odnosu na kruh bez njihovog dodatka (0-G).
2. Senzorska svojstva mirisa kore i sredine kruha, okusa, arome, izgleda i teksture kruha značajno su se razlikovala ovisno o dodatku brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima i različitog udjela kiselog tijesta. S obzirom na sveukupni doživljaj, potrošači najviše preferiraju kruh s 30 % kiselog tijesta.
3. Tijekom 30 dana skladištenja kontrolnog kruha 0-G i kruha s 30 % kiselog tijesta u modificiranoj atmosferi pri sobnoj temperaturi nije došlo do značajne promjene specifičnog volumena i teksture kruha (tvrdoća, žvackljivost, elastičnost, rezilijencija, kohezivnost). Utvrđeno je povećanje svjetline i smanjenje intenziteta crvene boje kore kruha 30 % KT od 5. dana skladištenja te smanjenje intenziteta žute boje kore, povećanje intenziteta crvene i žute boje sredine kruha 0-G od 20. dana skladištenja.
4. Budući da mikrobiološki kriteriji za polupečene pekarske proizvode nisu definirani, pri određivanju mikrobiološke ispravnosti kruha primijenjeni su kriteriji za pekarske proizvode te hlađena i smrznuta tijesta. Obzirom na usporedbu s postojećim kriterijima, kruh 0-G bio je mikrobiološki ispravan do 5. dana skladištenja, a kruh 30 % KT do 30. dana skladištenja.
5. Brašno žutog graška ima veliki potencijal za primjenu u proizvodnji bezglutenskog kruha s ciljem povećanja njegove prehrambene vrijednosti.
6. U kruhu s dodatkom brašna graška, prekursora aromatskih spojeva, enzima te kiselog tijesta (30 % KT) utvrđen je manji udjel škroba te veći udjel pepela, proteina, masti i šećera u odnosu na kruh bez njihovog dodatka (0-G). Može se zaključiti kako primjena kiselog tijesta u proizvodnji bezglutenskog kruha utječe na poboljšanje teksture sredine i senzorskih svojstava kruha te značajno produljuje njegovu mikrobiološku ispravnost.

## 6. LITERATURA

AACCI Method 62-05.01. Preparation of Sample: Bread

AACC Method 08-01. Ash– Basic Method

AACC Method 30-25. Crude Fat in Wheat, Corn, and Soy Flour, Feeds, and Mixed Feeds

AACC Method 46-12.01. Crude Protein Kjeldahl Method, Boric Acid Modification.

AACC Method 44-15A. Moisture Air-Oven Methods

Agboola, S. O., Mofolasayo, O. A., Watts, B. M., Aluko, R. E. (2010) Functional properties of yellow field pea (*Pisum sativum L.*) seed flours and the in vitro bioactive properties of their polyphenols. *Food Res. Int.* **43**, 582–588.

Anonymous (2019) Mahunarke, <<https://ap37.ru/hr/legumes/bean-plants-are-examples-of-the-name-bean-plants-fruit-and-ornamental-plants.html>>. Pristupljeno 23. ožujka 2019.

Anonymous (2019) Brašno žutog graška, <<https://www.shutterstock.com/search/gram%20flour>>. Pristupljeno 3. travnja 2019.

Anonymous (2019) Rižino brašno, <<https://www.shutterstock.com/search/rice+flour>>. Pristupljeno 23. kolovoza 2019.

Anonymous (2019) Brašno prosa, <<https://ceres.co.nz/ingredients/flours/millet-flour/>>. Pristupljeno 23. kolovoza 2019.

Anton, A. A., Artfield, S. D. (2008) Hydrocolloids in gluten-free breads: A review. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **59**, 11–23.

Arendt, E., Ryan, L., Dal Bello, F. (2007) Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiol.* **24**(2), 165–174.

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

Barbarić, I. (2008) Celijakija – pregled i predviđanja. *Medicina* **44**(3-4), 229–234.

Carson, L., Sun, X.S. (2001) Creep-Recovery of bread and correlation to sensory measurements of textural attributes. *Cereal Chem.* **78**, 101–104.

- Clerici, M., Airoidi, C., El-Dash, A. (2009) Production of acidic extruded rice flour and its influence on the qualities of gluten-free bread. *LWT-Food Sci. Technol.* **42**, 618–623.
- Coda, R., Rizzello C. G., Gobbetti, M. (2010) Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA). *Int. J. Food Microbiol.* **137**, 236–245.
- Corsetti, A., Settanni, L. (2007) Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Res. Int.* **40**, 539–558.
- Curiel, J. A., Coda, R., Centomani, I., Summo, C., Gobbetti, M., Rizzello, C. G. (2015) Exploitation of the nutritional and functional characteristics of traditional Italian legumes: the potential of sourdough fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* **196**, 51–61.
- Dahl, W. J., Foster, L. M., Tyler, R. T. (2012) Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum L.*). *Brit. J. Nutr.* **108**, 3–10.
- De la Hera, E., Rosell, C. M., Gomez, M. (2014) Effect of water content and flour particle size on gluten-free bread quality and digestibility. *Food Chem.* **151**, 526–531.
- De la Hera, E., Ruiz-París, E., Oliete, B., Gómez, M. (2012) Studies of the quality of cakes made with wheat-lentil composite flours. *LWT- Food Sci. Technol.* **49**(1), 48–54.
- De Vuyst, L., Neysens, P. (2005) The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends Food Sci. Tech.* **16**, 43–56.
- De Vuyst, L., Vancanneyt, M. (2007) Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. *Food Microbiol.* **24**, 120–127.
- Demirkesen, I., Sumnu, G., Sahin, S., Uysal, N. (2011) Optimisation of formulations and infrared–microwave combination baking conditions of chestnut–rice breads. *Int. J. Food Sci. Technol.* **46**(9), 1809–1815.
- Esteller, M.S, Lannes, S.C. (2008) Production and Characterization of Sponge-Dough Bread Using Scalded Rye. *J. Tex. Stud.* **39**, 56-67
- Galić, K., Ćurić, D., Gabrić, D. (2009) Shelf Life of Packaged Bakery Goods—A Review. *Crit Rev. Food Sci.* **49**(5), 405–426.
- Gallagher, E., Gormley, T. R., Arendt, E. K. (2004) Recent advances in the formulation of gluten-free cereal based products. *Trends Food Sci. Tech.* **15**, 143–152.

Gallagher, E., Gormley, T.R., Arendt, E.K. (2003) Crust and crumb characteristics of gluten-free breads. *J. Food Eng.* **56**, 153–161.

Ganzle, M.G., Vermeulen, N., Vogel, R.F. (2007) Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. *Food Microbiol.* **24**, 128–138.

Gray, J.A., BeMiller, J.N. (2003) Bread staling: molecular basis and control. *Compr. Rev. Food Sci.* **2**, 1-21.

Gujral, H. S., Rosell, C. M. (2004) Functionality of rice flour modified with a microbial transglutaminase. *J. Cereal Sci.* **39**, 225–230.

Gutiérrez, L., Batlle, R., Andújar, S., Sánchez, C., Nerín, C. (2011) Evaluation of antimicrobial active packaging to increase shelf life of gluten-free sliced bread. *Packag. Technol. Sci.* **24**(8), 485–494.

HRN ISO 1871:1999, Poljoprivredni prehrambeni proizvodi - Općenite upute za određivanje dušika Kjeldahlovom metodom (osnovna referentna metoda).

ICC Standard 125:1978. Method of Determining the Count of Aerobic Mesophilic Bacteria

ICC Standard 139:1986. Determination of Fungus Germ Count

ICC Standard 144:1992. Enumeration of Spores of Mesophilic Bacteria

Jalilzadeh, A., Tuncurk, Y., Hesari, J. (2015) Extension Shelf Life of Cheese: A Review. *Int. J. Dairy Technol.* **10**(2), 44–60.

Kalinova, J., Moudry, J. (2006) Content and quality of protein in proso millet (*Panicum miliaceum* L.) varieties. *Plan Foods Hum. Nutr.* **61**, 43–47.

Khoshakhlagh, K., Hamdami, N., Shahedi, M., Le-Bail, A. (2014) Quality and microbial characteristics of part-baked Sangak bread packaged in modified atmosphere during storage. *J. Cereal Sci.* **60**, 42-47.

Kohajdová, Z., Karovicová, J., Magala, M. (2013) Rheological and qualitative characteristics of pea flour incorporated cracker biscuits. *Croat. J. Food Sci. Technol.* **5**, 11–17.

Kotsianis, I., Giannou, V., Tzia, C. (2002) Production and packaging of bakery products using MAP technology. *Trends Food Sci. Tech.* **13**(9-10), 319–324.

Kovač, V. (2017) Razvoj testa i senzorska analiza mirisa bezglutenskog kruha. Diplomski rad,



Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb.

Le-Bail, A., Leray, G., Perronnet, A., Roelens, G. (2011) Impact of the chilling conditions on the kinetics of staling of bread. *J. Cereal Sci.* **54**, 13–19.

Lefebvre, D., Gabriel, V., Vayssier Y., Fontagne´-Faucher, C. (2002) Simultaneous HPLC Determination of Sugars, Organic Acids and Ethanol in Sourdough Process. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **35**, 407–414.

Lu, H., Zhang, J., Liub, K., Wu, N., Li, Y., Zhou, K., Ye, M., Zhang, T., Zhang, H., Yang, X., Shen, L., Xu, D., Li, Q. (2009) Earliest domestication of common millet (*Panicum miliaceum*) in East Asia extended to 10,000 years ago. *Proceedings of the National Academy of Sciences, Washington, DC*, str. 7367–7372.

Maninder, K., Sandhu, K., Singh, N. (2007) Comparative study of the functional, thermal and pasting properties of flours from different field pea (*Pisum sativum* L.) and pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) cultivars. *Food Chem.* **104**(1), 259–267.

McDonald, K., Sun, D. (2000) Vacuum cooling technology for the food processing industry: a review. *J. Food Eng.* **45**(2), 55–65.

Miñarro, B., Albanell, E., Aguilar, N., Guamis, B., Capellas, M. (2012) Effect of Legume Flours on Baking Characteristics of Gluten-Free Bread. *J. Cereal Sci.* **56**, 476–481.

Moroni, A. V., Dal Bello, F., Arendt, E. K. (2009) Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiol.* **26**, 676–684.

Mrvčić, J., Mikelec, K., Stanzer, D., Križanović, S., Bačun-Družina, V., Stehlik-Tomas, V. (2011) Sourdough – Traditional Methods for Improving Quality of Bakery Products. *Croat. J. Food Sci. Technol.* **6**, 89–99.

Muzquiz, M., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Guillamón, E., Pedrosa, M. M. (2012) Bioactive compounds in legumes: pronutritive and antinutritive actions. Implications for nutrition and health. *Phytochem. Rev.* **11**, 227–244.

Pathak, H. C. (2013) Role of Millets in Nutritional Security of India. New Delhi: National Academy of Agricultural Sciences, 1–16.

Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu (2010) *Narodne novine* **89**, Zagreb.

- Rodriguez-Aguilera, R., Oliveira, J. C. (2009) Review of Design Engineering Methods and Application of Active and Modified Atmosphere Packaging System. *Food Eng.* **1**, 66–83.
- Rosell, C. M., Collar, C. (2007) Rice-Based Products. U: Handbook of Food Products Manufacturing, (Hui, Y. H., ured.), John Wiley & Sons, Inc., Valencia, str. 523–534.
- Sciarini, L. S., Ribotta, P. D., León, A. E., Pérez, G. T.(2010) Influence of Gluten-free Flours and their Mixtures on Batter Properties and Bread Quality. *Food Bioprocess Technol.* **3**, 577–585.
- Sabanis, D., Lebesi, D. Tzia, C. (2009) Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten-free bread. *LWT-Food Sci. Technol.* **42**, 1380–1389.
- Saleh, A. S., Zhang, Q., Chen, J., Shen, Q. (2013) Millet grains: nutritional quality, processing, and potential health benefits. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **12**, 281–295.
- Shipman, F.P. (1978) Cake technology: interaction between product development and marketing. *Cereal Food World* **23**, 130–133.
- Smerdel, B., Pollak, L., Novotni D., Čukelj, N., Benković, M., Lušić, D., Čurić, D. (2012) Improvement of gluten-free bread quality using transglutaminase, various extruded flours and protein isolates. *JFNR* **51**, 1–12.
- Torbica, A., Hadnađev, M., Dapčević, T. (2010) Rheological, textural and sensory properties of gluten-free bread formulations based on rice and buckwheat flour. *Food Hydrocolloid.* **24**, 626–632.
- Torrieri, E., Pepe, O., Ventorino, V., Masi, P., Cavella, S.(2014) Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. *Food Sci. Technol.* **56**, 508–516.
- Vlášek, V., Langova, J., Štencl, J. (2013) Effect of modified atmosphere packaging on stability of three kinds of bread. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.* **6**, 1881–1887.
- Wang, L.J., Sun, D. W. (2001) Rapid cooling of porous and moisture foods by using vacuum cooling technology. *Trends in Food Sci. Tech.* **12**, 174–184.
- Ziobro, R., Witczak, T., Juszczak, L., Korus, J. (2013) Supplementation of gluten-free bread with non-gluten proteins. Effect on dough rheological properties and bread characteristic. *Food Hydrocolloid.* **32**, 213–220.



## 7.2. Primjer testa za deskriptivnu i hedonističku senzorsku analizu okusa i arome

Ime i prezime: \_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_

### Deskriptivna senzorska analiza okusa i arome kruha

Na skali **intenziteta** od 0 do 10 (**0 – nije detektirano, 10 – visoki intenzitet**) ocijenite intenzitet svojstava okusa i arome uzoraka. Ocjena može biti bilo koji broj od 0 do 10 (npr. 4,3 ili 9,7).

Svojstva		285	196	573	241
<b>Okus</b>	Slatko				
	Slano				
	Kiselost				
	Gorko				
<b>Aroma</b>	Sveukupno kisela				
	Mliječna				
	Tijesto				
	Kvasac				
	Riža				
	Kukuruz				
	Žitarice				
	Graškasta				
	Orašasta				
	Prašnjava, zagušljiva				
	Kokice				
	Pečeno				
	Masno				
	Užeglo				
Svježi kruh					
<b>Naknadno</b>	Naknadni gorki okus				
	Naknadna aroma graška				

### Hedonistička senzorska analiza okusa i arome kruha

Na ljestvici od 1 do 9 ocijenite **svidanje sveukupnog okusa i arome** svakog uzorka, pri čemu je:

- 1 – izrazito mi se ne sviđa
- 2 – veoma mi se ne sviđa
- 3 – umjereno mi se ne sviđa
- 4 – neznatno mi se ne sviđa
- 5 – niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa
- 6 – neznatno mi se sviđa
- 7 – umjereno mi se sviđa
- 8 – veoma mi se sviđa
- 9 – izrazito mi se sviđa

285	196	573	241

### 7.3. Primjer testa za senzorsku analizu izgleda i teksture

Ime i prezime: \_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_

Odredite u svim uzorcima **intenzitet pojedinog senzorskog svojstva** na skali **od 0 do 10**, gdje je:

- 0** – potpuno neizraženo
- 5** – srednje izraženo
- 10** – naročito visoko izraženo

Svojstvo		285	196	573	241
<b>Izgled</b>	<b>Boja kore</b>				
	<b>Boja sredine</b>				
	<b>Poroznost sredine</b>				
<b>Tekstura</b>	<b>Mrvljivost</b> na dodir, količina mrvica nakon prelaska prstom 3 puta u istom smjeru po površini sredine				
	<b>Vlažnost</b> pri žvakanju				
	<b>Tvrdoća</b> sila potrebna za zagriz kroz sredinu s prednjim zubima				
	<b>Žvakljivost</b> sila potrebna za pripremu zalogaja za gutanje				
	<b>Ljepljivost</b> sila potrebna za uklanjanje s nepca, zubiju i jezika				

### 7.4. Primjer testa za hedonističku senzorsku analizu sveukupnog doživljaja

Ime i prezime: \_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_

#### Hedonistička senzorska analiza sveukupnog doživljaja kruha

Na ljestvici od 1 do 9 ocijenite uzorak s obzirom na sveukupni doživljaj, pri čemu je značenje ocjena:

- 1** – izrazito mi se ne sviđa,
- 2** – veoma mi se ne sviđa,
- 3** – umjereno mi se ne sviđa,
- 4** – neznatno mi se ne sviđa,
- 5** – niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa,
- 6** – neznatno mi se sviđa,
- 7** – umjereno mi se sviđa,
- 8** – veoma mi se sviđa,
- 9** – izrazito mi se sviđa.

Uzorak	285	196	573	241
Ocjena sviđanja				

#### Test nizanja po preferenciji

Poredajte uzorke od onog kojeg sveobuhvatno najviše preferirate do najmanje poželjnog:

- 1**– najviše preferiram **285** \_\_\_\_\_
- 4**– najmanje preferiram **196** \_\_\_\_\_
- 573** \_\_\_\_\_
- 241** \_\_\_\_\_

## IZJAVA O IZVORNOSTI

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

---

Ime i prezime studenta