

# Optimiranje proizvodnje zobenog napitka iz zrna zobi te proizvodnja fermentiranog proizvoda

---

**Križanac, Valentina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*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:159:294025>

*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

Zagreb, rujan 2021.

Ime i prezime: Valentina Križanac

Matični broj: 1345/PI

**OPTIMIRANJE PROIZVODNJE  
ZOBENOG NAPITKA IZ ZRNA  
ZOBITE PROIZVODNJA  
FERMENTIRANOG PROIZVODA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Rajke Božanić te uz pomoć doc. dr. sc. Katarine Lisak-Jakopović i tehničke suradnice Željke Mirković.

## **ZAHVALA**

*Najviše se zahvaljujem svojim roditeljima na najvećoj podršci tijekom cijelog studiranja. Zatim bih se zahvalila svom dečku Anti jer je cijelo vrijeme bio uz mene. Veliko hvala i mojoj sestri Katarini. Toplo se zahvaljujem svim prijateljicama s fakulteta Danijeli, Maji i Angeli, a posebno Terezi.*

*Od srca se zahvaljujem mentorici, profesorici Rajki Božanić na prihvaćenom mentorstvu, pomoći i podršci pri izradi diplomskog rada. Zahvaljujem se i doc.dr.sc. Katarini Lisak Jakopović na pomoći te tehničkoj suradnici Željki Mirković. Posebne zahvale dugujem i dr. sc. Editi Juraga, Atera d.o.o. za donaciju starter kultura.*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

### OPTIMIRANJE PROIZVODNJE ZOBENOG NAPITKA IZ ZRNA ZOB I TE PROIZVODNJA FERMENTIRANOG PROIZVODA

*Valentina Križanac, 1345/PI*

**Sažetak:** U ovom radu istraživala se mogućnost uporabe oljuštenog zrna zobi kao baze za razvoj zobenog napitka i fermentiranih zobenih napitaka s dodatkom hidrokoloida. Praćena je fermentacija te čuvanje napitaka tijekom 35 dana za fermentirane napitke Natur i Rogač, odnosno 28 dana za zoben napitak. Duljina fermentacije za napitak Natur iznosila je 4,75 h, a za napitak Rogač 6,7 h. Praćena je promjena pH vrijednosti, udjela suhe tvari, pepela, soli, maltoze te reologije i senzoričke napitaka. Mikrobiološke analize koje su se provodile tijekom čuvanja napitaka nisu pokazale pozitivne rezultate na patogene mikroorganizme. Rezultati provedene senzorske procjene napitaka pokazali su da su napitci dobro prihvaćeni od strane panelista. Senzorski je najbolje ocijenjen napitak s rogačem. Rok trajanja zobenog napitka procijenjen je na 28 dana, napitka Natur na 21 dan te napitka Rogač na 35 dana u hladnjaku.

**Ključne riječi:** brašno sjemenki rogača, fermentirani napitak, natur, rogač, zob

**Rad sadrži:** 55 stranica, 9 slika, 16 tablica, 45 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** *Rajka Božanić, prof.dr.sc.*

**Pomoć pri izradi:** *Katarina Lisak Jakopović, doc.dr.sc.*  
*Željka Mirković, teh. sur.*

#### **Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. doc.dr.sc. *Irena Barukčić*
2. prof.dr.sc. *Rajka Božanić*
3. izv.prof.dr.sc. *Dubravka Novotni*
4. doc.dr.sc. *Marko Obranović (zamjena)*

**Datum obrane:** 27. rujna 2021.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Department of Food Engineering

Laboratory for milk technology and milk products

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Food Technology

### OPTIMIZATION PRODUCTION OAT BEVERAGE FROM OAT GRAIN AND PRODUCTION FERMENTED PRODUCT

*Valentina Križanac, 1345/PI*

**Abstract:** *In this paper the research was based on possibility of using peeled oats as a base for the development oat beverage and fermented oat beverages with the addition of hydrocolloids. The fermentation and storage of beverages were monitored for 28 days and 35 days for fermented beverages Natur and Rogac. Fermentation lasted for 4.75 hours for Natur beverage and 6.7 hours for Rogac beverage. The parameters that were monitored are pH value, dry matter content, ash, salt, maltose and rheology and sensory properties Microbiological analyzes, which were performed during storage, did not show positive results on pathogenic microorganisms. The result of the sensory evaluation of the beverages showed that the beverages were well accepted by the panelists. The beverage with carob was the best sensory rated. The shelf life of the oat drink was estimated to 28 days under refrigerated storage, 21 days for Natur nad 35 days for Rogac.*

**Keywords:** *carob seed flour, fermented beverage, natur, rogac, oats*

**Thesis contains:** 55 pages, 9 figures, 16 tables, 45 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:** Rajka Božanić, prof.dr.sc.

**Technical support and assistance:** *Katarina Lisak Jakopović, doc.dr.sc.*  
*Željka Mirković, technician*

#### Reviewers:

1. PhD. *Irena, Barukčić* Assistant professor
2. PhD. *Rajka, Božanić*, Full professor
3. PhD. *Dubravka, Novotni*, Associate professor
4. PhD. *Marko, Obranović*, Assistant professor (substitute)

**Thesis defended:** 27 September, 2021

## SADRŽAJ:

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	3
2.1. ZOB ( <i>Avena sativa</i> ).....	3
2.1.1. Kemijski sastav zrna zobi i nutritivna vrijednost.....	4
2.1.2. Hrana na bazi zobi .....	7
2.2. HIDROKOLOIDI .....	7
2.2.1. Škrob.....	8
2.2.2. Pektin.....	9
2.2.3. Brašno cijelih sjemenki rogača .....	11
2.3. FERMENTIRANI NEMLIJEČNI NAPITCI.....	13
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	15
3.1 MATERIJALI.....	15
3.2. METODE RADA .....	16
3.2.1. Priprema zobenog napitka .....	16
3.2.2. Mikrobiološke analize .....	17
3.2.3. Određivanje kiselosti fermentiranih napitaka od zobi (određivanje pH vrijednosti napitka) .....	20
3.2.4. Direktna metoda za određivanje ukupne suhe tvari (sušenje u sušioniku) .....	20
3.2.5. Određivanje pepela (udjela mineralnih tvari).....	22
3.2.6. Određivanje udjela natrijevog klorida metodom po Mohru .....	23
3.2.7. Određivanje udjela laktoze u mlijeku metodom prema Loof-Schoorlu.....	25
3.2.8. Senzorska analiza fermentiranih napitaka od zobi .....	29
3.2.9. Određivanje reoloških parametara.....	31
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	33
4.1. RAZVOJ RECEPTURE .....	33
4. 2. PROSJEČNA DULJINA FERMENTACIJE.....	35
4. 3. FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI NAPITAKA .....	36
4.3.1. Rezultati mikrobiološke ispravnosti napitaka.....	36
4.3.2. pH vrijednost, udio suhe tvari i maltoze u napitcima .....	39
4.3.3. Udio soli i mineralnih tvari u napitcima .....	41
4.3.4. Reološka svojstva napitaka.....	42
4.3.5. Senzorska procjena napitaka .....	46
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	51





# 1. UVOD

Zob (*Avena sativa* L.) je hladna klimatska kultura. Sjeverne zemlje poput Kanade, Finske i Švedske imaju dugu tradiciju uporabe zobi u raznim namirnicama. U usporedbi s ostalim žitaricama, zob ima veće zdravstvene dobrobiti što doprinosi njezinom pozitivnom ugledu među potrošačima (Banovic i sur., 2018). Zob je jedinstvena žitarica i nutritivno bogata hrana jer sadrži izvrstan profil lipida i velike količine topljivih prehrambenih vlakana (Decker i sur., 2014). Uz zob se vežu brojni pozitivni utjecaji na zdravlje kao što su prevencija dijabetesa, dislipidemije, hipertenzije, upalnih stanja i vaskularnih oboljenja. Pozitivan utjecaj zobi na zdravlje prvenstveno se pripisuje dijetalnim vlaknima, točnije  $\beta$ -glukanu (Angelov, 2018). Uprava za hranu i lijekove (FDA) i Europska unija (EU) imaju odobrene zdravstvene tvrdnje da  $\beta$ -glukan djeluje na snižavanje razine kolesterola u krvi i održavanje razine glukoze u krvi (EFSA, 2010; FDA, 1997). Zob također sadrži brojne fenolne spojeve koji imaju antioksidacijsko djelovanje (McGee, 2004).

Od prisutnih masti najznačajnije su nezasićene linoleinska i oleinska kiselina, a od prisutnih aminokiselina najznačajniji je lizin.

Posljednjih godina sve veća briga za zdravlje i promjene u preferencijama potrošača prema funkcionalnoj hrani dovele su do mnogobrojnih istraživanja o utjecaju hrane na zdravlje, kao i razvoju proizvoda zdrave hrane. Također je došlo i do povećane potražnje za funkcionalnim napitcima. Sojin napitak je prvo nemliječno funkcionalno piće na tržištu (Bricarelo i sur., 2004). Sve veća potrošnja sojinog napitka dovela je do potrebe za razvojem funkcionalnih pića i iz drugih izvora.

Zbog svog nutritivnog sastava i pozitivnog utjecaja na zdravlje, kao i prirodnog odsustva glutena, zob predstavlja zanimljivu sirovinu za razvoj inovativnih funkcionalnih namirnica na bazi žitarica bez glutena. Sve veća svijest potrošača o odnosu prehrane i zdravlja, zaštite okoliša i prava životinja zajedno s patološkim aspektima kao što su netolerancija na laktozu i alergija na kravlje mlijeko doveli su do sve veće potražnje prema prirodnoj i zdravoj hrani na biljnoj bazi. U današnje vrijeme fermentirani napitci na biljnoj bazi jedan su od najvažnijih segmenata unutar funkcionalnog prehrambenog sektora (Aparicio-García i sur., 2021).

Cilj ovog istraživanja je proizvesti zobeni napitak iz oljuštenog zrna zobi metodom ekstrakcije te optimirati proces fermentacije zobenog napitka. Odabrat će se optimalna kultura za

fermentaciju zobenog napitka te dodaci kao što su pektin, škrob te brašno sjemenki rogača kako bi se dobio fermentirani zobeni napitak konzistencije slične jogurtu. Također, pratit će se fizikalno-kemijska i senzorska svojstva napitka određivanjem udjela suhe tvari, mineralnih tvari, soli, teksture svakih 7 dana, uključujući prvi i posljednji dan. Pratit će se stabilnost i mikrobiološka ispravnost tijekom 35, odnosno 28 dana čuvanja u hladnjaku na temperaturi od 4 °C.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. ZOB (*Avena sativa*)

Prema Pravilniku o žitaricama i proizvodima od žitarica žitarice su biljne vrste iz porodice trava (*Poaceae*) u koje se ubraja: pšenica (uključujući krupnik/pir i khorasan), raž, ječam, zob, kukuruz, riža, proso, sirak i pšenoraž (tritikale) te heljda iz porodice dvornika (*Polgonaceae*). Oljuštene žitarice su žitarice dobivene ljuštenjem pljevice ili skidanjem pljevice drugom odgovarajućom obradom (Pravilnik, 2016).

Zob (*Avena sativa*) je biljna vrsta iz porodice *Poaceae* te se ubraja u žitarice koja je porijeklom najvjerojatnije iz Jugozapadne Azije. Zbog mogućnosti raznolike primjene od davnina je igrala važnu ulogu u poljoprivredi. U grčko i rimsko doba smatrala se korovom ili bolesnim oblikom pšenice (McGee, 2004). Taksonomske informacije o zobi prikazane su u tablici 1.

Prema podacima iz 2019. godine, proizvedeno je 23,5 milijuna tona zobi. Najveći svjetski proizvođači zobi su Ruska Federacija, Kanada, Australija, Španjolska te SAD (FAO, 2019).

Tablica 1. Taksonomske informacije o zobi (Masood i sur., 2008)

---

Sistematika
Carstvo: <i>Plantae</i>
Potcarstvo: <i>Tracheobionta</i>
Koljeno: <i>Spermatophyta</i>
Potkoljeno: <i>Magnoliophyta</i>
Razred: <i>Liliopsida</i>
Podrazred: <i>Commelinidae</i>
Porodica: <i>Poaceae</i>
Red: <i>Cyperales</i>
Rod: <i>Avena</i> L.
Vrsta: <i>Avena sativa</i> L.

### 2.1.1. Kemijski sastav zrna zobi i nutritivna vrijednost

Zob karakterizira visok udio ugljikohidrata, primarno škroba, visok udio proteina, masti, vitamina i minerala, te topivih vlakana koja ju čine posebnom i iznimno prehranbeno vrijednom u odnosu na druge žitarice (Lásztity, 1998). Prosječan kemijski sastav zrna zobi prikazan je u tablici 2.

Zrno zobi sadrži velike količine neškrobnih polisaharida koji su glavni sastojci dijetalnih vlakana. Dijetalna vlakna iz zobi imaju važnu ulogu u prehrani ljudi zbog pozitivnog učinka u prevenciji nekih bolesti. Upravo zbog toga bila su potaknuta brojna istraživanja vezana uz neškrobne polisaharide (Lásztity, 1998). Ukupni udio vlakana u zobi varira između 10,9 i 13,9 %, od čega je topivih vlakana 5,4 – 7,7 %, a od toga u prosjeku 4,6 %  $\beta$ -glukana i 3,2 % arabinoksilana (pentozana) (Serna-Saldivar, 2010). Najistraživaniji i u zobi najznačajniji je  $\beta$ -glukan koji čini oko 55 % prehranbenih vlakana. To je linearna nerazgranata molekula koja se sastoji od 1–4-O- i 1–3-O-  $\beta$ -D-glukopiranozilnih jedinica, a ta struktura zaslužna je za fizikalna svojstva topljivosti i viskoznosti čime pozitivno utječe na metabolizam kolesterola u tijelu. Najveći udio  $\beta$ -glukana smješten je u endospermu, a nešto manji u aleuronskom sloju (Englyst i sur., 1989).

Ukupni sadržaj ugljikohidrata (uključujući celulozu i neškrobne polisaharide) može iznositi i 75-80 % suhe tvari. Škrob je glavna komponenta zobi. Sadržaj škroba ovisi o sorti i uvjetima uzgoja, a udio škroba varira od 39 do 55 % (Lásztity, 1998).

Od svih žitarica zob sadrži najviši udio proteina. Sadržaj proteina u zrnu zobi varira između 11 i 15 %, a zabilježen je i sadržaj proteina od čak 24 %. Aminokiselinski sastav proteina zobi bolji nego kod ostalih žitarica. To je povezano s višim sadržajem lizina i ostalih esencijalnih aminokiselina. Upravo zbog dobre hranjive vrijednosti zobenih proteina napori jesu bili uloženi za razvoj koncentrata od proteina zobi (Lásztity, 1998).

Kao što zob sadrži najviši udio proteina od svih žitarica, tako se razlikuje od ostalih žitarica i zbog većeg sadržaja lipida. Udio lipida u zrnu zobi varira u rasponu od 3,1 do 10,9 %. Glavne zastupljene masne kiseline u zrnu zobi jesu višestruko nezasićena linoleinska (38,1 %), palmitinska (17,2 %) i oleinska masna kiselina (39,7 %) (Lásztity, 1998).

Sadržaj mineralnih tvari u zobi uglavnom iznosi 2-3 %. Kao i kod ostalih žitarica glavne mineralne tvari su fosfor, kalij, magnezij i kalcij (Lásztity, 1998).

Zrno zobi sadrži i antioksidanse koji štite lipide od oksidacije i važni su za stabilnost skladištenja proizvoda od zobi. To je prvenstveno tokoferol (vitamin E) (Lásztity, 1998). Zob je od vitamina najbogatija vitaminom E, a u odnosu na druge žitarice bogatija je tiaminom (B1) i pantotenskom kiselinom (B5). Uz tokoferole, u zrnu zobi prisutni su mnogi niskomolekularni spojevi, tj. fenolni spojevi. Od fenolnih spojeva najznačajniji su avenantramidi.

Konzumacija zobi i proizvoda od zobi povezana je sa snižavanjem serumskog kolesterola i smanjenjem rizika od kardiovaskularnih bolesti, kao i prevencijom raka, dijabetesa i gastrointestinalnih poremećaja. Američka agencija za hranu i lijekove (FDA, 1997) i Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA, 2010) odobrile se zdravstvene tvrdnje da  $\beta$ -glukan ima sposobnost smanjenja kolesterola i rizika kardiovaskularnih bolesti. Postoje čvrsti dokazi da, uz navedeno, smanjuje i razinu glukoze u krvi, a svi benefiti pripisuju se njegovim fizikalno-kemijskim i reološkim karakteristikama kao što su molekulska masa, konformacija, topivost u vodi i viskoznost (Martínez-Villaluenga i Peñas, 2017).

Tablica 2. Prosječni sastav zobi na 100 g (USDA National Nutrient Database)

<b>Sastojak</b>	<b>Jedinica</b>	
Energija	Kcal	389
Voda	g	8,22
Proteini	g	16,89
Masti (ukupno)	g	6,90
- zasićene	g	1,217
- mononezasićene	g	2,178
- polinezasićene	g	2,535
Kolesterol	mg	0
Ugljikohidrati (ukupno)	g	66,27
Prehrambena vlakna	g	10,60
- topiva vlakna	g	4
- β-glukan	g	3,55
Vitamin C	mg	54
Vitamin B <sub>1</sub>	mg	0,763
Vitamin B <sub>3</sub>	mg	0,139
Vitamin B <sub>6</sub>	mg	0,119
Folat	mg	56
B <sub>12</sub>	mg	0
Vitamin A	mg	0
Vitamin D	mg	0
Kalcij	mg	54
Željezo	mg	4,72
Magnezij	mg	177
Fosfor	mg	523
Kalij	mg	429
Natrij	mg	2
Cink	mg	3,97
Mangan	mg	4,92
Selen	μg	45

### 2.1.2. Hrana na bazi zobi

Najčešći način konzumacije zobi je u obliku zobnih pahuljica. U trgovinama namirnica mogu se naći razne vrste zobnih pahuljica koje se brzo sprema („quick-cooking“) (McGee, 2004).

Kako bi zob bila probavljivija (mekša) za jelo, škrob u krupici mora biti želatiniziran. Granule škroba su sastavljene od dva različita polisaharida: amiloze i amilopektina. Pretvaranje zobi u poželjniju hranu zahtijeva zagrijavanje škroba u prisutnosti vode čime dolazi do bubrenja i dobiva se mekana zobena kaša. Zobene kaše za brzo spremanje sadrži zobne pahuljice koje su tanje od klasičnih zobnih pahuljica, pa njihov škrob može brže upiti vodu i tako se smanjiti za vrijeme kuhanja. Kremasta tekstura zobene kaše dolazi od svojstava topljivih vlakana koja vežu vodu (Decker i sur., 2014).

Najčešće se izrađuju gotove žitarice za doručak od zobnog brašna, postupkom ekstruzije ili valjanja i pečenja. Škrobne granule u ovakvim vrstama proizvoda lako mogu apsorbirati vlagu i omekšat će bez kuhanja, npr. kao što se pomiješaju samo s mlijekom. Zob se također koristi kako bi se dobili proizvodi kao što su granola, kolačići i palačinke, proizvodi za zalogajnice, te se koriste kao punila u mesnim jelima kao što su crno-bijeli pudinzi ili kao što je slani puding „Haggis“ i kao izvor ugljikohidrata za fermentiranu hranu kao što je pivo (Decker i sur., 2014).

## 2.2. HIDROKOLOIDI

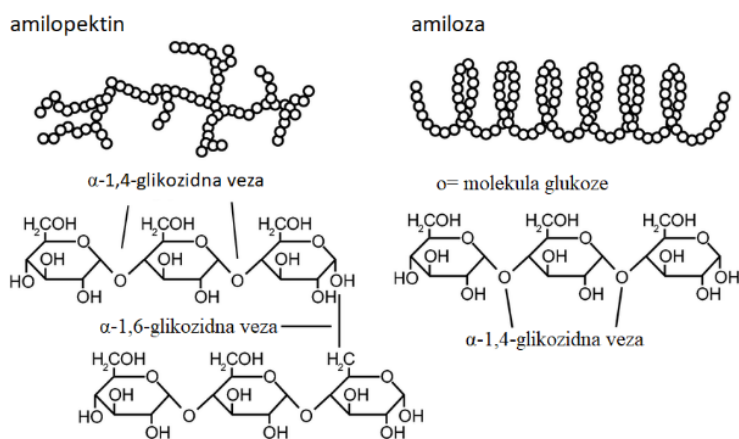
Hidrokoloidi su hidrofilni polimeri dobiveni iz niza različitih izvora, uključujući biljke (npr. brašno sjemenki rogača, karagenan, pektin, škrob), životinje (npr. kitozan), mikrobnе (npr. ksantan) ili kemijske modifikacije prirodnih polisaharida (npr. karboksimetil celuloza). Općenito posjeduju mnoge hidroksilne skupine i mogu biti polielektroliti. Hidrokoloidi su inkorporirani u hranu uglavnom kako bi kontrolirali reologiju i strukturu. U vodenom okruženju hidrokoloidi bubre povećavajući hidrodinamički volumen, a time povećavaju i viskoznost sustava. Uz to, ako hidrokoloidi upiju dovoljno vode zbog svoje koncentracije, njihovi će lanci međusobno djelovati, dajući želiranu mrežu. Hidrokoloidni gelovi mogu se proizvesti u visokim koncentracijama polimera ili smanjenjem kvalitete otapala (tj. promjenom pH ili ionske snage). Na primjer, dodavanjem dovoljne količine  $K^+$  iona u otopinu tekućeg k-karagenana dobije se gel. Zbog njihovog bubrenja, hidrokoloidi su potrebni samo u niskim koncentracijama da bi postigli željeni učinak na mikrostrukturu hrane (O’Sullivan i O’Mahony, 2016). U ovom radu



korišteni hidrokoloidi su škrob i pektin. Iako se škrob i guar guma primarno koriste kao zgušnjivači, a pektin u procesima želiranja (Saha i Bharracharya, 2010), za potrebe ovog rada, oba navedena hidrokoloida korištena su kao zgušnjivači. Brašno sjemenki rogača također se dodavalo u svrhu zgušnjavanja.

### 2.2.1. Škrob

Škrob je dugolančani polimer sastavljen od  $\alpha$ -D-glukopiranoznih jedinica opće formule  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Osnovnu gradivnu jedinicu škroba čine 2 polisaharida: amiloza i amilopektin, prikazani na slici 1. Amiloza se sastoji od glukoznih jedinica povezanih  $\alpha$ -1,4 glikozidnom vezom s manjim brojem bočnih ogranaka povezanih  $\alpha$ -1,6 vezom s glavnim lancem. Amilopektin je razgranati polimer  $\alpha$ -D-glukoznih jedinica povezanih  $\alpha$ -1,4 i  $\alpha$ -1,6 glikozidnom vezom. Prosječni udio amiloze u škrobu iznosi 20-30 %, a prosječni udio amilopektina u škrobu iznosi 70-80 %. U usporedbi s amilozom, amilopektin je puno veća molekula s većom molekulskom masom i jako razgranatom strukturom izgrađenom od oko 95% ( $\alpha$ -1,4) i 5% ( $\alpha$ -1,6) veza. Lanci amilopektinskih jedinica relativno su kratki u usporedbi s molekulama amiloze. Obično su duge 18-25 jedinica u prosjeku (Omoregie Egharevba, 2020).



Slika 1. Kemijska struktura amiloze i amilopektina (Willfahrt, 2019)

Jedan od najčešće korištenih hidrokoloida za zgušnjavanje je škrob. Relativno je jeftin, ne utječe na okus ako se koristi u niskim koncentracijama od 2-5 %. Smatra se najvažnijim hidrokolidom za teksturu juha i umaka. Upotrebljava se u izvornom i u modificiranom obliku.

Često se dodaje i drugim zgušnjivačima kako bi se poboljšala struktura proizvoda. Daje teksturu i viskoznost mliječnim proizvodima kao na primjer jogurtu i raznim pudinzima, utječe na stabilnost tijesta za pekarske proizvode, u slastičarstvu doprinosi konzistenciji te može zamijeniti želatinu (Wüstenberg, 2015).

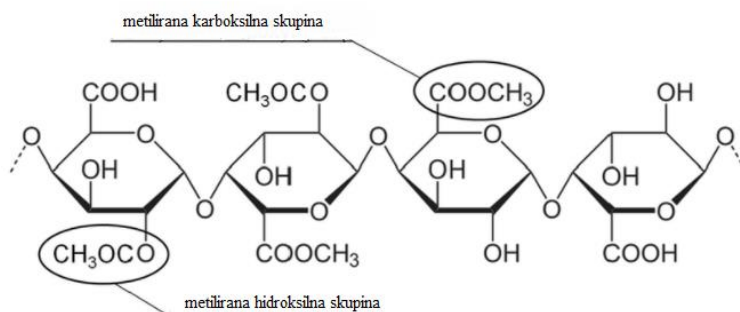
### 2.2.2. Pektin

Pektinskim tvarima se naziva skupina anionskih heteropolisaharida pronađenih u središnjoj lameli i primarnoj staničnoj stijenci plodova biljaka kritosjemenjača. Pektinske tvari čine jednu trećinu suhe tvari primarne stanične stijenke voća i povrća. Prema nomenklaturi Američkog kemijskog društva:

Pektin (pektininska kiselina) čine jedinice galakturonske kiseline koje su djelomično ili potpuno esterificirane metilnim alkoholom te u staničnoj stijenci može postojati u obliku soli (pektinata) i to obično kalcijevih. Topljiv je u vodi.

Pektinska kiselina je građena od jedinica galakturonske kiseline koje nisu esterificirane, a njihove soli zovu se pektati. Nisu topljivi u vodi (Levaj, 2020).

Pektin je građen od D-galakturonske kiseline povezane  $\alpha(1\rightarrow4)$ -vezom (glikozidno povezane D-galaktopiranoziluronske kiselinske jedinice) čije su mnoge karboksilne skupine esterificirane s metilnim alkoholom što je prikazano na slici 2. Mjestimično je prekinuta (1 $\rightarrow$ 2)L-ramnozom. Na glavni lanac vezani su kraći bočni lanci različite duljine koji su izgrađeni većinom od neutralnih šećera (Levaj, 2020).



Slika 2. Pojednostavljena shema molekule pektina s moguće dodanim metiliranim i acetiliranim karboksilnim skupinama (Schmidt i sur., 2015)

Što je veća molekulska masa to su više izražena koloidna svojstva pektina, a s tim i sposobnost želiranja, te se pektini s većom molekulskom masom smatraju i kvalitetnijim. Usporedno s povećanjem molekulske mase opada njegova topljivost u vodi (Levaj, 2020).

Stupanj esterifikacije izražava udio esterificiranih skupina, naspram ukupnog broja karboksilnih skupina. Izražava se u %. Prema stupnju esterifikacije komercijalni pektini se dijele na: visokoesterificirane sa stupnjem esterifikacije većim od 50 % i niskoesterificirane sa stupnjem esterifikacije manjim od 50 %. Ovisno o stupnju esterifikacije pektini tvore gel strukturu različitim mehanizmima slično kao u biljci (Milani i Maleki, 2012). Potpuno esterificirani pektin, kao i pektinska kiselina, nemaju želirajuća svojstva. Pektinska kiselina je netopljiva, a potpuno esterificirani pektin nema dovoljno aktivnih skupina (Levaj, 2020).

Stupanj esterifikacije utječe na topljivost pektina u vodi, na brzinu želiranja, kao i na njegovu toleranciju prema šećerima. S porastom stupnja esterifikacije raste topljivost pektina, kao i brzina želiranja i tolerancija prema šećeru (Levaj, 2020).

Različiti su mehanizmi stvaranja želea za visokoesterificirani i niskoesterificirani pektin. Kod visokoesterificiranog pektina, žele se formira pri pH vrijednosti ispod 3,6 i uz prisutnost šećera u udjelu iznad 55 %. Šećer se dodaje kako bi se stvorilo dovoljno hidrofobnih interakcija u svrhu stabilizacije povezanih polimernih molekula. Niskoesterificirani pektin želira uz dodatak  $\text{Ca}^{2+}$  iona (dolazi do stvaranja ionske veze između kalcijevih iona i karboksilnih skupina dva pektinska lanca) (Flutto, 2003).

Pektin se smatra prirodnim zgušnjivačem, stabilizatorom, sredstvom za želiranje i povećanje volumena, a proizvodi se ekstrakcijom iz voća (jabuke, citrusi i dr.). Smatra se najpoželjnijim sredstvom za želiranje za kisele voćne gelove. Najpoželjniji je hidrokoloid u pripremi džemova i želea, te je pogodan i u izradi raznih glazura u pekarskoj industriji, izradi deserata na vodi i na mlijeku i raznim mliječnim proizvodima poput jogurta. Želatina kao hidrokoloid za želiranje ima široku primjenu u slastičarstvu. Njezini gelovi se tope već i na niskim temperaturama i pokazuju svoju gel strukturu (Saha i Bhattacharya, 2010).

Pektin se smatra sigurnim dodatkom hrani i dobio je dozu „nije određeno“ prihvatljivog dnevnog unosa (ADI) od strane odbora FAO / WHO i Europske unije. Nadalje, američka FDA pektinu dodjeljuje GRAS (generally recognized as safe) status. Posebno, Codex Alimentarius i američke specifikacije uključuju amidirane i neamidirane pektine u jednu klasu. Zakonodavstvo EU razlikuje neamidirane i amidirane pektine. Ipak, obje vrste su označene kao E 440, a

dopuštena uporaba je identična, osim za organsku hranu gdje je dopušten samo neamidirani pektin (Wüstenberg, 2015).

### 2.2.3. Brašno cijelih sjemenki rogača

Rogač je zimzelen grm ili stablo iz porodice mahunarki. Znanstveni naziv rogača *Ceratonia siliqua*, L. dolazi od grčke riječi keras, što znači rog, aludirajući na oblik rogačevog ploda, i latinske riječi siliqua, što znači silicij, aludirajući na njegovu tvrdoću. U svijetu postoji velik broj sorti rogača, a među najkvalitetnije ubrajaju se i neke od hrvatskih sorti (Dragojević, 2017).

Šipanski rogač, iz kojeg je dobiveno brašno cijelih sjemenki rogača koje je korišteno u radu, je autohtona sorta koja se najviše uzgaja na otoku Šipanu, te u Dubrovačkom primorju. Ubraja se u stolne sorte, jer se njegove mahune mogu dugo čuvati u skladištu. Plodovi su srednje veličine, mesnati i malo zavnuti, dobre kakvoće, ali se teško lome i melju. Mahune dozrijevaju početkom rujna (Dragojević, 2017).

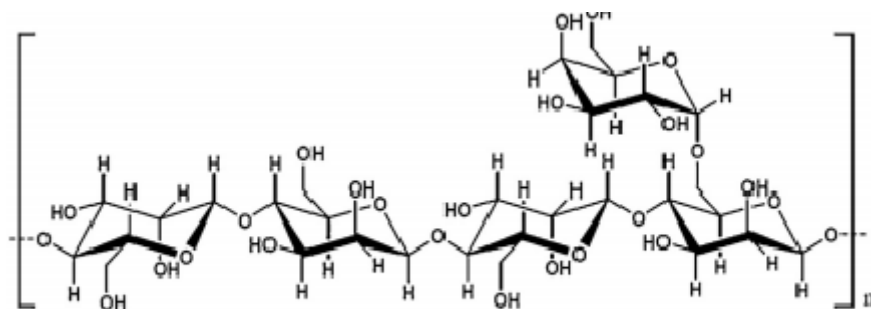
Rogač je važan u prehrambenoj industriji gdje se njegov plod koristi pri proizvodnji posebnih kruhova i slastica. Plodovi rogača usitnjavaju se, te se odvaja sjeme i slatki viskozni dio, pulpa. Od pulpe ploda dobiva se brašno koje se koristi u prehrambene svrhe. Često se brašno rogača koristi kao zamjena za čokoladu, jer ne sadrži kafein i teobromin, a zbog visoke koncentracije šećera smanjuje potrebu za zaslađivačima u nekim prehrambenim proizvodima (Dragojević, 2017). Prehrambena industrija koristi brašno mahunarki kako bi se poboljšala nutritivna vrijednost hrane na bazi žitarica (Durazzo i sur., 2014).

Brašno cijelih sjemenki rogača koje je bogato vlaknima proizvodi se od sjemenki ploda rogača i u prehrambenoj industriji koristi se kao zgušnjivač i stabilizator. U posljednje vrijeme došlo je do porasta interesa za upotrebu brašna sjemenki rogača u prehrambenoj industriji zbog njegovih nutritivnih i antioksidacijskih svojstava (Froio i sur., 2020). U ovom radu brašno sjemenki rogača koristilo se kao zgušnjivač kako bi se dobila struktura napitka nalik jogurtu.

U prehrambenoj industriji značajne su sjemenke rogača koje se melju u brašno od kojeg se dobiva karuba guma ili guma sjemenki rogača (LBG), prehrambeni aditiv (E 410), koji se koristi u recepturama raznih prehrambenih proizvoda zbog sposobnosti stvaranja viskoznih otopina i stabiliziranja emulzija i disperezija. Sjemenka rogača se sastoji od ovojnice (30 – 33 %) i endosperma (42 – 46 %), te klice (23 – 25 %). Visoku viskoznost, kao fizikalno svojstvo

mljevenog rogača sa sjemenkama, daju galaktomanani koji se nalaze u endospermu sjemenki rogača. (Dragojević, 2017). Prema Pravilniku o prehranbenim aditivima brašno sjemenki rogača, odnosno karuba guma se nalazi pod E410 brojem kao zgušnjivač (Pravilnik, 2010).

Guma sjemenki rogača je galaktomanan dobiven iz sjemenskog endosperma rogača (*Ceratonia siliqua*). Široko se koristi kao aditiv u raznim industrijama poput prehrambene industrije, farmaceutske industrije, industrije papira, tekstila, kozmetike i slično. Za industrijsku primjenu gume sjemenki rogača zaslužna je sposobnost stvaranja vodikove veze gume sjemenki rogača s molekulom vode. Također je korisno u kontroli mnogih zdravstvenih problema poput dijabetesa, crijevnih problema, bolesti srca i raka debelog crijeva zbog djelovanja prehranbenih vlakana (Barak i Mudgil, 2014).



Slika 3. Kemijska struktura galaktomanana iz sjemenki rogača (Barak i Mudgil, 2014)

Galaktomanani su linearni polisaharidi koji se sastoje od  $\beta$ -(1 – 4)-manozne okosnice s pojedinačnim D-galaktopiranozil jedinicama pričvršćenim preko  $\alpha$ -(1 – 6) veza kao bočni lanac što je prikazano na slici 3. Ti bočni lanci nisu ravnomjerno raspoređeni u glavnoj okosnici. Prisutni su i neki nesupstituirani  $\beta$ -D-manopiranozilni lanci koji se izmjenjuju sa  $\beta$ -D-manopiranozil jedinicama supstituiranim s  $\alpha$ -D-galaktopiranozil bočnim lancima (Barak i Mudgil, 2014).

## 2.3. FERMENTIRANI NEMLIJEČNI NAPITCI

Fermentirana hrana se može definirati kao hrana koja se dobiva bioprocesiranjem, koristeći metaboličku aktivnost mikroorganizama za dobivanje željenih svojstava i osiguranje kvalitete hrane. Sirovine za dobivanje fermentirane hrane mogu biti biljnog ili životinjskog podrijetla. Najvažnije taksonomske grupe mikroorganizama koje su uključene u fermentaciju hrane kao starter kulture su bakterije mliječne kiseline, kvasci i plijesni (Šušković, 2020).

Porastom tržišta funkcionalne hrane u posljednjih 30 godina započeo je razvoj fermentiranih napitaka na bazi zobi u Europi. Na temelju znanja o visokoj hranjivoj vrijednosti zobi i povećane potražnje potrošača za zdravom hranom, bilo je nekoliko probiotičkih napitaka na bazi zobi predstavljenih u Europi (Angelov i sur., 2018). Fermentacija je jedan od najstarijih procesa korištenih za konzerviranje hrane. Fermentacija se tradicionalno koristi kako bi se dobili različiti proizvodi od raznih žitarica diljem svijeta. Brojne prednosti vezane uz fermentaciju hrane su velika ušteda energije za obradu sirovine i poželjne biokemijske promjene koje rezultiraju povećanom prehrambenom vrijednosti, poboljšanim senzorskim svojstvima, povećanom sigurnosti hrane i duljim rokom trajanja proizvoda (Agati i sur., 1998). Postoji široka raznolikost tradicionalnih napitaka na bazi žitarica širom svijeta. Takvi proizvodi uglavnom se konzumiraju u Africi i pripremaju iz kukuruza, prosa i/ili sirka spontanom fermentacijom uz pomoć mješovitih mikrobnih kultura, uključujući bakterije mliječne kiseline i kvasce. Neki primjeri afričkih fermentiranih napitaka su: Ben-saalga (Burkina Faso), Kanunzaki (Nigerija), Koko (Gana), Mageu (Južna Afrika i Zemlje Arapskog zaljeva), Munkoyo (Zamibija i Kongo), Thobwa (Malavi i Tanzanija), Uji (Uganda, Kenija i Tanzanija), Bushera (Uganda) i mnogi drugi. Koriste se kao hrana za opću populaciju i kao hrana za dojenčad. Mikroorganizmi koji su uključeni u fermentaciju žitarica uglavnom pripadaju rodovima *Lactobacillus* (*Lb. plantarum*, *Lb. fermentum*, *Lb. casei*, *Lb. reuteri*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis* i drugi); *Pediococcus* (*P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *P. pentisaceus* itd.), *Bifidobacterium*; *Candida*; *Debariomice*; *Endomycopsis*; *Hansenula*; *Pichia*; *Saccharomyces* i *Trichosporon* (Angelov i sur., 2018).

U Švedskoj, nemliječni fermentirani proizvod po imenu Adavena M40 je napravljen na bazi zobi i prema prihvatljivosti potrošača bio je opisan kao jogurt (Martensson i sur., 2001). Fermentirani napitak od zobi i banane s dodatkom  $\beta$ -glukana proučavali su Goncerzewicz i sur. (2016). Još jedan novi napitak Biovessima od cjelovitih zrna zobi fermentiran je probiotičkom

kulturom *Lb. plantarum*. Proizvodi se u dvije varijante - sa zaslađivačima ili šećerima i s prirodnim aromama (Iserliyska i sur. (2015); Angelov i sur., 2006).

U Finskoj postoji sličan proizvod ovome koji će se opisati u ovom radu. Riječ je o proizvodu Friendly Viking's na bazi fermentirane zobi s određenim dodacima (Anonymous 1).

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1 MATERIJALI

Kao sirovine u pripremi fermentiranog zobenog napitka „Natur“ korištene su sljedeće sirovine: oljuštena zob (bio&bio), voda, sol, škrob i pektin, a za fermentirani napitak „Rogač“ korišteni su oljuštena zob (bio&bio), voda, prah rogača (Nutrigold), vanilin, saharoza (Viro šećer) i brašno cijelih sjemenki rogača (OPG Goravica). Za oba fermentirana napitka koristila se ista vege kultura za fermentaciju (Danisco Vege 053 LYO 200 DCU).

Za zobeni napitak koristila se oljuštena zob, voda, sol, škrob, pektin.

#### *Reagensi:*

- Oljuštena zob (bio&bio, Hrvatska)
- Sol (Paška sol, Hrvatska)
- Škrob (Danisco, Danska)
- Pektin (Grinsted Pectin LA 410, Danisco, Danska)
- Prah rogača (Nutrigold, Italija)
- Saharoza (Viro šećer, Hrvatska)
- Brašno cijelih sjemenki rogača (OPG Goravica, Hrvatska)
- Vanilin (Danisco, Danska)
- Vege kultura (Danisco Vege 053 LYO 200 DCU, Danska)

#### *Potrebni pribor:*

- Staklene čaše od 400 mL
- Grubo i fino sito
- Vrčevi od 2,5 L
- Menzura od 1000 mL
- Lonac 10 L
- Kuhača
- Staklene bočice za fermentaciju
- Staklene boce 1 L
- Čepovi za boce
- Aluminijska folija



### *Aparatura:*

- Tehnička vaga (KB 3600-2N, KERN&Sohn GmbH, Njemačka)
- Analitička vaga (AB104, Mettler Toledo, Švicarska)
- Termometar
- Štapni mikser (Gorenje štapni mikser HB 802 W, Slovenija)
- Magnetska miješalica s grijačem (Tehtnica Rotamix 550 MMH, Slovenija)
- Uređaj za pripremu biljnog mlijeka (Vegan Star VR 100 perfect, Austrija)
- pH metar (WTW-ProfiLine pH 3110, Xylem Analytics, Njemačka)

## 3.2. METODE RADA

### 3.2.1. Priprema zobenog napitka

Čašu za zrnjem oljuštene zobi (55 g), koja je dan prije namočena u vodi (400 mL), i vodom potrebno je staviti u uređaj za pripremu biljnog napitka te dodati još 1000 mL vode. Namjestiti uređaj na SET na 5i program i pričekati da završi. Zatim je sve to potrebno prebaciti u plastični vrč. Nakon prebacivanja uređaj je potrebno isprati vodom kako ne bi došlo do zagaranja. Vratiti nazad sadržaj iz vrča u uređaj i opet namjestiti na 5i program. Kad program završi, sadržaj je potrebno procijediti kroz grubo sito, a zatim kroz fino sito. Vrući procijeđeni sadržaj potrebno je sipati u sterilizirane staklene boce i odmah začepiti steriliziranim čepovima. Kada se boce ohlade, spremite u frižider na temperaturu od 4 °C.

Priprema fermentiranog „Natur“ napitka započinje tako da se 2,5 L prethodno opisanog zobenog napitka zagrije na grijaču. Uz stalno miješanje na temperaturi od 40 °C dodaju se svi sastojci (sol, škrob i pektin). Smjesa se uz stalno miješanje zagrijava sve do temperature od 72 °C na kojoj se 15 sekundi vrši pasterizacija. Nakon toga se smjesa skida s grijača i hladi do temperature od 40 °C kada se dodaje starter kultura. Sadržaj se dobro promiješa sa štapnim mikserom. Nakon toga se dobiveni sadržaj puni u sterilizirane bočice za fermentaciju koje se stavljaju u termostat na temperaturu od 40 °C. Bočice stoje u termostatu sve dok pH sadržaja u bočicama ne padne do 4,6. Nakon toga slijedi hlađenje bočica i pohrana u frižider na temperaturu od 4 °C.

Nefermentirani zobeni napitak priprema se na isti način kao i fermentirani „Natur“ napitak, samo se ne dodaje kultura za fermentaciju.

Priprema „Rogač“ napitka se priprema na isti način kao i fermentirani „Natur“ napitak, samo se radi o različitim sastojcima (prah rogača, brašno cijelih sjemenki rogača, saharoza i vanilin). Dodaje se ista starter kultura, kao i kod „Natur“ napitka.

Iz svake pripremljene smjese dobivena je jedna šarža od 12 bočica za fermentaciju i tri kontrolne za praćenje pada pH vrijednosti do 4,6.

### 3.2.2. Mikrobiološke analize

#### *Potrebni pribor:*

- Bunsenov plamenik
- Laboratorijska vaga (KB 3600-2N, Kern & Sohn GmbH, Njemačka)
- Laboratorijska žlica
- Aluminijska folija
- Stakleni štapić
- Štapić po Drigalskom
- Mikropipete od 1000  $\mu$ L i 100  $\mu$ L
- Sterilne tipse
- Erlenmeyerova tikvica od 2000 mL (za pripremu podloge)
- Erlenmeyerova tikvica od 1000 mL ili 2000 mL (za pripremu fiziološke otopine)
- Grijač sa magnetskom miješalicom (Rotamix SHP-10, Tehnica, Slovenija)
- Infuzijske boce s čepovima
- Autoklav (Inko, Zagreb)
- Erlenmeyerove tikvice od 300 mL
- Epruvete
- Čepovi za epruvete
- Vorteks mješač (MS2 Minishaker, IKA, Njemačka)
- Termostat (INKO 1935., Zagreb)
- Staklene i plastične petrijeve zdjelice
- Vodena kupelj
- Brojač kolonija

*Potrebni reagensi:*

- Dehidrirane hranjive podloge za određivanje ukupnog broja mikroorganizama: Violet Red Blue Glucose Agar (Biolife, Italija); Sabouraud Dextrose Agar (Biolife, Italija); Bairrd Parker Agar Base (Biolife, Italija)
- Destilirana voda
- NaCl

*Postupak:*

Priprema uzorka

Uzorak se dobro promiješa, 20 g se izvaže u steriliziranu Erlenmeyerovu tikvicu sa staklenim zrcima i doda se 180 mL fiziološke otopine te se homogenizira na Vortex-u. Tako se dobije osnovno razrjeđenje (Božanić i sur., 2010).

Priprema fiziološke otopine:

U 1000 mL destilirane vode otopiti 9 g natrijevog klorida. Otopinu razdijeliti u epruvete i sterilizirati u autoklavu (121°C/20 minuta). Nakon sterilizacije čuvati dobro zatvorene, na suhom i tamnom mjestu, do upotrebe (Božanić i sur., 2010).

Priprema podloge za decimalna razrjeđenja

Otopiti odvagano količinu hranjive podloge (prema uputi proizvođača) u destiliranoj vodi. Zagrijati Erlenmeyerovu tikvicu na magnetskom grijaču (ili preko azbestne mrežice na plameniku) da se sav sadržaj otopi i nakon toga razliti podlogu u infuzijske boce. Zatim je to potrebno sterilizirati u autoklavu (121 °C/20 minuta) (Božanić i sur., 2010).

Priprema decimalnih razrjeđenja

Iz homogeniziranog uzorka mlijeka sterilnom pipetom 1 mL uzorka prenijeti u epruvetu s 9 mL sterilne fiziološke otopine. Nastalo razrjeđenje dobro homogenizirati te iz epruvete u koju je dodan uzorak uzeti čistom sterilnom pipetom 1 mL homogeniziranog razrjeđenja i prenijeti u epruvetu sa 9 mL sterilne fiziološke otopine. Postupak ponavljati dok se ne dobije željeni broj decimalnih razrjeđenja (Božanić i sur., 2010).

### Nacjeppljivanje i inkubacija ploča

Mikropipetom treba uzeti 1 mL decimalnog razrjeđenja uzorka i otpustiti u Petrijevu ploču. Pri tom se jedan kraj poklopca Petrijeve ploče digne tek toliko da se između njega i donjeg dijela Petrijeve ploče može mikropipetom, držanom pod kutom od oko 45°, dosegnuti do sredine dna ploče. Prilikom unošenja pipete u Petrijevu ploču ne smije se vrhom pipete dodirnuti ni poklopac ni rub ploče (Božanić i sur., 2010).

Načelno se od svakog razrjeđenja, koje dolazi u obzir za nacjeppljivanje, pripremaju najmanje po dvije paralele, a pri znanstvenim istraživanjima po tri i više. Obavezno je na svaku ploču napisati oznaku nacijepljenog uzorka i decimalnog razrjeđenja (Božanić i sur., 2010).

Najkasnije 15 minuta nakon pipetiranja razrjeđenja na Petrijeve ploče, u svaku ploču dolijeva se 10-12 mL hranjivog supstrata (agara), prethodno rastopljenog u vodenoj kupelji zagrijanoj na 100 °C te zatim ohlađenog i držanog u (druvoj) vodenoj kupelji na 43-45 °C. Temperatura čuvanja rastopljene i ohlađene podloge ne smije biti puno niža niti viša jer se agar skrućuje na 42 °C (ovisno o koncentraciji), a temperatura preko 48-50 °C može oštetiti ili usmrtiti bakterije. Temperatura agara stoga se kontrolira termometrom uloženim u kontrolnu bočicu ili epruvetu s vodom koja se sa supstratom drži u istoj vodenoj kupelji. Odmah nakon nalijevanja agara, on se jednolično promiješa blagim, kružnim i „amo-tamo“ kretanjem i slabim nagibanjem zatvorene ploče. To miješanje traje 5-10 sekundi. Pri opisanom miješanju, supstrat se ne smije prelići preko ruba donjeg dijela (dna) Petrijeve ploče (Božanić i sur., 2010).

Petrijeve ploče treba položiti na vodoravnu podlogu i pustiti tako da stoje otprilike 15 minuta tj. dok se podloga potpuno ne skrutne. Zatim se ploče okrenu dnom prema gore, a poklopcem prema dolje kako bi se spriječila kondenzacija isparene vode na agaru. Ploče se odmah stavljaju u termostat, pojedinačno ili jednu na drugu, ali najviše 4 komada. Uobičajeno, inkubacija pri stalnoj temperaturi od 37° C traje 24 h za enterobakterije, salmonelu i koagulaza pozitivne stafilokoke, a za kvasce i plijesni pri sobnoj temperaturi 3-5 dana (Božanić i sur., 2010).

### Očitavanje rezultata

Po završetku zadane inkubacije broje se kolonije. Za brojenje se odabiru one podloge na kojima je naraslo od 30 do 300 kolonija. Izračuna se broj naraslih kolonija po mL, odnosno CFU (colony forming unit)/ mL po formuli:

$CFU/mL = \text{broj kolonija} / \text{nasaden volumen} \times \text{recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja}$

### 3.2.3. Određivanje kiselosti fermentiranih napitaka od zobi (određivanje pH vrijednosti napitka)

#### *Potrebni pribor:*

- pH-metar (pH metar (WTW-ProfiLine pH 3110, Xylem Analytics, Njemačka)
- staničevina
- boca štrcaljka

#### *Reagensi:*

- destilirana voda
- pufer za kalibraciju elektrode pH-metra
- otopina KCl

#### *Postupak:*

Elektroda se ispere destiliranom vodom i posuši staničevinom. Uranjanjem elektrode pH-metra u napitak od zobi mjeri se pH vrijednost.

### 3.2.4. Direktna metoda za određivanje ukupne suhe tvari (sušenje u sušioniku)

#### *Princip:*

Metoda se temelji na isparavanju vode iz uzorka za analizu sušenjem u sušioniku pri konstantnoj temperaturi od 105 °C do konstantne mase (Božanić i sur., 2010).

#### *Potrebni pribor:*

- Analitička vaga (Mettler Toledo, AB, 104, Švicarska)
- Eksikator s učinkovitim sredstvom za izvlačenje vlage
- Posudice s ravnim dnom, visine 20 do 25 mm, promjera 50 do 75 mm, od odgovarajućeg materijala, s poklopcima koji dobro prijanjaju i lako se uklanjaju (Al-posudice obično)
- Hvataljka za posudice
- Vodena kupelj

- Sušionik s temperaturom održavanom na 105 °C na cijelom radnom prostoru (ST-01/02, Instrumentaria, Zagreb)

*Postupak:*

Priprema posudica: zagrijavati posudicu i poklopac tako da se stave u sušionik jedno pokraj drugog, na temperaturu održavanoj na 105 °C, barem 30 minuta. Staviti poklopac na posudicu i odmah je premjestiti u eksikator te pustiti da se ohladi do sobne temperature (odnosno barem 30 minuta) i odvagati s točnošću od 0,1 mg (Božanić i sur., 2010).

*Određivanje*

Odmah izvagati, s točnošću od 0,1 mg do 5 g pripremljenog uzorka za analizu i staviti u pripremljenu posudicu.

Zagrijavati posudicu, s poklopcem pored nje, u sušioniku jedan sat. Staviti poklopac na posudicu i izvaditi je iz sušionika. Pustiti je da se u eksikatoru hladi barem 30 minuta i odvagati je s točnošću 0,1 mg. Ponoviti postupak suđenja dok razlika masa između dva uzastopna mjerenja ne prelazi 0,5 mg. Zabilježiti najnižu masu (Božanić i sur., 2010).

Potom se vrši izračun udjela suhe tvari prema formuli:

$$\frac{\text{zadnja odvaga} - \text{prazna posudica}}{\text{odvaga uzorka}} \times 100 = \% \text{ suhe tvari [1]}$$

### 3.2.5. Određivanje pepela (udjela mineralnih tvari)

*Princip:* uzorak se prvo osuši u sušioniku na 105 °C i zatim mineralizira na 550 °C (Božanić i sur., 2010).

*Potrebni pribor:*

- peć za žarenje (Mufova peć), (LP-08, Instrumentaria, Zagreb)
- sušionik (105°C)
- analitička vaga
- porculanski lončići za žarenje
- eksikator
- plamenik
- hvataljka

*Postupak:*

Ižareni porculanski lončići u Mufovoj peći pri temperaturi 550 °C, ohlade se u eksikatoru, i u ohlađene lončice važe se 10 g uzorka. Uzorci se stave u sušionik na temperaturu od 105 °C dok se sasvim ne osuše. Osušeni uzorci se još zagrijavaju na slabom plamenu dok sadržaj ne posivi. Zatim se lončići stave u Mufolnu peć na žarenje na temperaturu od 550 °C dok sadržaj ne pobijeli. Potom se lončići hlade u eksikatoru, važu i ponovno žare do konstantne mase te se izračuna postotak pepela u uzorku (Božanić i sur., 2010).

*Račun:*

$$\frac{\text{zadnja odvaga} - \text{prazan lončić}}{\text{odvaga uzorka}} \times 100 = \% \text{ pepela [2]}$$

### 3.2.6. Određivanje udjela natrijevog klorida metodom po Mohru

#### *Potrebni pribor:*

- Filter papir
- Erlenmeyerove tikvice od 100 mL
- Staklene čašice od 100 mL
- Stakleni štapić
- Vodena kupelj
- Staklena tikvica od 100 mL
- Laboratorijska vaga (KB 3600-2N, Kern & Sohn GmbH, Njemačka)
- pH metar (WTW-ProfiLine pH 3110, Xylem Analytics, Njemačka)

#### *Potrebni reagensi:*

- destilirana voda
- 0,1 M otopina  $\text{AgNO}_3$
- $\text{K}_2\text{CrO}_4$
- Otopina NaOH

#### *Postupak:*

U čašu od 100 mL izvagati oko 2g (+/- 0,01g) dobro usitnjenog i homogeniziranog uzorka, dodati 2-3 mL tople destilirane vode i miješati staklenim štapićem da se dobije homogena smjesa.

Smjesu kvantitativno prenijeti u odmjernu tikvicu od 100 mL (uz ispiranje čašice vodom).

Tikvicu dopuniti destiliranom vodom do oznake, zatvoriti čepom, dobro promiješati i držati u ključaloj vodenoj kupelji 15 minuta od trena kad zakipi sadržaj tikvice. Tikvica treba biti poklopljena tijekom ključanja uz povremeno dizanje čepa.

Otopinu u tikvici dobro ohladiti, ali ne do kraja (ako je potrebno vodom dopuniti do oznake), promiješati i filtrirati preko filter papira.

Ispitati pH-vrijednost filtrata pH metrom (pH mora biti oko 10), ako filtrat reagira kiselo potrebno ga je neutralizirati s otopinom natrijevog hidroksida. Od dobivenog filtrata otpipetirati



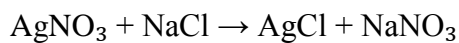
25 mL filtrata u Erlenmeyerovu tikvicu, dodati 2-3 kapi otopine  $K_2CrO_4$  i titritati 0,1 M otopinom  $AgNO_3$  do prve promjene boje.



*Račun:*

$$c (AgNO_3) = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$$

$$M (NaCl) = 58,443 \text{ g mol}^{-1}$$



$$n (NaCl) = n (AgNO_3)$$

$$m (NaCl) = n (NaCl) * M (NaCl)$$

$$m (NaCl) = n (AgNO_3) * M (NaCl)$$

$$m_{100}(NaCl) (g) = 4 * c (AgNO_3) (mol/L) * V_s (AgNO_3) (L) * M (NaCl) (g/mol)$$

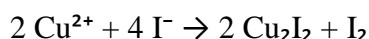
$$w (NaCl) = \frac{m_{100}(NaCl)g}{m (uzorka)g} \cdot 100 (\%) [3]$$

### 3.2.7. Određivanje udjela laktoze u mlijeku metodom prema Loof-Schoorlu

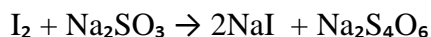
#### *Princip:*

Reducirajući ugljikohidrati, u koje spada i mliječni šećer ili laktoza, zahvaljujući slobodnoj aldehidnoj, odnosno keto-skupini, imaju sposobnost redukcije metala iz alkalnih otopina njihovih soli, što je u ovom slučaju Luffova otopina (alkalna otopina bakra). Kao posljedica te reakcije nastaje crveno-smeđi, netopljivi talog bakrenog oksidula ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ). Količina laktoze se nakon nastanka taloga može odrediti titracijom suviška nereduciranih iona bakra ( $\text{Cu}^{2+}$ ) ili titracijom istaloženog ili otopljenog bakrenog oksidula.

Dodatkom otopine kalijevog jodida u suvišku, u kiseloj sredini koja se postiže dodatkom sumporne kiseline, dolazi do reakcije joda i suviška bakrenih iona pri čemu se oslobađa molekularni jod.



Oslobođeni jod se titrira otopinom natrijevog tiosulfata ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ), uz škrob kao indikator (smjesa otopine joda i škroba daje tamnomodro obojenje) do prijelaza u boju puti.



Razlika u utrošku 0,1 M natrijevog tiosulfata (izraženog u mL) utrošenog za slijepu probu (ukupni  $\text{Cu}^{2+}$ ) i za uzorak sa šećerom služi za izračunavanje šećera prema tablici 3.

#### *Potrebni pribor:*

- vaga
- povratno hladilo
- 2 tikvice s brušenim grlom od 300 mL
- Grijač
- Štoperica
- 2 pipete od 1 mL
- 4 pipete od 20 mL

#### *Potrebni reagensi:*

- Luffova otopina (25 g  $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$  otopi se u 100 mL destilirane vode. Zatim se 50 g limunske kiseline otopi u 50 mL destilirane vode, a

388 g kristalnog  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \times 10 \text{H}_2\text{O}$  u 300-400 mL tople destilirane vode. U odmjernu tikvicu od 1 L prvo se ulije otopina natrijevog karbonata kojoj se potom doda otopina limunske kiseline. Tako dobivenoj smjesi doda se otopina bakrenog (II) sulfata te se ostatak do oznake nadopuni destiliranom vodom)

- 0,1 M  $\text{Na}_2\text{SO}_3$
- 1 M otopina kalijevog jodida: 16,6 g kalijevog jodida se otopi u 100 mL destilirane vode
- 25% otopina sumporne kiseline: 13,86 mL koncentrirane sumporne kiseline razrijedi se destiliranom vodom do oznake 100 mL. Oprez: kiselina se dodaje vodi, a ne obrnuto!!
- 2% otopina škroba: 2 g škroba otopiti u 20 mL hladne destilirane vode te tako dobivenu otopinu nadoliti sa 80 mL vruće, proključale destilirane vode. Zagrijavanje odmah prekinuti, otopinu profiltrirati i čuvati u dobro zatvorenoj bočici.

*Postupak:*

U tikvicu s brušenim grlom otpipetira se 1 g uzorka. Potom se otpipetira 24 mL destilirane vode i 25 mL Luffove otopine. Tikvica se priključi na povratno hladilo i kuha uz lagano vrenje točno 10 minuta (nakon što je prva kap kapnula natrag u tikvicu). Tada se tikvica skine, ohladi pod mlazom tekuće vode, te se u smjesu otpipetira 15 mL 20%-tne otopine kalij jodida. Potom se, oprezno, uz miješanje, u smjesu otpipetira 25 mL 25%-tne otopine sumporne kiseline.

Izlučeni jod se titrira sa 0,1 mol/L Na-tiosulfatom tako dugo dok boja uzorka ne prijeđe u žutu, a zatim se otpipetira 1 mL svježe pripremljene 2%-tne otopine škroba i lagano nastavi titracija Na-tiosulfatom sve do prijelaza tamnoplave u putenastu boju koja se treba zadržati nekoliko minuta. U račun se uzima u obzir zbroj utrošenih mililitara tiosulfata u obje titracije.

Usporedno se radi slijepa proba gdje se umjesto 1 g uzorka i 24 mL destilirane vode otpipetira 25 mL destilirane vode, a dalje se sve radi na isti način kao i s uzorkom.

*Izračun:*

Slijepa proba troši: X mL 0,1 mol/L Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Uzorak troši: Y ml 0,1 mol/L Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

$$(X-Y) \times f(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = Z \text{ mL } 0,1 \text{ mol/L Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$$

Iz tablice 3 se za Z mL Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> očitaju mg laktoze u 1 mL uzorka.

Ovom metodom određivao se udio maltoze u napitcima.

Tablica 3. Tablica za izračunavanje šećera prema Schoorl-Loof-u

0,1 N- tiosulfat	Glukoza, fruktoza ili					
	invertni šećer		Laktoza		Maltoza	
ml	mL	razlika	mg	razlika	mg	razlika
1	2,4		<b>3,6</b>		3,9	
2	4,8	2,4	<b>7,3</b>	3,7	7,8	3,9
3	7,2	2,4	<b>11,0</b>	3,7	11,7	3,9
4	9,2	2,5	<b>14,7</b>	3,7	15,6	3,9
5	12,2	2,5	<b>18,4</b>	3,7	19,6	3,9
6	14,7	2,5	<b>22,1</b>	3,7	23,5	4,0
7	17,2	2,5	<b>25,8</b>	3,7	27,5	4,0
8	19,8	2,6	<b>29,5</b>	3,7	31,5	4,0
9	22,4	2,6	<b>33,2</b>	3,7	35,5	4,0
10	25,0	2,6	<b>37,0</b>	3,8	43,5	4,0
11	27,6	2,6	<b>40,8</b>	3,8	43,5	4,0
12	30,3	2,7	<b>44,6</b>	3,8	47,5	4,0
13	33,0	2,7	<b>48,4</b>	3,8	51,6	4,1
14	35,7	2,7	<b>52,2</b>	3,8	55,7	4,1
15	38,5	2,8	<b>56,0</b>	3,8	59,8	4,1
16	41,5	2,8	<b>59,9</b>	3,9	63,9	4,1
17	44,2	2,9	<b>63,8</b>	3,9	68,0	4,1
18	47,1	2,9	<b>67,7</b>	3,9	72,2	4,2
19	50,0	2,9	<b>71,7</b>	4,0	75,5	4,3
20	53,0	3,0	<b>75,7</b>	4,0	80,9	4,4
21	56,0	3,0	<b>79,8</b>	4,1	85,4	4,5
22	59,1	3,1	<b>83,9</b>	4,1	90,0	4,6
23	62,2	3,1	<b>88,0</b>	4,1	94,6	4,6

### 3.2.8. Senzorska analiza fermentiranih napitaka od zobi

Senzorska (organoleptička) analiza je znanstvena disciplina koja se koristi u svrhu mjerenja, analize, interpretacije reakcija na karakteristična svojstva namirnica koja se određuju uz pomoć mirisa, okusa, dodira ili sluha.

U ovom istraživanju skupina sastavljena od ukupno tri panelista ocjenjivala je uzorke fermentiranih napitaka Natur i Rogač, te uzorke nefermentiranog zobenog napitka. Senzorski panelisti ocjenjivali su izgled, boju, konzistenciju, miris i okus uzoraka fermentiranih napitaka i nefermentiranog napitka.

Senzorski parametri koji su se pratili prikazani su u tablici 4.

Tablica 4. Obrazac za senzorsko ocjenjivanje napitaka od zobi

<b>Datum:</b>									
<b>Ime i prezime</b>									
<b>Svojstvo i opis svojstva</b>	<b>Makismalan broj bodova</b>								
<b>Izgled</b> (homogena površina, bez izdvajanja faza, bez vidljivih grudica, prljavo bijela do siva boja)	<b>1</b>								
<b>Boja</b> (prljavo bijela do siva boja)	<b>1</b>								
<b>Konzistencija</b> (homogena, glatka, bez grudica, bez razdvajanja faza)	<b>4</b>								
<b>Miris</b> (blago i ugodno kiselkasti, miris po žitaricama)	<b>2</b>								
<b>Okus</b> (blago kiselo, po žitaricama i orašastim plodovima, bez grudica, fine konzistencije u ustima)	<b>12</b>								
<b>Ukupno</b>	<b>20</b>								
<b>Komentari:</b>									

### 3.2.9. Određivanje reoloških parametara

Za mjerenje reoloških svojstava smjesa korišten je rotacijski viskozimetar (Rheomat RM 180, Rheometric Scientific, München, Njemačka). Rotacijski viskozimetar određuje napon smicanja te prividnu viskoznost. Viskozimetar se sastoji od cilindričnog vretena i vanjskog plašta u koji se stavi uzorak. Za tijelo uređaja pričvrsti se cilindrično vreteno s vanjskim plaštom u kojem se nalazi uzorak napitka. Time se omogući da tijekom rotiranja konstantnom brzinom vreteno bude uronjeno u uzorak. Mjerenje prividne viskoznosti provedeno je u području brzine smicanja od 100 do 1290 s<sup>-1</sup> za obični zobeni napitak i Natur napitak, a za Rogač napitak u rasponu 5 do 35 s<sup>-1</sup>. Rezultati su izraženi u mPas kao srednja vrijednost dvaju mjerenja.

Viskoznost tekućih namirnica određuje se viskozimetrima od koji se danas najviše koriste rotacijski viskozimetri (reometri). Rotacijski viskozimetri se sastoje od dva tijela, od kojih jedno rotira i međusobno su u vezi preko sloja tekućine kojoj se određuje viskoznost (Lelas, 2006).

Određivanje reoloških parametara zasniva se na mjerenju kutne brzine rotirajućeg tijela i zakretnog momenta (Lelas, 2006).

Na temelju odabranih vrijednosti brzine smicanja i izmjerenih vrijednosti napona smicanja, linearnom regresijom u Excelu izračunati su reološki parametri; koeficijent konzistencije i indeks tečenja. Indeks tečenja jednak je koeficijentu linearne regresije, dok se koeficijent konzistencije (Pas<sup>n</sup>) dobije računanjem antilogaritamske vrijednosti konstante linearne regresije za određenu vrijednost smičnog naprežanja i brzine smicanja.

Guste kapljevine i kaše svrstavaju se u tzv. nenenewtonovske tekućine za koje je karakteristično da nemaju stalnu vrijednost viskoznosti pri konstantnoj temperaturi i tlaku. Vrijednost viskoznosti mijenja se ovisno o promjeni vrijednosti smične brzine (Lelas, 2006).

Budući da je vrijednost viskoznosti nenenewtonovskih kapljevina, tzv. prividna viskoznost, promjenjiva veličina, reološki parametri nenenewtonovskih tekućina izražavaju se koeficijentom konzistencije ( $k$ ) i indeksom tečenja ( $n$ ), koji su nužni za karakterizaciju tečenja nenenewtonovskih tekućina. Za izračunavanje reoloških parametara nenenewtonovskih tekućina, upotrebljava se Ostwald de Waelov zakon:

$$\tau = k \cdot \dot{\gamma}^n \quad [4]$$



Pri čemu je :

$\tau$  = smično naprezanje ( $\text{N/m}^2$ , odnosno Pa)

$k$  = koeficijent konzistencije ( $\text{Pas}^n$ )

$n$  = indeks tečenja

$\gamma$  = smična brzina ( $\text{s}^{-1}$ ) (Lelas, 2006)

Jednadžbu je potrebno linearizirati kako bi se mogla primijeniti linearna regresija:

$$\log \tau = \log k + n \cdot \log D \quad [5]$$

Prividna viskoznost izračunat je primjenom Newtonovog zakona:

$$\tau = \mu \times D \quad [6]$$

Pri čemu je:

$\tau$  - napon smicanja (Pa)

$\mu$  – viskoznost (Pas)

$D$  – brzina smicanja ( $\text{s}^{-1}$ ) (Režek Jambrak i Vukušić, 2017)

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je razviti recepturu i proizvesti zobeni napitak iz oljuštenog zrna zobi metodom ekstrakcije te optimirati proces fermentacije dobivenog zobenog napitka. Optimirana je kultura za fermentaciju zobenog napitka te dodaci kao što su pektin, škrob, prah rogača te brašno cijelih sjemenki rogača kako bi se dobio fermentirani zobeni napitak konzistencije slične jogurtu dobre senzorske prihvatljivosti.

U tablici 5 prikazana je prosječna duljina fermentacije napitaka Natur i Rogač.

U tablici 6 prikazan je sastav pojedinih napitaka.

Provedene su i mikrobiološke analize čiji su rezultati prikazani u tablici 7.

Udio suhe tvari i prosječne pH vrijednosti po danima određivani su u svrhu određivanja svojstava napitaka te su prikazani u tablici 8.

Kako bi se povećala viskoznost i postigla odgovarajuća reološka svojstva ovim napitcima se dodaju hidrokoloidi (škrob, pektin i brašno cijelih sjemenki rogača). Reološki parametri napitaka prikazani su u tablicama 11, 12 i 13, te na slikama 4, 5 i 6.

Senzorska procjena napitaka odrađena je u svrhu ispitivanja plasiranja ove vrste proizvoda na tržištu. Rezultati senzorske procjene napitaka prikazani su na slikama 7, 8 i 9 i u tablicama 14, 15 i 16.

### 4.1. RAZVOJ RECEPTURE

Razvoj recepture smjesa za fermentirane napitke na bazi zobi bio je relativno kompleksan. Baza za napitke prvotno je rađena tako što se 40 g zobi namočilo u 400 mL vode, no na taj način dobivena smjesa bila je slabe viskoznosti. Nakon toga se umjesto 40 g zobi namočilo 55 g u 400 mL vode i na taj način zobeni napitak imao je zadovoljavajuću viskoznost.

U prvom pokusu u zobeni napitak „Natur“ dodavana je industrijska smjesa škrob-pektin „Grinsted SB 555“ (Danisco, Danska) u postotku od 2% (50 g), 0,15 % soli (3,75 g) i 0,5 % kokosovog ulja (12,5 g) na 2,5 L zobenog napitka koji se inokulirao Danisco Vege 053 LYO 200 DCU (0,03225 g) kulturom. Dodana je i protektivna kultura. No, nakon 8 sati fermentacije pH nije pao ispod 5,20. Pretpostavljeno je da očekivani pad pH vrijednosti nije bio moguć

zbog dodatka protektivne kulture koja je vjerojatno proizvod štitila od zakiseljavanja. Također, dodano kokosovo ulje se izdvojilo na površinu tj. došlo je do razdvajanja faza. Zbog navedenih nezadovoljavajućih rezultata, ova smjesa je odbačena.

Sljedeći put, radila se receptura bez kokosovog ulja i protektivne kulture, a sve drugo ostalo je isto: u 2,5 L zobenog napitka dodana je industrijska smjesa škrob-pektin, 2 %; sol (0,15 %) i Danisco Vege 053 LYO 200 DCU kultura (0,03225 g). No, ni ovaj put se pH vrijednost napitka nije spustila ispod 5,46 ni nakon 7,5 sati fermentacije. Zbog nezadovoljavajućih rezultata i ova smjesa je odbačena.

Konačna receptura koja je bila prihvaćena za fermentirani napitak „Natur“ je sljedeća:

- 0,03225 g Danisco Vege kulture,
- 1 % škroba (25 g),
- 1 % Danisco pektina LA 410 (25 g) i
- 0,15 % soli (3,75 g) na 2,5 L zobenog napitka spremljenom prema već spomenutom opisu.

Konačna receptura za zobeni napitak je ista kao i za fermentirani napitak „Natur“ izuzev dodavanja kulture.

Konačna receptura koja je bila prihvaćena za fermentirani napitak „Rogač“ je sljedeća:

- 0,03225 g Danisco Vege kulture,
- 3 % saharoze (75 g),
- 0,5 % praha rogača (12,5 g),
- 2,5 % brašna cijelih sjemenki rogača (62,5 g) i
- 0,1 % vanilina (2,5 g) na 2,5 L zobenog napitka.

Konačne recepture napitaka prikazane su u tablici 6.

Danisco Vege 053 LYO 200 DCU kultura sastoji se od sljedećih mikroorganizama: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Bifidobacterium lactis* (HN019TM) i *Lactobacillus acidophilus* (NCFM®).

#### 4. 2. PROSJEČNA DULJINA FERMENTACIJE

Prosječna duljina fermentacije napitaka prikazana je u tablici 5. Početna pH vrijednost Natur napitka iznosila je 6,78. Prosječna duljina fermentacije iznosila je 4,75 sati za uzorak Natur i konačna pH vrijednost iznosila je 4,60.

Početna pH vrijednost Rogač napitka iznosila je 6,41 i nakon 6,7 sati fermentacije zabilježena je pH vrijednost 4,63. Početna pH vrijednost Rogač napitka bila je niža nego pH vrijednost fermentiranog Natur napitka jer je u Rogač napitku bilo više šećera za fermentaciju. Upravo zbog toga je dulje i trajala fermentacija kod Rogač napitka u odnosu na fermentirani napitak Natur. U Natur napitku se nalazilo puno manje šećera, supstrat se prije potrošio, pa je fermentacija prije i završena. Dakle, veća koncentracija šećera u napitku Rogač djelovala je inhibirajuće na rast i djelovanje kulture.

Angelov i sur. (2006) dodali su saharozu u koncentracijama od 1,0, 1,5 i 2,0 % u zobenu kašu kako bi povećali brzinu fermentacije. S dodatkom 2,0 % šećera, postignut je pH 4,56 nakon 8 sati fermentacije, a s 1,5 % saharoze takva je vrijednost bila registrirana 0,5 h kasnije. Proizvodnja kiseline bila je dosta sporija s 1,0 % saharoze i pH 4,54 postignut je nakon 8 sati fermentacije. Drugi autori izvijestili su da su pH vrijednosti iznosile 4,0–4,5 nakon 16 sati fermentacije različitih zobelih podloga (Mårtensson i sur., 2000) vjerojatno zbog većeg udjela suhe tvari u mediju 16-18 %. Sukladno tome, s obzirom da je fermentirani napitak Rogač imao veći udio suhe tvari, prosječna duljina fermentacije je dulja nego za fermentirani napitak Natur. Kako bi bakterije fermentirale, moraju imati optimalne uvjete za rast. Bolji uvjeti za fermentaciju bili su u fermentiranom Natur napitku zbog veće pH vrijednosti, većeg udjela mineralnih tvari (faktori rasta) i manjeg udjela suhe tvari zbog čega je fermentacija i bila kraća.

Tablica 5. Prikaz prosječne duljine trajanja fermentacije uzoraka

<b>Uzorak</b>	<b>Natur</b>	<b>Rogač</b>
<b>Trajanje (sat)</b>	4,75	6,7

Tablica 6. Konačni sastav pojedinih napitaka

Napitak	Natur	Rogač	Zobeni napitak
Udio pektina (%)	1,00	/	1,00
Udio škroba (%)	1,00	/	1,00
Udio soli (%)	0,15	/	0,15
Udio saharoze (%)	/	3,00	/
Udio brašna sjemenki rogača (%)	/	2,50	/
Udio vanilina (%)	/	0,10	/
Udio praha rogača (%)	/	0,50	/

#### 4. 3. FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI NAPITAKA

##### 4.3.1. Rezultati mikrobiološke ispravnosti napitaka

Rezultati mikrobioloških analiza uzoraka prikazani su u tablici 7.

Testovi na *Salmonellu* rađeni su prvi i posljednji dan čuvanja napitaka i za sve napitke bili su negativni.

Kroz sve dane čuvanja za sve napitke testovi na koagulaza pozitivne stafilokoke također su bili negativni, izuzev 28. dana za zobeni napitak kada je test pokazao prisutnost testiranih bakterija, ali u prihvatljivim granicama (do 10 CFU/g).

Testovi na enterobakterije također su bili negativni kroz sve dane čuvanja za sve napitke. Gupta i sur. (2010) također su radili fermentirani napitak na bazi zobi i tijekom 21 dana skladištenja njihovog napitka nije došlo do razvoja enterobakterija ni plijesni.

Najviše prosječne vrijednosti log CFU mL<sup>-1</sup> za kvasce i plijesni bile su za zobeni napitak, zatim za Rogač, a najmanje prosječne vrijednosti log CFU mL<sup>-1</sup> bile su za Natur napitak. Kroz dane čuvanja u fermentiranom napitku Natur rastao je broj kvasaca i plijesni do 21. dana čuvanja kada su analize pokazale da je napitak mikrobiološki neispravan. Dozvoljeni broj kvasaca i

plijesni jest  $3 \log \text{CFU mL}^{-1}$ , a 21. dan u uzorcima fermentiranog napitka Natur iznosio je  $3,92 \log \text{CFU mL}^{-1}$ . No, 28. dan čuvanja uopće nisu bili prisutni kvasci i plijesni. Uzrok tomu najvjerojatnije je bila prevruća hranjiva podloga prilikom izlijevanja u Petrijeve zdjelice jer su analize 35. dan pokazale prisutnost kvasaca i plijesni. Nefermentirani zobeni napitak od prvog dana čuvanja imao je najviše kvasaca i plijesni čiji je broj rastao tijekom skladištenja, ali nije prelazio granice nedozvoljenog. S obzirom da se 28. dan broj kvasaca i plijesni u nefermentiranom napitku približavao granici od  $3 \log \text{CFU mL}^{-1}$ , može se zaključiti da je 28 dana rok trajanja tog napitka.

Tablica 7. Prosječne vrijednosti (log CFU mL<sup>-1</sup>) parametara mikrobioloških analiza uzoraka zobenog napitka te fermentiranih napitaka Natur i Rogač

	1. dan	7. dan	14. dan	21. dan	28. dan	35. dan
Kvasci i plijesni						
Zobeni napitak	1,68	1,90	2,51	2,91	2,94	/
Natur	0,98±0,90	1,20±0,12	1,65±0,14	3,92±0,28	Nisu prisutni	1,93±0,72
Rogač	0,93±0,87	1,65±0,21	1,70±0,12	2,59±0,33	2,23±0,22	2,30±0,29
Enterobakterije						
Zobeni napitak	Nisu prisutne tijekom svih dana čuvanja					
Natur						
Rogač						
Koagulaza pozitivni stafilokoki						
Zobeni napitak	Nisu prisutni				0	/
Natur	Nisu prisutni					
Rogač						
<i>Salmonella</i> , prvi i posljednji dan čuvanja						
Zobeni napitak	Nije prisutna					
Natur						
Rogač						

#### 4.3.2. pH vrijednost, udio suhe tvari i maltoze u napitcima

Promatrajući po danima pH vrijednosti svih zobenih napitaka iz tablice 8 najvišu pH vrijednost imao je zobeni napitak, zatim „Natur“, pa Rogač napitak. Za sve napitke može se reći da je došlo do slabog ili nikakvog pada pH vrijednosti tijekom skladištenja fermentiranih napitaka tijekom 35 dana čuvanja, odnosno zobenog napitka tijekom 28 dana čuvanja što implicira na prihvatljiv rok trajanja. Slične rezultate pH vrijednosti fermentiranih napitaka zabilježili su Gupta i sur. (2010). U njihovom radu tijekom 21 dana skladištenja nije došlo do značajne promjene pH i iznosio je 4,5.

Bernat i sur., za zobeni napitak izmjerili su pH vrijednost 6,41, dok je u ovom radu pH zobenog napitka, prikazana u tablici 8, iznosila od 8,30 do 7,97. Zbog različitog sastava napitaka, različit je i izmjereni pH.

U tablici 8 prikazan je udio suhe tvari u uzorcima svih napitaka. Od svih napitaka kojima je određivan udio suhe tvari, zobeni napitak ima najniži, a uzorak Rogač ima najveći udio suhe tvari. Uspoređujući fermentirani napitak Natur i zobeni napitak, vidljivo je da fermentirani napitak Natur ima veći udio suhe tvari.



Tablica 8. Prikaz prosječnih pH-vrijednosti, udjela suhe tvari i udjela maltoze za uzorke zobenog napitka, Natur i Rogač napitaka po danima

Uzorak	Zobeni napitak		Natur		Rogač	
	pH	Udio suhe tvari (%)	pH	Udio suhe tvari (%)	pH	Udio suhe tvari (%)
<b>1.</b>	8,30	2,65	4,6±0,02	4,77±0,02	4,65±0,08	8,62±0,01
<b>7.</b>	8,07	-	4,65±0,01	4,75±0,06	4,55±0,19	8,48±0,15
<b>14.</b>	8,12	-	4,52±0,01	4,83±0,10	4,50±0,08	7,52±1,47
<b>21.</b>	7,87	-	4,55±0,04	4,79±0,05	4,44±0,00	8,57±0,14
<b>28.</b>	7,97	1,72	4,62±0,13	4,77±0,01	4,51±0,12	8,42±0,13
<b>35.</b>	-	-	4,70±0,00	4,69±0,09	4,58±0,08	7,72±1,39

Maltoza (ili sladni šećer) je međuprodukt u probavi crijeva, tj. hidrolize glikogena i škroba, a nalazi se u klijavim žitaricama (i drugim biljkama i povrću). Sastoji se od dvije molekule glukoze povezane  $\alpha$ - (1,4) glikozidnom vezom (Engelking, 2015).

Udio maltoze u napitcima prikazan je u tablici 9 i najveći udio određen je u zobenom napitku, zatim u fermentiranom napitku Rogač, a najmanji udio u fermentiranom napitku Natur. U svim napitcima udio maltoze vremenom je opadao. Maltoza podliježe fermentaciji te je sukladno tome i ima u manjem postotku u fermentiranim napitcima nego u nefermentiranom zobenom napitku. S obzirom da nije provedena fermentacija zobenom napitku, u tom napitku je i određen najveći udio maltoze. U Rogač napitku se nalazio veći udio maltoze nego u napitku Natur, zbog čega je veća količina dodanog šećera i usporavala proces fermentacije. U Rogač napitku postojalo je više izvora šećera za fermentaciju nego u Natur napitku, pa je shodno tome u Natur napitku utrošeno više maltoze.

Martensson i sur. (2001) odredili su udio maltoze u fermentiranom napitku Adavena M40 fermentiranom različitim kulturama u rasponu od 0,5-6,2 %.

Tablica 9. Prikaz prosječnih vrijednosti udjela maltoze (%) za zobeni napitak, Natur te Rogač po danima

Uzorak	Zobeni napitak	Natur	Rogač
Redni broj dana	Udio maltoze (%)	Udio maltoze (%)	Udio maltoze (%)
1.	7,35	1,053±0,22	1,94±0,42
7.	3,75	0,88±0,08	1,76±0,22
14.	4,71	0,82±0,11	1,46±0,08
21.	3,23	0,70±0,06	1,25±0,17
28.	1,6	0,59±0,06	1,01±0,00
35.	/	0,49±0,08	0,68±0,36

#### 4.3.3. Udio soli i mineralnih tvari u napitcima

Promatrajući udio soli (%) prvi i posljednji dan čuvanja, najviši udio soli imao je fermentirani napitak „Natur“, zatim fermentirani napitak „Rogač“, a zatim obični napitak od zobi.

Mineralne tvari su sastojci koji zaostaju u obliku pepela nakon spaljivanja biljnih i životinjskih tkiva. Udio mineralnih tvari u napitcima prikazan je u tablici 10. Najveći udio mineralnih tvari određen je u fermentiranom napitku Natur, zatim u fermentiranom napitku Rogač, a najmanji udio mineralnih tvari određen je u zobenom napitku. S obzirom da je najviši udio soli u fermentiranom napitku Natur, najviši je i udio mineralnih tvari. Tim redoslijedom ide i napitak Rogač, te na kraju i zobeni napitak u kojem je najmanji udio soli te shodno tome i najniži udio mineralnih tvari. Fermentirani napitci bogatiji su mineralima od nefermentiranog zobenog napitka što znači da fermentacija pozitivno utječe na udio minerala.

Tablica 10. Prikaz prosječnih udjela soli (%) i mineralnih tvari (%) za zobeni napitak prvi i posljednji dan (28. dan) te za uzorke Natur i Rogač za prvi i posljednji dan (35. dan)

Uzorak	Zobeni napitak		Natur		Rogač	
	Redni broj dana	Udio soli (%)	Udio mineralnih tvari (%)	Udio soli (%)	Udio mineralnih tvari (%)	Udio soli (%)
1.	0,93	0,05	1,64±0,05	0,22±0,00	1,29±0,66	0,11±0,00
28.	0,93	0,032	1,83±0,23	0,22±0,00	0,99±0,24	0,11±0,00

#### 4.3.4. Reološka svojstva napitaka

Reološki parametri ispitivanih napitaka prikazani u tablicama 11, 12 i 13 te na slikama 4, 5 i 6; određeni su u 2 paralele, a u tablici i na grafovima prikazane su srednje vrijednosti. Mjerenja su provedena pri temperaturama od 22 °C.

Zbog prevelike torzije i nemogućnosti provođenja mjerenja pri višim vrijednostima brzine smicanja, mjerenja za Rogač fermentirani napitak provedena su u rasponu brzina od 5 do 35 s<sup>-1</sup>. Za fermentirani napitak Natur, mjerenja reoloških parametara provedena su pri sljedećim vrijednostima smične brzine: 100, 270, 440, 610, 780, 950, 1120 i 1290 s<sup>-1</sup>, kao i za obični zobeni napitak.

Budući da su guste kapljevine i kaše nenevtonovske tekućine, vrijednost viskoznosti razlikuje se pri različitim vrijednostima brzine smicanja i govorimo o prividnoj viskoznosti. Za procjenu reoloških parametara, koriste se i vrijednosti koeficijenta konzistencije (Pas<sup>n</sup>) te indeks tečenja. Vrijednost indeksa tečenja za sve kaše i smjese pri svim temperaturama mjerenja je pozitivna i manja od 1, što ukazuje na to da se radi o pseudoplastičnim fluidima (Lelas, 2006).

U istraživanju Bernat i sur. (2014) fermentirane i nefermentirane zobene napitke klasificirali su kao pseudoplastične, budući da su uzorci pokazali vrijednosti indeksa tečenja manju od 1. Drugi autori također su uočili pseudoplastično ponašanje u vodenim otopinama žitarica (Bernat i sur., 2009). Iznimku od ovoga, u ovom istraživanju, pokazao je nefermentirani zobeni napitak 28. dan čuvanja čiji su uzorci pokazali dilatantno ponašanje jer je vrijednost indeksa tečenja veća od 1.

Iz tablica 11, 12 i 13 može se zaključiti kako fermentirani napitci imaju veću viskoznost od zobenog napitka, dok između oba fermentirana napitka veću viskoznost ima fermentirani napitak Rogač. S obzirom da su oba napitka fermentirana istom kulturom, tome može biti razlog različit sadržaj napitaka, odnosno veći udio suhe tvari kod napitka Rogač.

Također, prostim okom mogle su se vidjeti čestice fermentiranog napitka Rogač; izgledala je pomalo “zrnato” iako se provodilo miksiranje štapičnim mikserom nakon kuhanja.

Škrob u fermentiranom Natur napitku, a brašno sjemenki rogača u fermentiranom napitku Rogač dodavani su radi postizanja glatke i mekane teksture. Usporedbom prividne viskoznosti iz tablica 11, 12 i 13 može se primijetiti da je vrijednost prividne viskoznosti veća u fermentiranim napitcima u odnosu na zobeni napitak.

Tijekom čuvanja, došlo je do blagog pada viskoznosti, osim kod uzorka Rogač kod kojeg je viskoznost bila varijabilna cijelo vrijeme.

Kao što je vidljivo na slikama 4, 5 i 6, viskoznost opada povećanjem brzine smicanja.

Tablica 11. Prikaz reoloških parametara za uzorak Natur

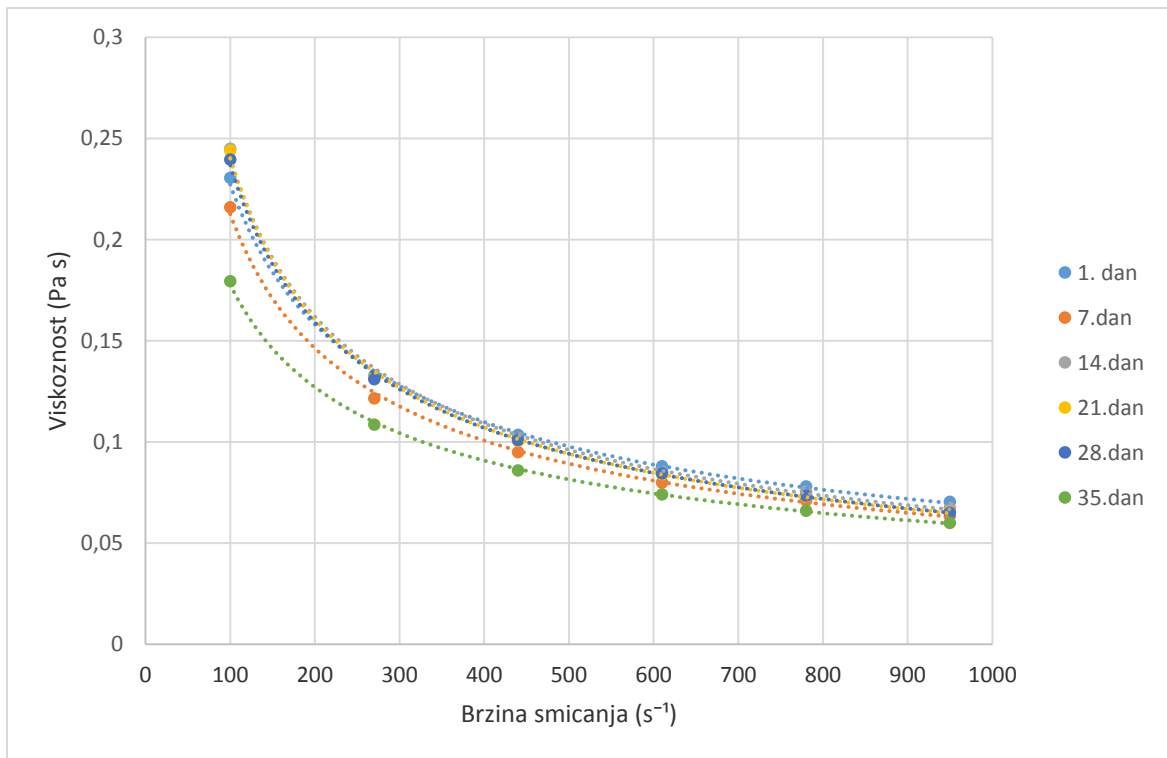
<b>Uzorak Natur</b>	<b>Prividna viskoznost/ mPas</b>	<b>Koeficijent konzistencije/ mPas</b>	<b>Indeks tečenja, n</b>	<b>Koeficijent regresije, R<sup>2</sup></b>
<b>1. dan</b>	61,00±0,00	2,4853±0,64	0,4826±0,03	0,9991±0,00
<b>7. dan</b>	54,50±0,00	2,4917±0,02	0,4648±0,01	0,9990±0,00
<b>14. dan</b>	57,00±0,00	3,2457±0,16	0,4341±0,00	0,9983±0,00
<b>21. dan</b>	56,00±0,00	3,3342±0,37	0,4276±0,02	0,9979±0,00
<b>28. dan</b>	55,50±0,00	3,2694±0,24	0,4296±0,01	0,9991±0,00
<b>35. dan</b>	53,00±0,00	3,4039±0,99	0,5365±0,15	0,9996±0,00

Tablica 12. Prikaz reoloških parametara za uzorak Rogač

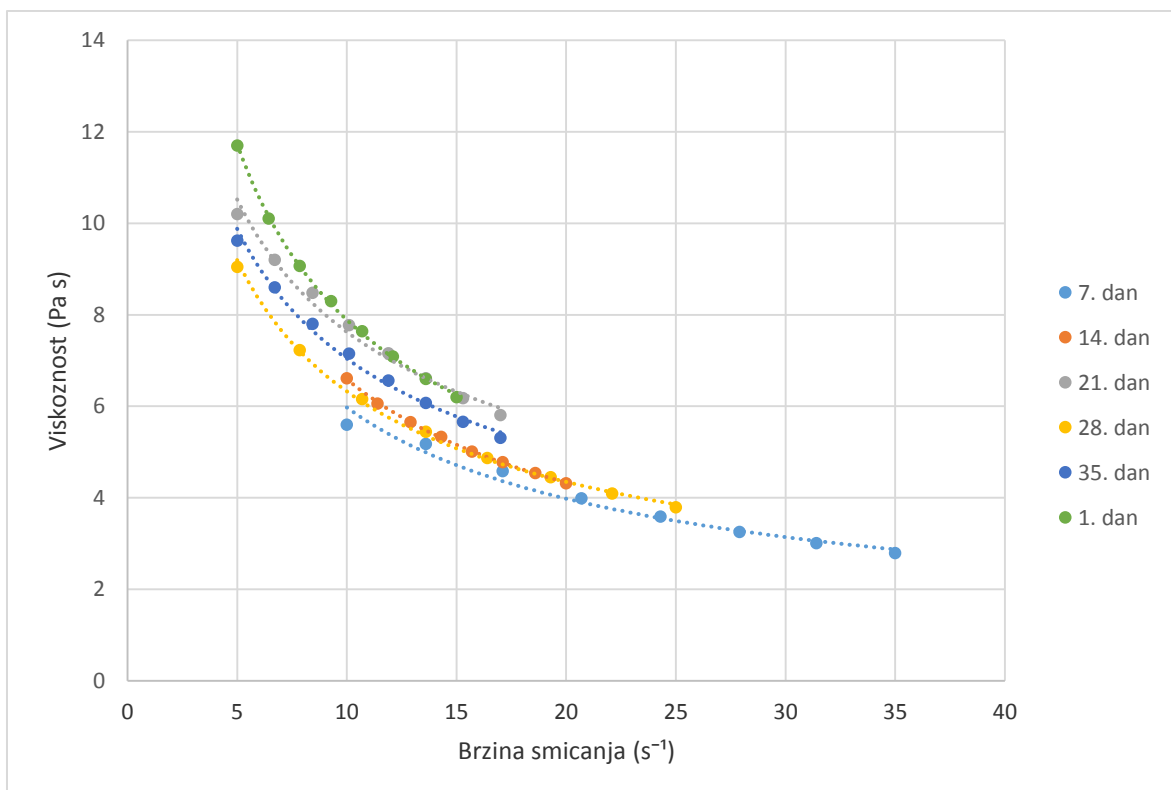
<b>Uzorak Rogač</b>	<b>Prividna viskoznost/ mPas</b>	<b>Koeficijent konzistencije/ mPas</b>	<b>Indeks tečenja, n</b>	<b>Koeficijent regresije, R<sup>2</sup></b>
<b>1. dan</b>	6200	29,5393	0,4268	0,9983
<b>7. dan</b>	2790	22,9351	0,4156	0,9587
<b>14. dan</b>	4320	26,6195	0,3940	0,9988
<b>21. dan</b>	5100	22,4285	0,5318	0,9979
<b>28. dan</b>	3790	21,9483	0,4597	0,9979
<b>35. dan</b>	5310	21,7470	0,5101	0,9926

Tablica 13. Prikaz reoloških parametara za zobeni napitak

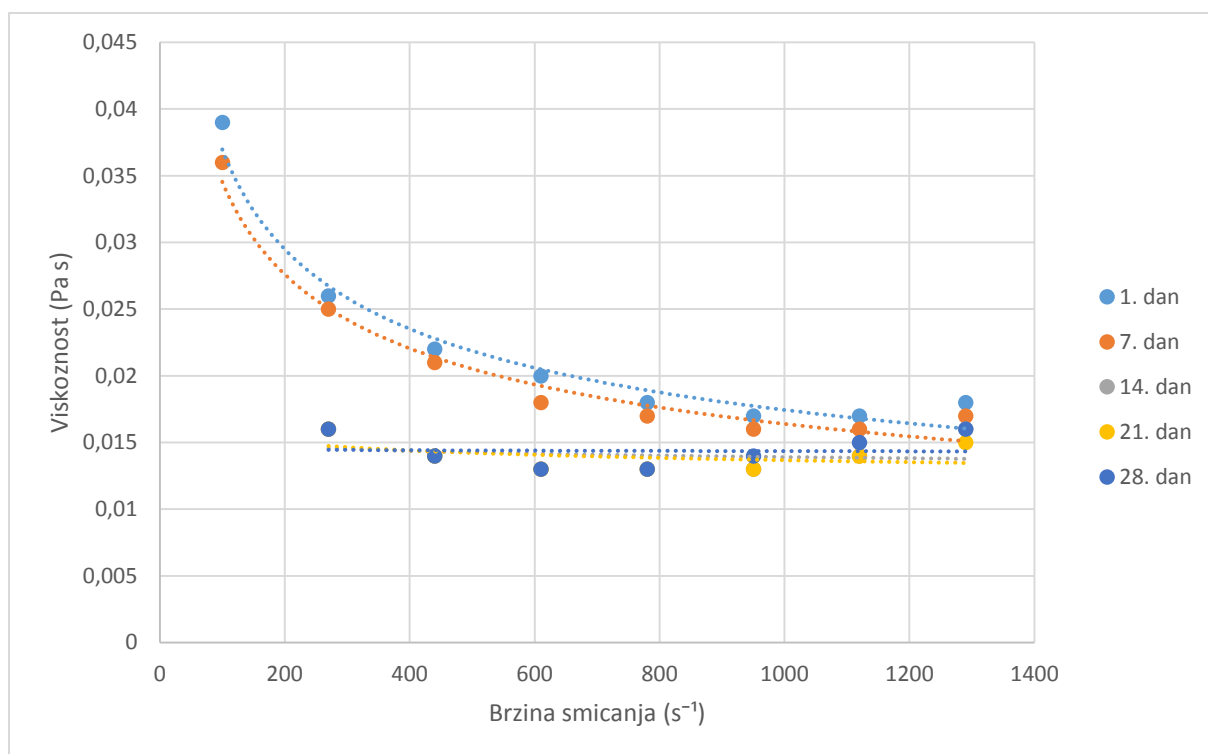
<b>Obični zobeni napitak</b>	<b>Prividna viskoznost/ mPas</b>	<b>Koeficijent konzistencije/ mPas</b>	<b>Indeks tečenja, n</b>	<b>Koeficijent regresije, R<sup>2</sup></b>
<b>1. dan</b>	18	5,6286	0,6628	0,9919
<b>7. dan</b>	17	6,5887	0,6781	0,9895
<b>14. dan</b>	16	50,0495	0,9495	0,9767
<b>21. dan</b>	15	52,6502	0,9550	0,9820
<b>28. dan</b>	16	74,90	1,0111	0,9780



Slika 4. Grafički prikaz ovisnosti viskoznosti (Pa s) o brzini smicanja (s<sup>-1</sup>) za uzorak Natur tijekom 35 dana skladištenja



Slika 5. Grafički prikaz ovisnosti viskoznosti (Pa s) o brzini smicanja (s<sup>-1</sup>) za uzorak Rogač tijekom 35 dana skladištenja



Slika 6. Grafički prikaz ovisnosti viskoznosti (Pa s) o brzini smicanja (s<sup>-1</sup>) za zobeni napitak tijekom 28 dana skladištenja

#### 4.3.5. Senzorska procjena napitaka

Senzorska (organoleptička) analiza je znanstvena disciplina koja se koristi u svrhu mjerenja, analize i interpretacije reakcija na karakteristična svojstva namirnica, a koja se određuju uz pomoć osjetila mirisa, okusa, njuha, dodira i sluha. To je jedna od najstarijih metoda za određivanje kvalitete namirnica i njezina je primjena vrlo česta u prehrambenoj industriji. Senzorska svojstva namirnice uključuju tri osnovne karakteristike. To su izgled (boja, oblik, veličina), okus i miris te tekstura (viskoznost, hrskavost) (Tratnik i Božanić, 2012).

Prednosti senzorske ocjene kvalitete proizvoda su brzina i mogućnost ranog otkrivanja mane proizvoda, točnost u procjeni kvalitete proizvoda, jednostavnost, niski troškovi i mnogostruka primjena. Nedostaci se odnose uglavnom na probleme pri interpretaciji rezultata i odabiru što objektivnijih metoda (Tratnik i Božanić, 2012).

U prehrambenoj industriji senzorska ocjena kvalitete proizvoda nalazi svoju primjenu prvenstveno u razvoju novih proizvoda, pri poboljšanju kvalitete postojećih proizvoda, pri

procjeni kvalitete proizvoda tijekom skladištenja, pri ispitivanju ukusa potrošača (Božanić i sur., 2010).

Senzorsku analizu proveli su panelisti koji su ocjenjivali izgled, boju, konzistenciju, miris i okus uzoraka fermentiranih napitaka i običnog zobnog napitka.

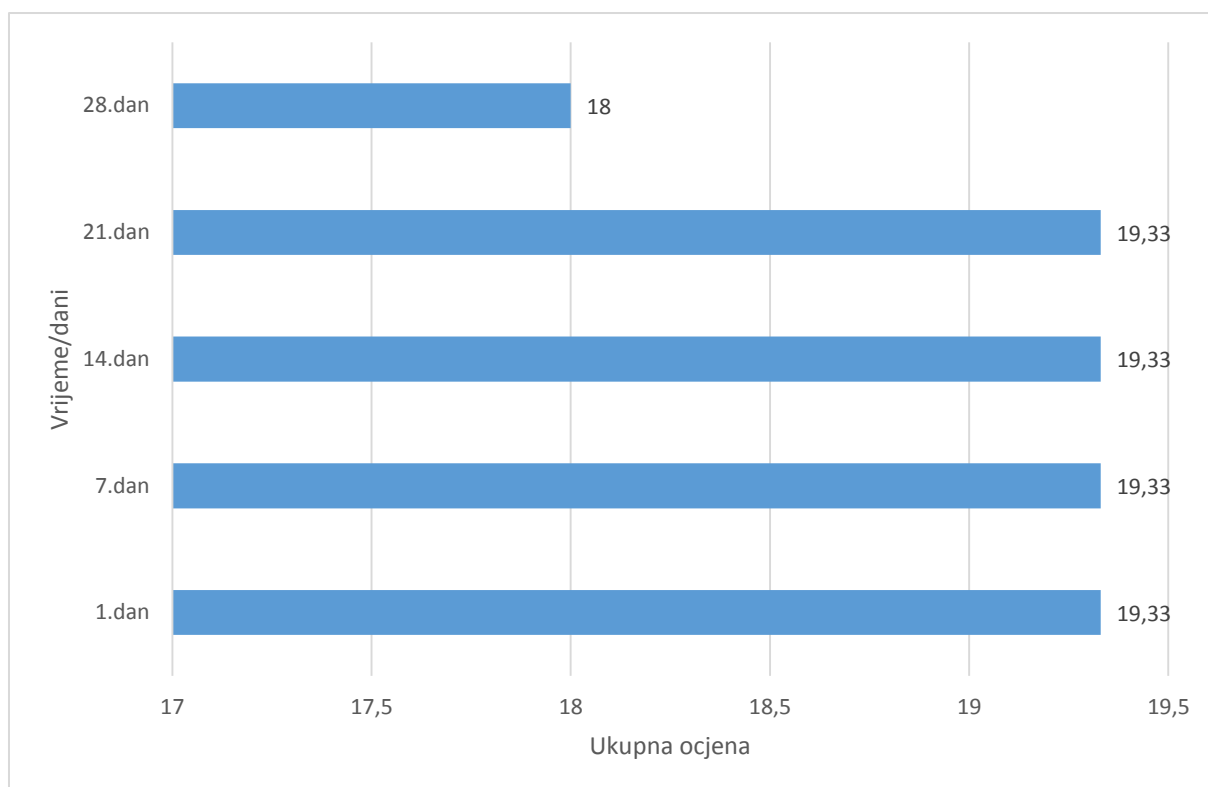
Na temelju prosječnih ukupnih bodova postignutih pri senzorskoj analizi vidljivih na slikama 7, 8 i 9 može se zaključiti da je fermentirani napitak Rogač postigao najviše bodova, osim za konzistenciju za koju je najviše bodova imao fermentirani napitak Natur.

Za najbitniji senzorski parametar, a to je okus, najvišu ocjenu dobio je fermentirani napitak Rogač.

Za senzorske parametre miris, boju i izgled svi napitci imali su maksimalne bodove.

Dodavanje 1,5 % saharoze u zobenu kašu nije bilo dovoljno kako bi se osigurala prihvatljiva slatkoća proizvoda od zobi. Stoga su se fermentirale dvije varijante zobnih kaša s dodatkom različitih zaslađivača (Angelov i sur., 2006). U ovom radu, u fermentirani napitak Rogač dodano je 3% saharoze čime također nije osigurana prihvatljiva slatkoća proizvoda, kao ni fermentiranog napitka Natur i zobnog napitka u koji nije dodavana saharoza. Najčešći komentari ocjenjivača bili su da im nešto nedostaje u napitcima, a to se odnosilo na slatkoću proizvoda i punoću okusa. Za fermentirani napitak Natur bilo je i nekoliko komentara da je kiseo.

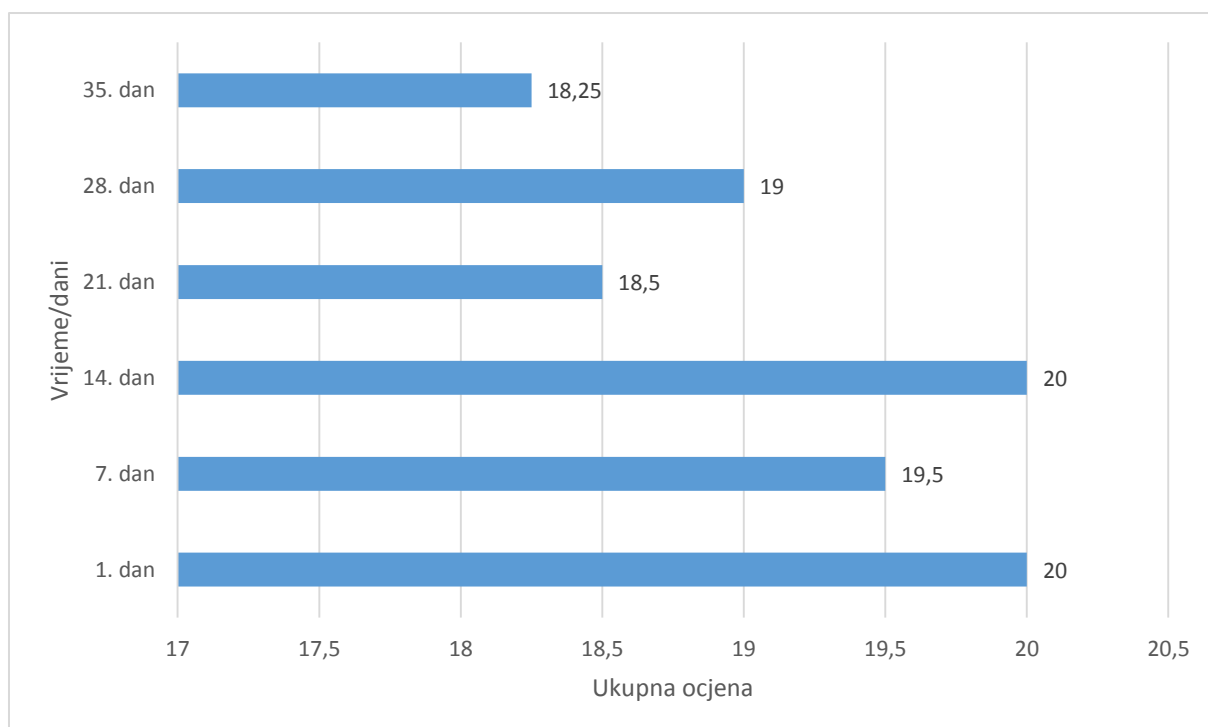




Slika 7. Grafički prikaz ukupnih ocjena za senzorsku procjenu zobenog napitka tijekom 28 dana skladištenja

Tablica 14. Prikaz ocjena pojedinačnih senzorskih parametara za zobeni napitak tijekom 28 dana skladištenja

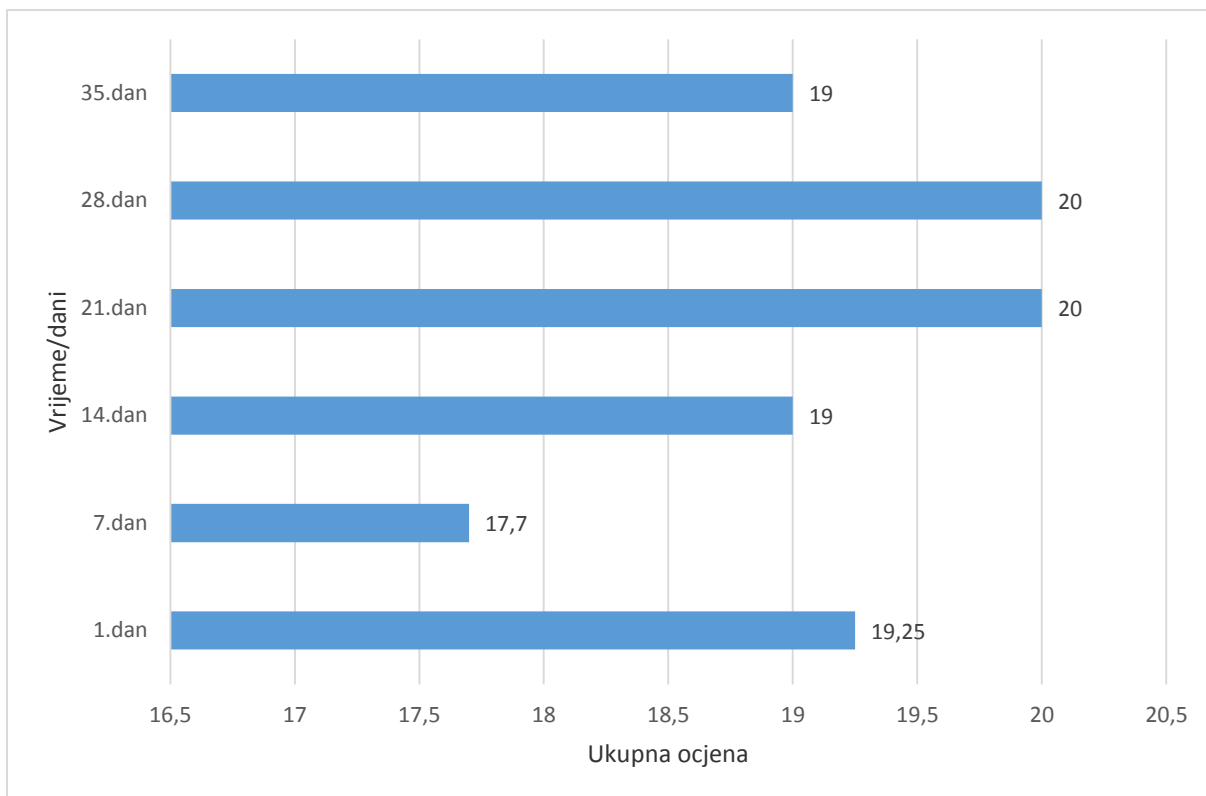
Zobeni napitak	Izgled	Boja	Konzistencija	Miris	Okus
	(max 1)	(max 1)	(max 4)	(max 2)	(max 12)
<b>1. dan</b>	1	1	4,00±0,00	2	11,33±1,15
<b>7. dan</b>	1	1	4,00±0,00	2	11,33±1,15
<b>14. dan</b>	1	1	4,00±0,00	2	11,33±1,15
<b>21. dan</b>	1	1	4,00±0,00	2	11,33±1,15
<b>28. dan</b>	1	1	2,67±0,58	2	11,33±1,15



Slika 8. Grafički prikaz ukupnih ocjena senzorske procjene uzorka Natur tijekom 35 dana skladištenja

Tablica 15. Prikaz ocjena pojedinačnih senzorskih parametara za uzorak Natur tijekom 35 dana skladištenja

Natur	Izgled	Boja	Konzistencija	Miris	Okus
	(max 1)	(max 1)	(max 4)	(max 2)	(max 12)
<b>1. dan</b>	1	1	4	2	12,00±0,00
<b>7. dan</b>	1	1	4	2	11,50±0,58
<b>14. dan</b>	1	1	4	2	12,00±0,00
<b>21. dan</b>	1	1	4	2	10,50±0,58
<b>28. dan</b>	1	1	4	2	11,00±1,15
<b>35. dan</b>	1	1	4	2	10,25±0,96



Slika 9. Grafički prikaz ukupnih ocjena senzorske procjene uzorka Rogać tijekom 35 dana skladištenja

Tablica 16. Prikaz ocjena pojedinačnih senzorskih parametara za Rogać uzorak tijekom 35 dana skladištenja

Rogač	Izgled	Boja	Konzistencija	Miris	Okus
	(max 1)	(max 1)	(max 4)	(max 2)	(max 12)
<b>1. dan</b>	1	1	3,25±1,50	2	12,00±0,00
<b>7. dan</b>	1	1	2,45±1,79	2	11,25±0,96
<b>14. dan</b>	1	1	4,00±0,00	2	11,00±1,15
<b>21. dan</b>	1	1	4,00±0,00	2	12,00±0,00
<b>28. dan</b>	1	1	4,00±0,00	2	12,00±0,00
<b>35. dan</b>	1	1	3,00±1,15	2	12,00±0,00

## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata fizikalno-kemijskih, reoloških, mikrobioloških i senzorskih analiza na uzorcima fermentiranih napitaka Natur i Rogač, te običnog zobenog napitka, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Optimiranje proizvodnje zobenog napitka iz zrna zobi uspješno je provedeno, kao i fermentacija. pH vrijednost svih uzoraka tijekom uzoraka bila je stabilna, nije se značajno mijenjala, što implicira na prihvatljiv rok trajanja.
2. Iz prosječnog mineralnog sastava uzoraka svih napitaka vidljivo je da fermentirani napitci imaju veći udio mineralnih tvari nego zobeni napitak koji nije fermentiran.
3. Najviši udio suhe tvari imao je fermentirani napitak Rogač (8,22 %), zatim Natur (4,77 %) i na kraju zobeni napitak (2,19 %).
4. Najviši udio maltoze imao je zobeni napitak, zatim fermentirani napitak Rogač, a najmanji udio imao je fermentirani napitak Natur.
5. Tijekom perioda skladištenja utvrđeno je da su svi uzorci bili mikrobiološki ispravni, osim 21. dan kada je u uzorcima fermentiranog napitka Natur određen prekomjeren broj kvasaca i plijesni. U skladu s time procijenjeni rok trajanja za fermentirani napitak Rogač bio 35 dana, za fermentirani napitak Natur 21 dan i za nefermentirani zobeni napitak 28 dana.
6. Na temelju prosječnih bodova postignutih pri senzorskoj analizi može se zaključiti da je fermentirani napitak Rogač postigao najviše bodova uz komentare da je ugodnog okusa i konzistencije, dok je najmanje bodova postigao zobeni napitak uz komentare da je konzistencija prerijetka. Okus svih napitaka bio je prihvatljiv od strane panelista.
7. Konačno, može se zaključiti da bi se zrno zobi moglo koristiti kao dobra sirovina za pripremu novog fermentiranog proizvoda s visokom prihvatljivošću od strane potrošača.

## 6. LITERATURA

Anonymous 1 <<https://www.friendlyvikings.com/product/sour-oat-200-g/>> Pristupljeno 9. kolovoza 2021.

Agati V., Guyot J.P., Morlon-Guyot, J., Talamond P., Hounhouigan, D.J., (1998) Isolation and characterization of new amylolytic strains of *Lactobacillus fermentum* from fermented maize doughs (mawa and ogi) from Benin. *J. Appl. Microbiol.* **85**,512–520.

Angelov, A., Gotcheva, V., Kuncheva, R., Hristozova, T. (2006) Development of a new oat-based probiotic drink. *Int. J. Food Microbiol.*, **112**(1), 75–80.

Angelov, A., Yaneva-Marinova, T., Gotcheva, V. (2019) Oats as a matrix of choice for developing fermented functional beverages. *J. Food. Sci. Technol.* **55** (7), 2351-2360.

Aparicio-García, N., Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., Peñas, E. (2021) Production and Characterization of a Novel Gluten-Free Fermented Beverage Based on Sprouted Oat Flour. *Foods*. **10**, 139.

Banovic, M., Arvola, A., Pennanen, K., Duta, D. E., Brückner-Gühmann, M., Lähteenmäki, L., Grunert, K. G. J. A. (2018) Foods with increased protein content: A qualitative study on European consumer preferences and perceptions. *Appetite* **125**, 233-243.

Barak, S., Mudgil, D. (2014) Locust bean gum: Processing, properties and food applications - A review. *Int. J. Biol. Macromol.* **66**, 74–80.

Bernat., N., Cháfer, M., González-Martínez, C., Rodríguez-García, J., Chiralt, A. (2014) Optimisation of oat *milk* formulation to obtain fermented derivatives by using probiotic *Lactobacillus reuteri* microorganisms. *Food Sci. Technol. Int.* **21**(2), 145-157.

Božanić, R., Jeličić, J., Bilušić, T. (2010) Analiza mlijeka i mliječnih proizvoda, Plejada, Zagreb.

Bricarello, L. P., Kasinski, N., Bertolami, M. C., Faludi, A., Pinto, L. A., Relvas, W. G., Izar, M. C., Ihara, S. S., Tufik, S., Fonseca, F. A. (2004) Comparison between the effects of soy milk and non-fat cow milk on lipid profile and lipid peroxidation in patients with primary hypercholesterolemia. *Nutr.* **20** (2), 200–204.

Decker, E. A., Rose, D. J., Stewart D. (2014) Processing of oats and the impact of processing operation on nutrition and health benefits, *Brit. J. Nutr.* **112**, 58-64.

Dragojević Müller, I. (2017): Morfološke, genetske i fitokemijske značajke populacije rogača u Hrvatskoj, Doktorski rad, PMF, Sveučilište u Zagrebu.

EFSA (2010) Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to oat beta glucan and lowering blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. Panel on Dietetic Products, Nutrition Allergies. *EFSA J.* **8**(12), 1885.

Durazzo, A., Turfani, V., Narducci, V., Azzini, E., Maiani, G., Carcea, M. (2014) Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food. Chem.* **153**, 109-113.

Engelking, L. R. (2015) Carbohydrate structure. *Textbook of Veterinary Physiological Chemistry*. 118-123. doi:10.1016/b978-0-12-391909-0.50018-9

Englyst, H. N., Bingham, S. A., Runswick, S. A., Collinson, E., Cummings, J. H. (1989) Dietary fibre (non-starch polysaccharides) in cereal products. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2**, 253–271.

FAO (2019) FAOSTAT <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Pristupljeno 26. srpnja 2021.

FDA (1997) Food labeling: Health claims oats and coronary heart disease Final rule. *Fed. Reg.* **62** (15), 3583-3601.

Flutto, L. (2003). Pectin: Properties and Determination. U: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 4440–4449. doi:10.1016/b0-12-227055-x/00901-9

Froio, F., Cristiano, M. C., Mancuso, A., Iannone, M., Paolino, D. (2020) Vegetable-Milk-Based Yogurt-Like Structure: Rheological Properties Influenced by Gluten-Free Carob Seed Flour. *Appl. Sci.* **10**(19), 6963.

Gonczewicz, A., Misiewicz, A., Owczarek, L., Jasińska, U., Skąpska, S. (2016) The Effect of a Newly Developed Oat-Banana Fermented Beverage with a Beta-glucan Additive on *ldhL* Gene Expression in *Streptococcus thermophilus* TKM3 KKP 2030p. *Curr. Microbiol.*, **73**(6), 773–780.

Gupta, S., Cox, S., Abu-Ghannam, N. (2010) Process optimization for the development of a functional beverage based on lactic fermentation of oats. *Biochem. Eng. J.* **52**(2-3), 199-204.

- Iserliyska, D., Aleksandrov, S., Angacheva, E., Iliev, A., Angelov, A. (2015) Acceptability of a nutritious flavoured oat based beverage “Biovessina”. U: Conference proceedings of “food, technology health”, str. 54–59.
- Lásztity, R. (1998) Oat grain - A wonderful reservoir of natural nutrients and biologically active substances. *Food Rev. Int.* **14**, 99–119.
- Lelas, V. (2006) Prehrambeno-tehnološko inženjerstvo 1. Fizička svojstva hrane. Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb
- Levaj, B. (2020) Nastavni materijali iz kolegija „Kemija i tehnologija voća i povrća“, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb. Pristupljeno 28. srpnja 2021.
- Martínez-Villaluenga, C., Peñas, E. (2017) Health benefits of oat: current evidence and molecular mechanisms. *Curr. Opin. Food Sci.* **14**, 26–31.
- Mårtensson, O., Oste, R., Holst, O. (2000) Lactic acid bacteria in an oat-based non-dairy milk substitute: fermentation characteristics and exopolysaccharide formation. *LWT-Food Sci. Technol.* **33**, 525–530.
- Mårtensson, O., Andersson, C., Andersson, K., Öste, R., Holst, O. (2001) Formulation of an oat-based fermented product and its comparison with yoghurt. *J. Sci. Food Agric.*, **81**(14), 1314–1321.
- McGee, H. (2004) On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen, 2.izd, Scribner, New York.
- USDA (2021) USDA National Nutrient Database. USDA –United States Department of Agriculture. <<https://fdc.nal.usda.gov/>> Pristupljeno 27. srpnja 2021.
- O'Sullivan, J. J., O'Mahony, J. A. (2016) Food ingredients. Reference Module in Food Science. School of Food and Nutritional Sciences, University College Cork, Cork, Ireland. doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.03407-7
- Pravilnik o prehrambenim aditivima (2010) *Narodne novine* **62**, Zagreb.
- Pravilnik o žitaricama i proizvodima od žitarica (2016) *Narodne novine* **81**, Zagreb.
- Režek Jambrak, A., Vukušić, T. (2017) Fizikalna svojstva složenih sustava hrane – priručnik za studente, Sveučilište u Zagrebu.

Saha, D., Bhattacharya, S. (2010) Hydrocolloids as thickening and gelling agent sin food: A critical review. *J. Food Sci. and Techn.* **47**(6), 587-597.

Schmidt, U. S., Koch, L., Rentschler, C., Kurz, T., Endreß, H. U., Schuchmann, H. P. (2015) Effect of Molecular Weight Reduction, Acetylation and Esterification on the Emulsification Properties of Citrus Pectin. *Food Biophy.* **10**, 217-227.

Serna-Saldivar, S. (2010) Cereal Grains: Properties, Processing, and Nutritional Attributes, CRC Press, Boca Raton.

Šušković, J. (2020) Nastavni materijali iz kolegija „Principi biotehnoške proizvodnje hrane“. Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Zagreb. Pristupljeno 25. kolovoza 2021.

Tratnik, Lj., Božanić, R. (2012) Mlijeko i mliječni proizvodi. Hrvatska mljekarska udruga. Zagreb.

Valero-Cases, E., Cerdá-Bernad, D., Pastor, J. J., Frutos, M. J. (2020) Non-Dairy Fermented Beverages as Potential Carriers to Ensure Probiotics, Prebiotics, and Bioactive Compounds Arrival to the Gut and Their Health Benefits. *Nutr.*, **12**(6), 1666. doi:10.3390/nu12061666

USDA (2021) USDA National Nutrient Database. USDA –United States Department of Agriculture. <<https://fdc.nal.usda.gov/>> Pristupljeno 27. srpnja 2021.

Willfahrt, A., Steiner, E., Jonas Hötzel, J., Crispin, X. (2019) Printable acid-modified corn starch as non-toxic, disposable hydrogel-polymer electrolyte in supercapacitors. *Applied Physics A.* **125** (7). doi:10.1007/s00339-019-2767-6

Wüstenberg, T. (2015): General Overview of Food Hydrocolloids, <[https://application.wiley-vch.de/books/sample/352733758X\\_c01.pdf](https://application.wiley-vch.de/books/sample/352733758X_c01.pdf)> Pristupljeno 27. srpnja 2021.



### 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.

Valentina Križanac

Valentina Križanac

