

# **Utjecaj dodatka prosa, rogača te kiselog tijesta na starenje bezglutenskog tankog kruha**

---

**Gačić, Matea**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2023**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:136498>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-05-20**



prehrambeno  
biotehnološki  
fakultet

*Repository / Repozitorij:*

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



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Matea Gačić**  
0058215313

**UTJECAJ DODATKA PROSA, ROGAČA TE KISELOG  
TIJESTA NA STARENJE BEZGLUTENSKOG  
TANKOG KRUHA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Kemija i tehnologija žitarica

**Mentor:** doc. dr. sc. Bojana Voučko

**Zagreb, 2023.**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju žitarica, na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod mentorstvom doc. dr. sc. Bojane Voučko.

This thesis is supported by the PRIMA program under grant agreement No. 2031, project Flat Bread of Mediterranean area: Innovation & Emerging process & technology (Flat Bread Mine). The PRIMA program is an Art.185 initiative supported and funded under Horizon 2020, the European Union's Framework Program for Research and Innovation. The results and content found on this paper reflects only the author's view. The PRIMA Foundation is not responsible for any use that may be made of the information it contains.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za kemiju i tehnologiju žitarica

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

### UTJECAJ DODATKA PROSA, ROGAČA TE KISELOG TIJESTA

### NA STARENJE BEZGLUTENSKOG TANKOG KRUA

Matea Gačić, 0058215313

**Sažetak:** Proso i rogač su prirodne sirovine koje mogu poboljšati nutritivnu vrijednost te tehnološka svojstava bezglutenskog kruha. Kisela fermentacija smjese brašna rogača, prosa i posija proса prije dodatka u zamjes za pripremu bezglutenskog kruha dodatno može unaprijediti trajnost bezglutenskog kruha. Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj dodatka smjese brašna rogača, prosa i prosenih posija te utjecaj kisele fermentacije iste smjese na kvalitetu bezglutenskog tankog kruha. Kvaliteta kruha određena je mjerjenjem fizikalnih svojstava kruha s naglaskom na teksturu kruha tijekom 72 sata. Kruh obogaćen rogačem i prosom te kruh s dodatkom kiselog tijesta pokazali su manju tvrdoću i žvakljivost sredine kruha u odnosu na kontrolni kruh. Kohezivnost i elastičnost sredine kruha smanjile su se kroz vrijeme za sve uzorke. Dodatak kiselog tijesta u bezgluteniski kruh uzrokuje manje izražene promjene parametara teksture kroz vrijeme u usporedbi s ostalim uzorcima.

**Ključne riječi:** kiselo tijesto, bezgluteniski kruh, trajnost, rogač, proso

**Rad sadrži:** 27 stranica, 7 slika, 5 tablica, 46 literarnih navoda, 0 priloga

**Jezik izvornika:** hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** doc. dr. sc. Bojana Voučko

**Datum obrane:** 14. rujna 2023.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**Undergraduate thesis**

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Food Technology**

**Department of Food Engineering**  
**Laboratory for Cereal Chemistry and Technology**

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

### **THE EFFECT OF MILLET, CAROB AND SOURDOUGH ADDITION ON STALING OF GLUTEN-FREE FLAT BREAD**

**Matea Gačić, 0058215313**

**Abstract:** Millet and carob are natural raw materials that can improve the nutritional value and technological properties of gluten-free bread. Acidic fermentation of the mixture of carob flour, millet flour and millet bran can additionally improve the shelf life of gluten-free bread. The aim of this thesis was to examine the influence of the addition of a mixture of carob and millet and the effect of acid fermentation of the same mixture on the quality of gluten-free flat bread. Quality was determined by measuring the physical properties of bread with an emphasis on the texture of the bread during 72 hours. Bread enriched with carob and millet and sourdough bread showed a decrease of bread crumb hardness and chewiness in comparison to the control bread. Cohesiveness and elasticity of the bread crumb decreased over time for all samples. The addition of sourdough to gluten-free bread causes less pronounced changes in texture parameters over time compared to other samples.

**Keywords:** sourdough, gluten-free bread, staling, carob, proso millet

**Thesis contains:** 27 pages, 7 figures, 5 tables, 46 references, 0 supplements

**Original in:** Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** PhD., Bojana Voučko, Assistant professor

**Thesis defended:** September 14, 2023

## SADRŽAJ

1.	UVOD .....	1
2.	TEORIJSKI DIO.....	2
2.1.	BEZGLUTENSKA PREHRANA.....	2
2.2.	BEZGLUTENSKI KRUH .....	2
2.3.	PROSO I MEKINJE PROSA .....	4
2.4.	ROGAČ I BRAŠNO ROGAČA.....	5
2.5.	KISELO TIJESTO I UTJECAJ NA BEZGLUTENSKI KRUH .....	5
3.	EKSPERIMENTALNI DIO.....	9
3.1.	MATERIJALI .....	9
3.1.1.	Sirovine i mikroorganizmi .....	9
3.1.2.	Oprema i pribor.....	9
3.2.	METODE .....	10
3.2.1.	Priprema kiselog tijesta.....	10
3.2.2.	Priprema kukuruznog tijesta .....	10
3.2.3.	Izrada kruha .....	10
3.2.4.	Mjerenje mase i gubitka vode .....	12
3.2.5.	Mjerenje volumena i specifičnog volumena .....	12
3.2.6.	Mjerenje boje .....	12
3.2.7.	Mjerenje teksture i određivanje starosti.....	13
3.2.8.	Skeniranje uzorka.....	14
3.2.9.	Obrada podataka .....	14
4.	REZULTATI I RASPRAVA .....	15
4.1.	GUBITAK VODE .....	15
4.2.	SPECIFIČNI VOLUMEN I PROMJER KRUHA .....	15
4.3.	BOJA KRUHA.....	16
4.4.	TEKSTURA I STARENJE BEZGLUTENSKOG KRUHA .....	19
5.	ZAKLJUČCI.....	25
6.	POPIS LITERATURE .....	26

## **1. UVOD**

Tradicionalna proizvodnja pšeničnog kruha postavila je visoke standarde i očekivanja, a zadovoljavajući izgled, porozna i spužvasta struktura velikim su dijelom rezultat utjecaja kojeg gluten ima na strukturu kruha. Iako je gluten ključna komponenta mnogih namirnica i većina ljudi ga dobro podnosi, može izazvati zdravstvene probleme kod osoba koji pate od poremećaja vezanih s glutenom.

Kako raste broj ljudi koji zbog celijakije i srodnih poremećaja, čiji se simptomi vežu uz gluten i pšenicu, prakticiraju bezglutensku prehranu, tako raste i potreba za razvojem proizvodnje bezglutenskog kruha. No, ovaj proizvod je poznato okarakteriziran nezadovoljavajućim senzorskim svojstvima i teksturom te kratkim rokom valjanosti, a kako bi se nadomjestili njegovi nedostatci, često se u njihovoj proizvodnji koriste dodaci poput škroba i hidrokoloida. Osim što ne doprinose nutritivnoj vrijednosti proizvoda, u prevelikim količinama mogu uzorkovati probleme kod osjetljivih pojedinaca.

Zahtjevi za alternativnim prirodnim sastojcima te visokovrijednim i kvalitetnim proizvodima usmjerili su istraživanja prema korištenju kiselog tijesta pripremljenog od brašna koje nije pšenično, u svrhu poboljšanja tehnoloških i senzorskih svojstava.

Rogač je mahunarka sa širokom primjenom u prehrambenoj industriji kao aroma, zaslađivač, uguščivač i stabilizator. Brašno rogača sadrži visok udio šećera, umjeren udio proteina, mali udio masti te značajan udio prehrambenih vlakana i polifenola koji djeluju antioksidativno. Proso je jedna od najstarijih skupina žitarica malog zrna koja je bogat izvor proteina, vitamina B, minerala i vlakana, a mekinje prosa su nusproizvod dekortacije zrna prosa i predstavljaju jeftinu sirovину bogatu prehrambenim vlaknima i fenolnih spojeva. Proso ponovno nalazi svoje mjesto na tržištu i zbog njegove velike otpornosti na sušu, te u vrijeme klimatskih promjena, postaje sirovina od interesa. Dodatak rogača, prosa te kiselog tijesta načinjenog od njihovih brašna, predstavljaju prirodnu alternativu aditivima u bezglutenskom kruhu i zahvaljujući njihovom bogatom kemijskom sastavu, mogu se koristiti za obogaćivanje nutritivne vrijednosti kruha, smanjenje glikemijskog indeksa i poboljšanje tehnoloških svojstava bezglutenskih proizvoda.

Cilj ovog rada bio je pojedinačno ispitati utjecaj dodatka smjese brašna rogača, prosa i prosenih posija te utjecaj kiseljenja iste smjese na kvalitetu kruha, mjerenjem fizikalnih svojstava kruha s naglaskom na teksturalna svojstva kruha tijekom 72 sata.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. BEZGLUTENSKA PREHRANA**

Gluten je bjelančevina koja se prirodno nalazi u pšenici, raži i ječmu, a u zobi pronalazimo slične bjelančevine koje zbog sličnosti sve nazivamo glutenom te u nekih ljudi mogu uzrokovati niz različitih poremećaja (Pozderac i Sinčić, 2019).

Jedini učinkoviti način na koji osobe koje pate od poremećaja vezanih uz gluten (celijakija, glutenska atakcija, hipertiformni dermatitis, alergija na pšenicu, necelijakična osjetljivost na gluten/pšenicu), mogu djelovati na umirivanje simptoma poremećaja je stroga i bezglutenska prehrana (Panjkota Krbavčić, 2008). Ukoliko je bezglutenska prehrana pravilno provođena, dolazi do oporavka sluznice tankog crijeva i ublažavanje simptoma bolesti (Pozderac i Sinčić, 2019). Pravilno provođenje spomenute dijete podrazumijeva izbacivanje svih namirnica koje sadržavaju pšenicu, ječam, raž, zob te njihove derivate iz prehrane, obzirom da svi navedeni sastojci uzrokuju nepoželjne reakcije i simptome celijakije. Osim hrane koja prirodno ne sadrže gluten, na tržištu se za one oboljele od intolerancije na gluten nalazi i ponuda bezglutenskih proizvoda poput bezglutenskog kruha, tjestenine te keksa. Obzirom da se celijakija manifestira poremećajem apsorpcije nutrijenata, oboljele osobe su često u deficitu folne kiseline, minerala kalcija i magnezija te vitamina K i B12 (Panjkota Krbavčić, 2008), te im je često potreban nadomjestak mikronutrijenata.

### **2.2. BEZGLUTENSKI KRUH**

Gluten je protein koji je zaslužan za strukturu i elastičnost kruha, a prirodno je prisutan u pšenici, raži i ječmu. Odgovoran je za ujednačenost i visko-elastična svojstva tijesta zbog kojih je moguća retencija plina stvorenog tijekom fermentacije te stvaranje stabilne elastične i spužvaste, porozne strukture kruha poslije pečenja (Wang i sur., 2017; Belitz i sur., 2009). Kada se komponenta glutena ukloni, postizanje iste teksture koju potrošači očekuju predstavlja izazov industriji. Bezglutenski su kruhovi često suhi, mrve se te imaju gustu teksturu koja može biti nezadovoljavajuća potrošačima. Bezglutenski proizvodi se najčešće proizvode na bazi rižinog i kukuruznog brašna, neutralnog okusa i boje, no relativno siromašne prehrambene vrijednosti u usporedbi s tradicionalnim pšeničnim kruhom. Korištenje integralnih brašna povećava se nutritivna vrijednost kruha, no aktivni enzimi poput lipaze i lipoksiogenaze koje integralno rižino brašno sadrži bi mogli dovesti do kraće trajnosti takvih proizvoda te postoji mogućnost stvaranja užeglog i gorkog okusa brašna (Rosell i Gómez, 2014).

Uzimajući u obzir da brašna kukuruza i riže, koja se koriste u proizvodnji bezglutenskih kruhova, nemaju značajnu sposobnost stvaranja potrebne, snažne strukture kruha, recepture za pripremu bezglutenskog kruha sastoje se od velikog broja sastojaka od kojih značajan broj služi kako bi se nadomjestile uloge koje gluten ima u klasičnom pšeničnom kruhu. Između ostalog, dodaju se različiti hidrokoloidi i proteini kako bi se osigurala potrebna visko-elastična svojstva za zadržavanje plina i strukture, vezanje vode i razvoj volumena (Capriles i Arêas, 2014; Zannini i sur., 2012). Hidrokoloidi su najupotrebljenija vrsta aditiva u proizvodnji bezglutenskog kruha. Imaju široku primjenu zbog svoje sposobnosti vezanja vode u tijestu koja dovodi do stvaranja gel strukture koja u nekoj mjeri oponaša viskoelastična svojstva glutena. Dolazi do stvaranja strukture koja je nalik mreži i uzrokuje povećanje viskoznosti tijesta te retenciju ugljikovog dioksida tijekom perioda fermentacije (Ramos i sur., 2021).

Škrob često ima značajnu ulogu prilikom stvaranja strukturalnih i teksturalnih karakteristika kruha, vezanja vode i osiguravanja strukture koja zadržava plin (Witzak i sur., 2016). Ne postoji sastojak koji u potpunosti može zamijeniti ulogu glutena, stoga su recepture za bezglutenski kruh često kompleksne, te u konačnici, sirovine korištene u proizvodnji diktiraju finalnu kvalitetu, teksturu i senzorska svojstva bezglutenskog kruha (Matos i Rosell, 2015).

Izazovi u proizvodnji bezglutenskog kruha s kojima se prehrambena industrija susreće uključuju teksturu, okus, trajnost proizvoda, trošak proizvodnje, unakrsnu kontaminaciju, kompleksne recepture te relativno nisku nutritivnu vrijednost.

Nedostatci u teksturi i okusu proizlaze iz odsutnosti porozne, spužvaste teksture koja je tradicionalno vezana uz teksturu kruha, već je proizvod relativno suh, gust i lako se mrvi. Također, gluten doprinosi i okusnom profilu kruha te su nedostatkom glutena odsutne klasične arome koje je teško ostvariti bezglutenskim sastojcima (Wang i sur., 2017; Zannini i sur., 2012). Izostanak glutena podrazumijeva i izostanak određenih viskoelastičnih svojstava koje glutenskom kruhu osiguravaju veći volumen (Hager i sur., 2012). A zbog značajne količine škroba i vlakana koja se često dodaju u recepture, potrebna je veća količina vode kako bi se postigla potrebna viskoznost tijesta, želatinizacija škroba te denaturacija proteina u fazi pečenja (Capriles i Arêas, 2014).

Dijelom i zbog povećanog udjela vlage, bezglutenski kruh u pravilu ima kraći rok trajanja od tradicionalnog pšeničnog kruha. Trajinost kruha uvjetovana je mikrobiološkim kvarenjem i gubitkom vlage (Capriles i Arêas, 2014). Starenje je posljedica migracije vode iz unutrašnjosti na površinu kruha i gubitak vode iz proizvoda, a ona je u odsutnosti strukture koju pruža gluten, brža i lakša (Moore i sur., 2004). Gubitak vode dovodi do ubrzanih sušenja i nastajanja

karakteristika ustajalog kruha.

Bezglutenski kruh najčešće ima nisku nutritivnu vrijednost jer u sebi ima znatne količine brzo probavljivih ugljikohidrata i masti te nedostatne količine dijetalnih vlakana, bioaktivnih spojeva i mikronutrijenata. S obzirom na potrebu za obogaćivanjem bezglutenskih proizvoda i želje potrošača za korištenjem prirodnih sastojaka u prehrambenim navikama, konstantno se istražuju i razvijaju proizvodi obogaćeni prirodnim sastojcima (Bender i Schonlechner, 2020).

### 2.3. PROSO I MEKINJE PROSA

Proso je jedna od najstarijih skupina kultiviranih žitarica poput običnog prosa (lat. *Panicum miliaceum*), talijanskog prosa (lat. *Setaria italica*), bisernog prosa (lat. *Pennisetum glaucum*) i prstastog prosa (lat. *Eleusine coracana*). Ne pripadaju istoj vrsti, ni rodu, ali ih povezuje izuzetno mala veličina zrna (Taylor i Emmambux, 2008). Za prehranu se najviše koristi u zemljama Afrike i Azije, no stječe popularnost i u Europi te SAD-u. Otporna je žitarica, može podnijeti niske i visoke temperature, rasti na područjima visoke nadmorske visine i nisu joj potrebne velike količine vode za rast (Baltensperger i Cai, 2004). Proso ima visoku nutritivnu vrijednost, bogat je izvor proteina, B vitamina, prehrambenih vlakana, željeza, cinka, kalcija, fosfora i kalija te drugih nutrijenata. Ima brojne pozitivne učinke na ljudsko zdravlje, a između ostalog djeluje i na smanjenje razine glukoze u krvi, prevenciju dijabetesa te smanjenje kolesterola (Saleh i sur., 2013).

Istraživanje i senzorska analiza koju provodi Voučko (2018.) pokazali su da receptura za obogaćeni bezglutenski kruh s 13 % bućine pogače i 50 % prosenog brašna pokazuje poželjne senzorske karakteristike, ima niži glikemijski indeks te je proizvod nutritivno bogatiji od bezglutenskog kruha dostupnog na tržištu. Analizom je utvrđeno da takav proizvod sadrži 77 % više proteina, 62 % više pepela i 41 % manje ugljikohidrata te bolju teksturu od bezglutenskog kruha dostupnog u to vrijeme na tržištu.

Ipak se proseno brašno ne smatra idealnim brašnom za pečenje bezglutenskih proizvoda jer je kruh od prosenog brašna u pravilu manjeg specifičnog volumena te je okarakteriziran većom čvrstoćom i nižom relativnom elastičnosti sredine kruha zbog čega ga se u praksi miješa s drugim brašnima za proizvodnju dizanog bezglutenskog kruha. Također, postoji mogućnost da zbog visokog udjela pepela koje proseno brašno sadrži, dođe do stvaranja zrnate teksture kruha koja negativno utječe na prihvatljivost potrošača (Bender i sur., 2018).

Mekinje prosa su nusproizvod dekortikacije zrna prosa koje se mogu iskoristiti u prehrambenoj industriji u svrhu obogaćivanja bezglutenskog kruha dijetalnim vlaknima i fenolnim

spojevima. Dodatak vlakana može sniziti glikemijski odgovor bezglutenskog kruha, što je poželjno, obzirom da značajan postotak oboljelih od šećerne bolesti istovremeno bolju i od celjakije. Dodatak prosenih mekinja pozitivno djeluje i na volumen bezglutenskog kruha te mekoću sredine kruha (Čukelj Mustač i sur., 2020; Capriles i Arêas, 2014).

## **2.4. ROGAČ I BRAŠNO ROGAČA**

Rogač (lat. *Ceratonia siliqua L.*) je biljka koja se uzgaja u većini mediteranskih zemalja, umjerenih i suhih područja. Svjetska proizvodnja rogača procjenjena je na 160,000 tona 2016. godine sa Španjolskom kao glavnim proizvođačem (Papaefstarhiou i sur., 2018; Goulas i sur., 2016). Jedna od sirovina koja se proizvodi od rogača je brašno rogača te predstavlja bogat izvor vitamina E, D i C, niacina, B6 te folne kiseline, također, sadrži i značajnu količinu šećera, proteina, polifenola, minerala Ca, K, Mg, P i Na, vlakana te manju količinu masnoća i alkaloida (Papaefstarhiou i sur., 2018).

Istraživanja su pokazala da rogač i proizvodi od rogača imaju pozitivan učinak na ljudsko zdravlje i prevenciju nekih kroničnih bolesti. Posebno se ističe njegova aktivnost protiv kancerogenih stanica u tijelu te antidiabetički učinak koji ima zbog visokih koncentracija antioksidansa, polifenola i vlakana koje sadrži te se preporuča u prehrani dijabetičara (Papaefstarhiou i sur., 2018; Theophilou i sur., 2017). Brašno sjemenki rogača u prehrambenoj industriji posebice se koristi za proizvodnju dijetetskih i bezglutenskih proizvoda, no služi i kao zamjena za kakao i kavu te u različitim napitcima. Preporuka je dnevno konzumirati rogač zbog visokovrijednih nutrijenata koje sadrži, niske koncentracije masnoća te slatkog okusa koji ga karakterizira. Rogač predstavlja prirodni sastojak koji može služiti u razvoju funkcionalne hrane (Papaefstarhiou i sur., 2018; Tsatsaragkou i Gounaropoulos, 2014).

## **2.5. KISELO TIJESTO I UTJECAJ NA BEZGLUTENSKI KRUH**

U prošlom desetljeću su se za razvoj bezglutenskih proizvoda koristili sastojci poput hidrokoloida, škroba i mlijecnih proizvoda kako bi se nadomjestila uloga glutena u proizvodima. U novije vrijeme je glavni naglasak stavljen na korištenje inovativnih, a tako i tradicionalnih pristupa obradi hrane, poput enzimatske obrade, obrade visokim hidrostatskim tlakom, tehnologiji kiselog tijesta i tehnologiji ekstruzije. Navedeni pristupi obradi omogućuju djelomičnu imitaciju viskoelastičnih svojstava koja karakteriziraju pšenična tijesta te istovremeno poboljšanje svojstva rukovanja s bezglutenским tjestom (Deora i sur., 2014).

Kiselo tijesto je smjesa vode i brašna koja je fermentirana uslijed aktivnosti mikroorganizama te se može smatrati kao poseban ekosustav bakterija mlijecne kiseline i kvasaca u matriksu od

brašna i vode (Ramos i sur., 2021). Bakterije mlijecne kiseline odgovorne su za kiseljenje tijesta te odvijanje kemijskih, metaboličkih i enzimatskih modifikacija, a najbitnija uloga kvasaca je proizvodnja ugljikovog dioksida, uz to pridonose i sintezi određenih metabolita poput alkohola i estera te specifične arome i okusa fermentiranog proizvoda (Ramos i sur., 2021; De Vuyst i sur., 2016).

Korištenje kiselog tijesta ima mnoge prednosti u proizvodnji pekarskih proizvoda, djeluje poželjno na organoleptička svojstva – okus, aromu i teksturu kruha. Kiselo tijesto u kruhu povoljno djeluje na produljenje tranosti proizvoda te povećava nutritivnu vrijednost kruha, omogućava sintezu funkcionalnih molekula koje djeluju kao prebiotici, antioksidansi i antifungici (Ramos i sur., 2021). Također, može povoljno djelovati na povećanje volumena kruha te njegove poroznosti, manju tvrdoću i tamniju boju kruha (Cappa i sur., 2016; Torrieri i sur., 2014; Corsetti i sur., 2008; Di Cagno i sur., 2008)

Fermentacija tijesta se može odviti spontano djelovanjem bakterija mlijecne kiseline i kvasaca koji su prirodno prisutni u žitaricama, no može se provesti i dodatkom izabralih bakterija i kvasaca. Obzirom da komercijalno dostupne starter kulture u pravilu nisu kompatibilne za kisela tijesta priređena od brašna žitarica koje ne sadrže gluten, bitno je odabrati kulture bakterija i kvasaca koji će poželjno djelovati na svojstva kiselog tijesta i finalnog proizvoda (Bender i sur., 2017). Tehnološki faktori koji utječu na razvoj kiselog tijesta i proizvoda koji ga sadrže su od iznimne važnosti i treba ih kontrolirati ukoliko je to moguće. Tehnološki faktori koji se u pravilu ne mogu kontrolirati su biokemijski sastavi sirovina te mikrobiota prisutna tijekom proizvodnog procesa (Ramos i sur., 2021). S druge strane, faktori koji se mogu kontrolirati su tip kiselog tijesta, temperatura fermentacije i prinos tijesta te ostali faktori poput pH kiselog tijesta, eventualni dodatni izvori nutrijenata koji intrinzično utječu na razvoj mikroorganizama, sadržaj minerala i mikronutrijenata iz mekinja u brašnu, količina dodane soli u zamjes, redoks potencijal koji ovisi o količini dostupnog kisika te vrijeme i temperatura odmaranja tijesta (Ramos i sur., 2021).

Temperatura pri kojoj se provodi kiseljenje tijesta čini veliku razliku među tipovima kiselih tijesta, no i stvara razliku unutar tipova. Tijesta kiseljena pri 20 °C imat će značajno različit mikrobiološki sastav od tijesta istog sastava kiseljenog pri 35 °C, a naposlijetku će i sami geografski i klimatski uvjeti utjecati na odabir konačne mikrobiote. Niže temperature djelovat će u korist razvoju mezofilnih bakterija, dok će više temperature favorizirati termofilne bakterije poput *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactobacillus casei* te *Lactobacillus reuteri* (Zheng i sur., 2020).

Prinos tijesta se odnosi na omjer vode i brašna koje se nalazi u kiselom tjestu i utječe na aktivnost mikroorganizama, odnosno na omjere octene i mlijecne kiseline te na brzinu kiseljenja. Velik prinos tijesta dovodi do veće hidratacije tijesta i bržeg procesa acidifikacije. Mali prinos stvara čvrsta tijesta čiji je sastav bogatiji octenom kiselinom i siromašniji mlijecnom kiselinom (Chavan, 2011). Octena i mlijecna kiselina se proizvode uslijed metaboličke aktivnosti bakterija mlijecne kiseline, a nastale kiseline uzrokuju smanjenje pH vrijednosti u područje oko 4, pri čemu dolazi do pojačane enzimatske aktivnosti (De Vuyst i sur., 2009). Prirodno prisutni enzimi koji u tom području pH postaju aktivniji su amilaza, hemicelulaza te proteaza. Kiseline nastale tijekom mikrobiološke aktivnost i spojevi nastali djelovanjem enzimatske aktivnosti kolektivno utječu na karakteristike finalnog proizvoda (Gobbetti i sur., 2014). Uslijed mikrobiološke i enzimatske aktivnosti može doći do smanjenja glikemijskog indeksa i probavljivosti škroba, povećanja topljivosti vlakana, iskoristivosti mineralnih tvari, dostupnosti antioksidanasa, fenolnih spojeva, vitamina i sterola (Gobbetti i sur., 2014; Coda i sur., 2012; Poutanen i sur., 2009; Di Cagno i sur., 2008). Zakiseljavanje tijesta te enzimi čija se aktivnost poveća u procesu kiseljenja su zaslužni i za sposobnost kiselog tijesta da uspori starenje kruha. Može povoljno djelovati i na usporavanje mikrobnog kvarenja kruha, što uz usporavanje starenja, produljuje trajnost proizvoda (Corsetti i sur., 2008). Tijekom fermentacije kiselog tijesta dolazi i do raspada glutena što je praktično u slučaju kontaminacije glutenom (Di Cagno i sur., 2008).

Za prednosti koje kiselo tijesto ima na tehnički aspekt proizvodnje zaslužne su bakterije mlijecne kiseline koje imaju sposobnost sinteze raznolike grupe dugolančanih ugljikovodičnih spojeva, egzopolisaharida. Ova grupa molekula može poboljšati tehnološka svojstva kiselog tijesta i zamijeniti potrebu za dodatkom hidrokoloida.

Pri izboru kulture za razvoj kiselog tijesta važno je odabrati sojeve bakterija koje su već prisutne unutar izvorne mikrobiote te se mogu brzo prilagoditi sustavu, omogućuju brzo zakiseljavanje tijesta i sveukupno imaju pozitivan učinak i na tehnološki i na prehrambeni aspekt proizvoda. Uporaba starter kultura korisna je za kontroliranje skupine mikroorganizama čiji razvoj u kiselom tjestu želimo potaknuti, zato je za starter kulturu dobro izabrati soj koji je prisutan u endogenoj mikrobioti bezglutenског kiselog tijesta i ima sposobnost sinteze egzopolisaharida.

U pregledu dotadašnjih radova, Ramos i suradnici (2021) ilustriraju učestalost izoliranih vrsta bakterija mlijecne kiseline u različitim kiselim tjestima te ukazuju kako bakterije *Limosibacillus fermentum* valja posebno razmotriti u biotehnologiji kiselog tijesta obzirom da

je ovaj mikroorganizam uspješno izoliran iz gotovo svih analiziranih bezglutenskih kiselih tjesteta. Također, zaključuju da je u svakom analiziranom kiselim tjestetu bio prisutan bar jedan soj bakterija roda *Lactobacillus* koji proizvodi egzopolisaharide te se korištenjem fermentacije može izbjegći uporaba aditiva koji su skupi, mogu negativno utjecati na organoleptička svojstva proizvoda te mogu izazvati negativnu reakciju potrošača.

U istraživanju Bender i suradnici (2018) su usporedili su utjecaje starter kultura koje sadrže bakterije soja *Lactobacillus* spp. i komercijalno dostupne standardne starter kulture u prosenom i heljdinom bezglutenском kruhu. Različiti sojevi *Lactobacillusa* pokazali su značajno različite utjecaje na čvrstoću sredine kruha i specifični volumen bezglutenskih kruhova s kiselim tjestetom. Većina testiranih sojeva su poboljšala specifični volumen prosenog kruha u usporedbi s komercijalnim starterom, uključujući i *Lactobacillus fermentum*, koji je pozitivno djelovao i na specifični volumen heljдиног kruha. Razlike u pH i TTA (engl. *Total Titratable Acidity*) vrijednostima među sojevima se pripisuju različitim metabolizmima i brzinama kiseljenja tjesteta, vrstama i omjeru kiselina te kapacitetu korištenog brašna da djeluje kao pufer.

I sama tehnologija kiselog tjesteta je dovoljna da obogati i poboljša kvalitetu bezgluteneskog kruha ukoliko se upotrijebi optimalni soj bakterija mliječne kiseline. Tako proizveden kruh može zadovoljiti zahtjeve kupaca za prirodnim proizvodima i smanjenom uporabom aditiva u hrani (Bender i sur., 2018).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1. MATERIJALI**

##### **3.1.1. Sirovine i mikroorganizmi**

U pripremi zamjesa za bezglutenski kruh korišteno je kukuruzno brašno bijelo (OPG Danijel Sinković, Hrvatska), rižino brašno integralno (Nutrigold, Bugarska), prosene mekinje (Mlinopek d.d., Slovenija), proseno brašno (BEZGLUTEN Sp. z o.o., Poljska), mljeveni rogač (Šafram d.o.o., Hrvatska) di-go instant suhi pekarski kvasac (Istanbul Ozmaya Mayacilik Ltd S., Turska), vodovodna voda, kuhinjska sol (Solana Pag d.d., Hrvatska), konzumni šećer (Viro tvornica šećera d.d., Hrvatska), suncokretovo ulje (ZVIJEZDA plus d.o.o., Hrvatska) i soda bikarbona (FRANCK d.d., Hrvatska).

Kiselo tijesto pripremano je koristeći bakterije mliječne kiseline *Limosilactobacillus fermentum*, kvasac *Kluyveromyces marxianus* i sterilnu vodovodnu vodu.

Metalni kalupi korišteni za pečenje kruha su prije punjenja smjesom špricani sredstvom za mazanje pekarskih kalupa Trennaktiv PR 100 (DÜBÖR Groneweg GmbH, Njemačka).

##### **3.1.2. Oprema i pribor**

- Plastična špatula
- Plastične posude
- Plastične žlice
- Graduirane menzure od 50, 100, 250 i 1000 mL
- Laboratorijska čaša od 250 mL
- Stakleni štapić
- Staklenke za kiseljenje tjesteta
- Stolni mikser ProfiMixx 44 (Robert Bosch GmbH, Njemačka)
- Precizna vaga 0,01g PLB 2000-2 (KERN & Sohn GmbH, Njemačka)
- Kuhalo za vodu
- Klima komora HPP110 (Memmert GmbH, Njemačka)
- Kolorimetar CM-700d colorimeter (Konica Minolta Business Solutions Europe GmbH)
- Okrugli metalni kalupi za kruh promjera 15 cm
- Fermentacijska komora Typ: GS1 ED60/40 0600\_A-BJDBA (WIESHEU Wolfen GmbH, Njemačka)
- Pećnica Ref.: AFMO04707516 (Ramalhos S.A., Portugal)

- Metalni perforirani pladnjevi
- Plastika PA 15 µ / PE 75 µ (Neutro)
- Stroj za vakuum pakiranje Medium, Economy series (Lavezzini, Italija)
- Optički čitač CanoScan LiDE 220 (Canon, Japan)
- Teksturometar TA1 Texture Analyser (Lloyd Instruments Ltd., Ametek Inc., UK)

### **3.2. METODE**

#### **3.2.1. Priprema kiselog tijesta**

Kiselo tijesto pripremano je dan prije pripreme zamjesa kruha. Načinjeno je od smjese brašna koja se sastojala od prosenih posija (52,5 %), prosenog brašna (21,7 %) i mljevenog rogača (25,8 %) te dodatkom starter kulture bakterija mliječne kiseline *Limosilactobacillus fermentum* u količini  $10^7$  CFU po gramu kiselog tijesta i kvasca *Kluyveromyces marxianus* u količini  $10^5$  CFU po gramu kiselog tijesta; pri čemu je prinos tijesta iznosio 400 g (1:3). Kiseljenje se odvijalo u klima komori pri  $35^{\circ}\text{C}$  tijekom 6 sati ( $\text{pH} = 4,1$ ), nakon čega je kiselo tijesto čuvano u frižideru na  $4\text{-}8^{\circ}\text{C}$  tijekom noći.

#### **3.2.2. Priprema kukuruznog tijesta**

Dan prije pripreme zamjesa i pečenja pripremano je kukuruzno tijesto na način da je potrebna količina bijelog kukuruznog brašna prelivena zavrelom vodom u količini 110 % mase brašna. Pri tome je smjesa miješana u stolnom mikseru 3 minute, stavljena na hlađenje na sobnu temperaturu 10 minuta pri čemu temperatura sredine tijesta pada na  $<42^{\circ}\text{C}$ , te je tijesto spremljeno u foliji u frižideru na 4 do  $8^{\circ}\text{C}$  do pečenja idući dan.

#### **3.2.3. Izrada kruha**

Prilikom izrade kruha korištene su tri recepture (Tablica 1), kontrolna receptura označena oznakom MG\_0 od brašna sadržavala je samo kukurzno i rižino brašno kao osnovne sastojke. Receptura MG\_S sastojala se od kontrolne recepture uz zamjenu 10 % brašna sa dodatkom smjese za kiselo tijesto koju čine 52,5 % prosenih posija, 21,7 % prosenog brašna i 25,8 % mljevenog rogača, a MG\_KT sastojala se od kontrolne recepture uz zamjenu 10 % brašna sa smjesom za kiselo tijesto koje je prethodno fermentirano prema protokolu opisanom u odlomku 3.2.1.

**Tablica 1.** Recepture za proizvodnju bezglutenskih kruhova (% na masu brašna)

Sirovina	MG_0	MG_S	MG_KT
Kukuruzno tijesto (od čega kukuruzno brašno)	105 (50)	99,5 (45)	99,5 (45)
Rižino brašno	50	45	45
Prosene posije	-	5,25	5,25
Proseno brašno	-	2,17	2,17
Mljeveni rogač	-	2,58	2,58
Voda	110	110	110
Soda bikarbona	0,66	0,66	0,66
Sol	1,5	1,5	1,5
Ulje	1	1	1
Kvasac	1,3	1,3	1,3
Šećer	5,1	5,1	5,1

Zamjesi su pripremani prema recepturi navedenoj u Tablici 1, tijekom dvije faze. Prva faza je uključivala 20 minuta miješanja kukuruznog tjesteta, rižinog brašna, i prosenih posija, prosenog brašna i mljevenog rogača ili kiselog tjesteta uz postepeno dodavanje ledene vode, stolnim mikserom na brzini 3. Za vrijeme prve faze miješanja, kvasac je predfermentiran s 30 ml tople vode i 0,1 % šećera u fermentacijskoj komori 10 minuta na 35 °C i 85 % RH. Predfermentirani kvasac je dodan u zamjes u drugih 10 minuta prve faze miješanja. Drugih 20 minuta činilo je drugu fazu miješanja zamjesa stolnim mikserom na brzini 3 uz dodatak preostalih sastojaka iz recepture (Tablica 1). Sol je dodana u zamjes 2 minute prije kraja druge faze miješanja. Po završetku miješanja, po tri prethodno nauljena kalupa punjena su sa 120 g smjese svaki te su stavljena na fermentaciju u fermentacijsku komoru. Krušna fermentacija odvijala se u fermentacijskoj komori na 35 °C i 85 % RH, pri čemu je vrijeme fermentacije za zamjese koji ne sadrže kiselo tijesto – MG\_0 i MG\_S (Tablica 1) trajalo 60 minuta a fermentacija zamjesa s kiselim tjestom – MG\_KT (Tablica 1) 30 minuta.

Pečenje je provođeno nakon fermentacije, u pećnici s gornjim i donjim grijačem zagrijanim na 280 °C u dvije faze. Prva faza u trajanju od 3,5 minute nakon čega je kruh izvađen iz pećnice, okrenut te vraćen u kalup i pećnicu na drugu fazu pečenja u trajanju od 2,5 minute. Završetkom pečenja kruh je izvađen iz kalupa te postavljen na metalne perforirane pladnjeve na hlađenje

od 60 minuta pri sobnoj temperaturi, nakon čega je spremlijen u plastične vrećice te u klima komoru na 23 °C i 30 % RH. Kruhovi su spremani u plastične vrećice dimenzija 50 cm x 30 cm koje su pripremane od PA/PE plastike pomoću stroja za vakuum pakiranje kojime su zapečaćene 3 strane plastične vrećice.

### 3.2.4. Mjerenje mase i gubitka vode

Masa bezglutenskog kruha mjerena je 1 sat nakon pečenja kruha, po završetku hlađenja kruha pri sobnoj temperaturi.

Gubitak vode izračunat je kao omjer razlike mase prije i nakon pečenja te mase smjese, pomnožen sa 100 i izražen kao postotak prema formuli:  $GV = \frac{m(\text{smjese}) - m(\text{kruha})}{m(\text{smjese})} \times 100$ .

### 3.2.5. Mjerenje volumena i specifičnog volumena

Mjerenje volumena kruha provedeno je prema standardnoj metodi (AACC 10-05.01, 2000), koristeći uljanu repicu. Prije mjerenja aparatura je baždarena na način da je spremnik sa zatvorenim ispusnim otvorom napunjen uljanom repicom, dok je ispod njega postavljen prihvativni spremnik. Repica se pušta iz gornjeg spremnika u doljnji kroz otvor veličine određene prije mjerenja, repica je pri svakom mjerenu puštana kroz otvor iste veličine kako bi nasipna gustoća tijekom mjerena bila konstantna. Količina repice koja je ispunila prihvativni spremnik se koristila za daljnja mjerenja, dok je ostatak uklonjen iz aparature. Za mjerenje volumena kruha je iz gornjeg spremnika puštena repica volumena koji je jednak volumenu prihvavnog spremnika. Kada repica pokrije dno prihvavnog spremnika, kruh čiji se volumen mjeri je položen u spremnik i ostatak repice u potpunosti ispunii prihvativni spremnik. Repica koja ispadne, odnosno koja više ne stane u spremnik predstavlja volumen kruha koji je zauzeo prostor u prihvavnom spremniku. Repica koja predstavlja višak se vraća u gornji spremnik te se ispušta u menzuru od 1000 mL. Bez pomicanja menzure kako se ne bi narušila nasipna gustoća, volumen se očitava kao srednja vrijednost najviše i najniže točke površine ispuštene repice. Mjerenje je provedeno u dvije paralele za svaki mjereni bezglutenski kruh.

Specifični volumen izračunat je kao omjer volumena i mase bezglutenskog kruha, prema formuli:  $v = \frac{V(\text{kruha})}{m(\text{kruha})}$  i izražen kao  $\text{cm}^3/\text{g}$ .

### 3.2.6. Mjerenje boje

Boja uzorka određena je kolorimetrom. Određivani su parametri  $L$ ,  $a$  i  $b$  za gornju i donju stranu uzorka. To su tri parametra koji se koriste za opisivanje i kvantifikaciju boja na temelju

njihovog vizualnog izgleda i čine dio CIALab prostora boja, modela koji je široko primjenjivan za opisivanje boja prema našem vizualnom dojmu. Parametar L predstavlja svjetlinu ili svjetlost boje i izražava ju kao vrijednost na skali od 0 (crna) do 100 (bijela) pri čemu viša vrijednost označava svjetliju boju, a niža tamnije boju. Parametar a označava položaj boje duž crveno-zelene osi u CIELab prostoru, pozitivne vrijednosti ukazuju na prisutnost crvenih tonova pri čemu veće vrijednosti označavaju jaču prisutnost crvene boje. Negativne vrijednosti a parametra ukazuju na prisutnost zelenih tonova pri čemu niže vrijednosti ukazuju na jaču zelenu boju, a vrijednosti od 0 da je boja neutralna u pogledu crvenih i zelenih tonova. Parametar b predstavlja položaj boje duž žuto-plave osi, pozitivne vrijednosti ukazuju na prisutnost žutih tonova pri čemu veća vrijednost ukazuje na veći intenzitet žute boje, a negativne vrijednosti na prisutnost plavih tonova pri čemu niže vrijednosti označavaju jaču plavu boju, vrijednost 0 predstavlja neutralnost u pogledu žute i plave. Zajedno parametri L, a i b pružaju precizni i standardizirani, trodimenzionalni prikaz boje.

Prije mjerena na uzorcima, kolorimetar je kalibriran s bijelom podlogom na udaljenosti od 1 cm od podloge. Nakon kalibracije je kolorimetar korišten na način da je provedeno po 5 mjerena na svakoj strani kruha, sa 1 cm udaljenosti sonde od površine bezglutenskog kruha.

### 3.2.7. Mjerenje teksture i određivanje starosti

Za analizu teksture kruha provođen je TPA test – Texture Profile Analysis, pomoću teksturometra TA1 Texture Analyser (Lloyd Instruments, UK), a za obradu podataka korišten je računalni program NEXYGEN Plus 3.0. Mjereni parametri su tvrdoća, kohezivnost, žvakljivost i elastičnost sredine bezglutenskog kruha. Okruglim kalupom uzimani su uzorci promjera 3,5 cm te su za svaki uzorak upotrijebljena po dva kružna komada kruha postavljeni jedan na drugi, zatim su zajedno namješteni ispod sonde teksturometra promjera 5,5 cm. Uzorci su pritiskani do 50 % svoje visine brzinom od  $2 \text{ mm s}^{-1}$ . Kompresije su odvijane po dva puta sa vremenskim razmakom od 30 sekundi te je za svaki uzorak provedeno minimalno tri mjerena. U tri ili više mjerena koja su provođena za svako vrijeme nalazili su se uzorci kruhova iz minimalno dva različita zamjesa kako bi rezultati bili točniji s obzirom na razlike među zamjesima.

Starenje kruha određivano je mjeranjem teksture kruha kroz period od 72 sata. Mjerenja su provođena pri 2, 4, 20, 24, 48 i 72 sata od završetka pečenja kruha. U međuvremenu je kruh čuvan u klima komori na  $23^{\circ}\text{C}$  i 30 % RH.

### 3.2.8. Skeniranje uzorka

Gornja i donja površina kruhova su skenirane pomoću optičkog čitača i tamne komore. Dobiveni scanovi obrađeni su u programu ImageJ te su izmjereni promjeri skeniranih kruhova.

### 3.2.9. Obrada podataka

Sva mjerenja provedena su minimalno dva puta, stoga su rezultati prikazani kao srednje vrijednosti  $\pm$  standardna devijacija. Obrada i analiza podataka provedena je u programu Microsoft Office Excel. Za statističku analizu provedeni su testovi ANOVA i Tukey test za identificiranje statistički značajnih razlika u rezultatima.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U svrhu utvrđivanja utjecaja dodatka kiselog tjesteta na starenje bezglutenskog kruha, istražen je pojedinačno utjecaj dodatka brašna rogača i prosa, te utjecaj kisele fermentacije na kvalitetu kruha. Kvaliteta kruha je određena mjerjenjem mase tjesteta i kruha, volumena kruha, boje kruhova, tvrdoće, žvakljivosti, kohezivnosti te elastičnosti kruha kroz vremenski period od 72 sata i izračunom gubitka vode i specifičnog volumena.

### 4.1. GUBITAK VODE

Gubitak vode predstavlja količinu vode koja se gubi tijekom procesa pečenja i hlađenja. Kruh s kiselim tjestetom pokazuje najmanji postotak izgubljene vode što indicira da fermentacija kiselog tjesteta pospješuje retenciju vode unutar same strukture kruha. Kruh osnovne recepture pokazao je nešto veći gubitak vode (Tablica 2) koji doprinosi sušenju kruha.

**Tablica 2.** Gubitak vode bezglutenskog kruha

Uzorak	Gubitak vode (%)
MG_0	22,31 ± 0,95
MG_S	22,14 ± 0,75
MG_KT	20,93 ± 1,24

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerena ± standardna devijacija

### 4.2. SPECIFIČNI VOLUMEN I PROMJER KRUHA

Specifični volumen kruha (Tablica 3), u omjer stavlja volumen i masu kruha. Bezgluteni kruh s kiselim tjestetom pokazuje neznatno manji specifični volumen od kruha sa nekiseljenom smjesom brašna, indicirajući mogućnost da je kruh s kiselim tjestetom okarakteriziran nešto gušćom strukturu. Gušćoj strukturi kruha može pridonijeti proizvodnja organskih kiselina i plinova za vrijeme fermentacije kiselog tjesteta, no gušća struktura u slučaju kruha s kiselim tjestetom ne predstavlja nužno nepoželjnu karakteristiku, obzirom da ova vrsta kruha ima poseban okus i teksturu koju mnogi cijene.

**Tablica 3.** Specifični volumen bezglutenskog kruha

Uzorak	Specifični volumen (cm <sup>3</sup> / g)
MG_0	1,72 ± 0,02
MG_S	2,15 ± 0,02
MG_KT	2,01 ± 0,03

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerena ± standardna devijacija

Obogaćeni bezglutenski kruh i kruh s kiselim tjestom pokazali su veći specifični volumen (Tablica 3) u usporedbi s kruhom osnovne recepture. Dodana smjesa rogača i prosa djeluje kao pojačanje strukturi kruha uslijed svog sastava. Vlakna, škrob i proteini koje sadrže potpomažu strukturi bezglutenskog kruha čime je omogućena bolja zadrška plinova stvorenih za vrijeme fermentacije. Brašno rogača i prosa efektivna su za zadržavanje vode koja za vrijeme fermentacije pomaže zadršku plinova i time voluminoznu sredinu kruha.

Obzirom da vrijeme fermentacije ima velik utjecaj na krajnji volumen kruha, optimalno vrijeme fermentacije zamjesa koji sadrže kiselo tijesto je eksperimentalno određeno probnom izradom tri kruha koji sadrže kiselo tijesto te su fazi fermentacije podvrgnuti u tri različita vremenska intervala od 30, 45 i 60 minuta. Po završetku pečenja i hlađenja, vizualno je procijenjena visina probnih kruhova te je zaključeno da kruh koji je pečen nakon fermentacije od 30 minuta pokazuje poželjnija svojstva, dok su kruhovi na kojima je provedena fermentacija od 45 i 60 minuta potvrdili sumnju da fermentacija duža od 30 minuta čini zamjes sa kiselim tjestom pre fermentiranim te ne postiže zadovoljavajuće dizanje.

**Tablica 4.** Promjer bezglutenskog kruha

Uzorak	Promjer (cm)
MG_0	14,34 ± 0,09
MG_S	14,37 ± 0,07
MG_KT	14,2 ± 0,09

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerena ± standardna devijacija

Promjeri kruha ne razlikuju se značajno među različitim tipovima ispitivanih bezglutenskih kruhova (Tablica 4). Stavljući promjer u korelaciju s volumenom, postojala je razlika u visini kruha napravljenog po osnovnoj recepturi u usporedbi sa ostalim kruhovima. Kruhovi MG\_0 vizualno su procijenjeni kao nešto niži od ostala dva, dok su kruhovi MG\_S i MG\_KT otprilike iste visine i postigli su nešto bolje dizanje, odnosno retenciju plinova od kruhova MG\_0.

### 4.3. BOJA KRUHA

Boja kruha je iznimno važan faktor u izboru potrošača, daje potrošaču informaciju o mogućim poželjnim i nepoželjnim svojstvima proizvoda te ih u konačnici usmjeruje prema kupnji i konzumaciji istoga. Razlike u boji nisu velike (Tablica 5), no mijenjaju se ovisno o recepturi, odnosno sastojcima kruha.

**Tablica 5.** Boja bezglutenskog kruha

Uzorak	L	a	b
gornja ploha			
MG_0	$36,2 \pm 1,31$	$1,18 \pm 0,27$	$0,61 \pm 1,26$
MG_S	$36,75 \pm 0,24$	$1,39 \pm 0,13$	$1,01 \pm 0,31$
MG_KT	$35,85 \pm 0,16$	$0,84 \pm 0,11$	$0,24 \pm 0,17$
donja ploha			
MG_0	$37,21 \pm 0,05$	$1,36 \pm 0,31$	$1,64 \pm 0,18$
MG_S	$36,45 \pm 0,42$	$1,46 \pm 0,42$	$0,76 \pm 0,49$
MG_KT	$35,35 \pm 0,11$	$0,67 \pm 0,02$	$-0,27 \pm 0,13$

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerjenja  $\pm$  standardna devijacija

Parametar L kreće se u sličnim rasponima i za gornje i donje plohe, iako je donja ploha vizualno jače pečena i ima relativno ujednačenu boju. Raspon se kreće od 35,35 do 37,21 za donju plohu, kruh MG\_KT (Slika 3) nosi najmanju vrijednost, a kruh MG\_0 (Slika 1) najvišu, što potvrđuje da je kruh MG\_KT tamniji s donje strane, od MG\_0. Kruh MG\_S (Slika 2) je također tamniji od MG\_0 s donje strane. MG\_0 očekivano je svjetlijie boje zbog izostanka rogača i prosa. S gornje strane, vrijednosti su sličnije, s time da je MG\_KT najtamniji.

Parametar a koji označava položaj boje duž crveno-zelene osi, se kreće od 0,67 (uzorak MG\_KT) do 1,46 (uzorak MG\_S). Sveukupno, intenzitet crvene boje je bio nizak pri čemu su uzorci s kiselim tjestom imali najmanju prisutnost crvene boje, a uzorci obogaćeni rogačem i prosom najveću, s obje strane kruhova.

Vrijednosti parametra b govore o položaju boja duž osi žuto-plave. Vrijednosti se kreću od 0,24 (MG\_KT) i 1,01 (MG\_S) za gornju plohu te -0,27 (MG\_KT) i 1,64 (MG\_0) za donju plohu. Boja kruha sa kiselim tjestom duž osi žuta-plava je poprilično neutralna, sa slabom prisutnosti žute boje s gornje strane kruha i plave boje s donje strane kruha. Kruhovi MG\_S i MG\_0 pokazuju blagu prisutnost žutih tonova, MG\_S nešto više na gornjoj strani, a MG\_0 na donjoj strani kruha.



a)



b)

**Slika 1.** Slika kruha priremljenog prema recepturi MG\_0 (Tablica 1) a) gornja strana b) donja strana kruha



a)



b)

**Slika 2.** Slika kruha priremljenog prema recepturi MG\_S (Tablica 1) a) gornja strana b) donja strana kruha



a)

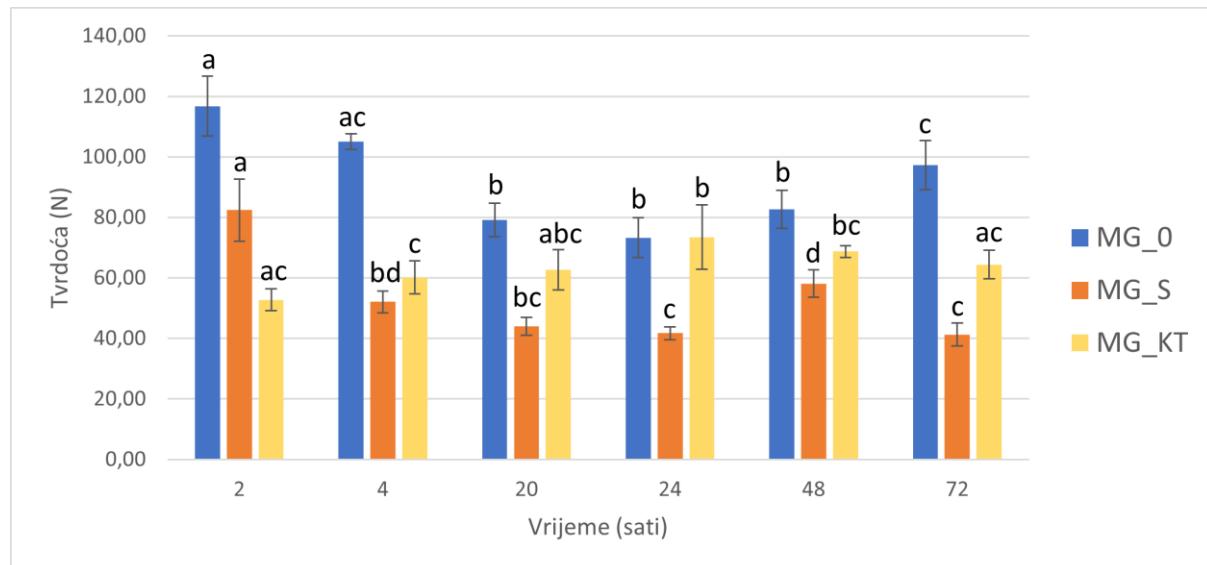


b)

**Slika 3.** Slika kruha priremljenog prema recepturi MG\_KT (Tablica 1) a) gornja strana b) donja strana kruha

#### 4.4. TEKSTURA I STARENJE BEZGLUTENSKOG KRUHA

Starenje bezglutenskog kruha praćeno je mjerenjem teksture kroz 72 sata. Uzimani su uzorci kruha nakon 2, 4, 20, 24, 48 i 72 sata starenja u kontroliranim uvjetima. Parametri teksture koji su praćeni za vrijeme starenja su tvrdoća, kohezivnost, žvakljivost i elastičnost sredine bezglutenskog kruha.

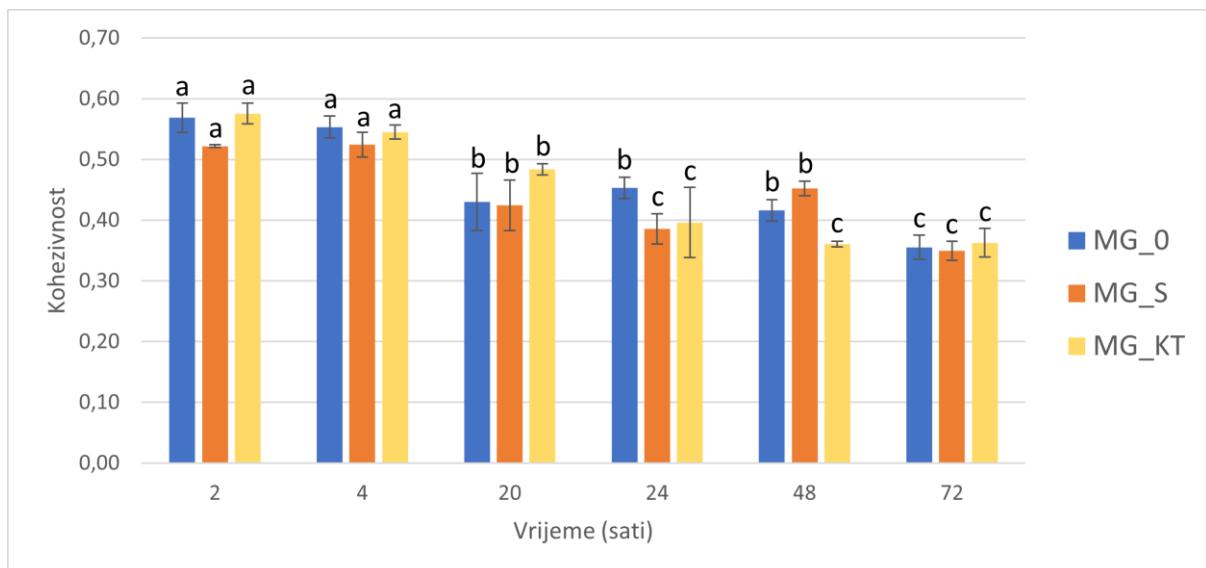


**Slika 4.** Grafički prikaz tvrdoće sredine bezglutenskog kruha kroz 72 sata. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerena  $\pm$  standardna devijacija. Različitim eksponentima (a-d) označeni su uzorci unutar pojedine vrste kruha između kojih postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ).

Bezglutenski kruh osnovne recepture (MG\_0) pokazuje najveću tvrdoću sredine kruha (Slika 4.) u usporedbi sa kruhom obogaćenim rogačem i prosom (MG\_S) te kruhom s kiselim tjestom (MG\_KT). Dodatak smjese brašna rogača i prosa znatno smanjuje tvrdoću kruha, kiseljenje iste smjese i dodatka kruhu u obliku kiselog tijesta, također smanjuje tvrdoću sredine kruha i čini značajnu razliku u usporedbi sa kruhom osnovne recepture.

Kruh MG\_0 pokazuje najveću tvrdoću sredine 2 sata nakon završetka pečenja. Nakon 4 sata, tvrdoća nema statistički značajne razlike od one nakon 2 sata, no nakon 20 sati starenja dolazi do pada tvrdoće kruha uslijed značajnog vremenskog razmaka od zadnjeg mjerjenja. Statistički se tvrdoća MG\_0 kruha u periodu od 20 do 48 sati starenja ne razlikuje, a nakon toga ponovno raste.

Dodatak smjese brašna rogača te prosenih posija čini sredinu kruha mekšom, a moguć uzrok tomu je značajna količina dijetalnih vlakana koju sadrže te djeluje povoljno na mekoću sredine kruha (Capriles i Aréas, 2014). Tvrdoća se smanjuje nakon 2 sata starenja te nastavlja padati do 24 sata nakon početka starenja. Mjerena u tom periodu ne pokazuju statistički značajne razlike. 48 sati od početka starenja tvrdoća poraste, no dan kasnije pokazuje iste vrijednosti kao i nakon 24 sata starenja. Rogač se često koristi zbog svog slatkog okusa i glatke teksture koja može pridonijeti mekšoj sredini kruha, dok proso pridonosi strukturi bezglutenskog kruha. Kiseljenjem smjese rogača i prosa, ne dolazi do inicijalnog pada tvrdoće koju pokazuju MG\_0 i MG\_S u periodu od 2 do 4 sata starenja. Tvrdoća sredine kruha raste bez naglih porasta za vrijeme prva 24 sata starenja, nakon čega postepeno pada. Svako mjerjenje tvrdoće sredine kruha sa kiselim tjestom ne pokazuje statistički značajne razlike od prethodnog mjerjenja, što implicira da se dodatkom kiselog tijesta u recepturu bezglutenskog kruha dobiva stabilnija tvrdoća sredine kruha koja se relativno održava kroz vrijeme, odnosno starenje. Nastaje stabilnija struktura uslijed koje ne dolazi do naglih promjena u tvrdoći.



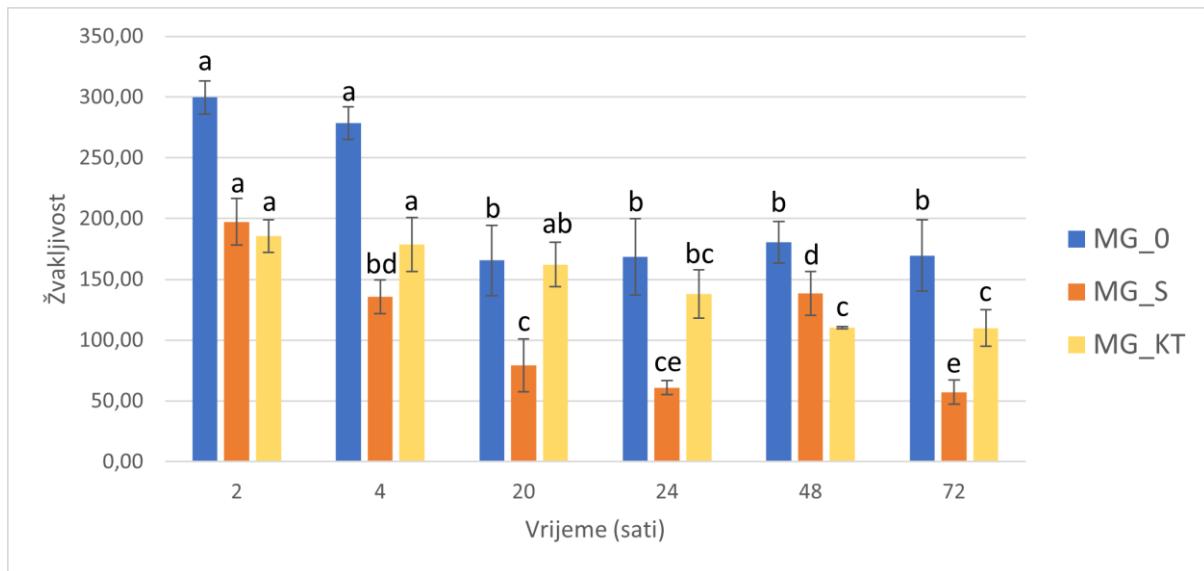
**Slika 5.** Grafički prikaz kohezivnosti sredine bezglutenskog kruha kroz 72 sata. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerena  $\pm$  standardna devijacija. Različitim eksponentima (a-d) označeni su uzorci unutar pojedine vrste kruha između kojih postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ).

Kohezivnost sredine bezglutenskog kruha se za sva tri tipa ispitivanih kruhova slično mijenjala kroz vrijeme (Slika 5.). Generalno se kohezivnost smanjuje kroz vrijeme, sa značajnjom promjenom nakon 20 sati starenja koja je očekivana s obzirom na veći vremenski odmak od mjerena koje se provodi nakon 4 sata starenja. MG\_KT pokazuje nešto stabilniji trend smanjenja vrijednosti dok MG\_S pokazuje manje fluktuacije u prvih 48 sati. Smanjenje kohezivnosti je uočeno tijekom pripreme uzorka za mjerjenje teksture, s vremenom kruhovi postaju sve mrvljiviji i počinju se raspadati.

MG\_0 se nakon inicijalnog smanjenja kohezivnosti pri 20 sati starenja, unatoč manjim promjenama, statistički ne mijenja sve do 48 sati starenja, nakon čega kohezivnost ponovno pada.

Kohezivnost MG\_S se ne mijenja prva 4 sata starenja, potom pada tijekom 24 sata, pokazuje porast kohezivnosti nakon 48 sati pri čemu je ista kao i nakon 20 sati starenja. Nakon porasta, ponovno se smanjuje na vrijednost koja se statistički ne razlikuje od one nakon 24 sata.

Kohezivnost sredine kruha MG\_KT, se kao i u druga dva tipa, ne mijenja prva 4 sata te je na 20 sati starenja zabilježeno smanjenje kohezivnosti. 24 sata od početka starenja dolazi do smanjenja na vrijednost koja se održava kroz ostatak ispitivanog starenja, odnosno, rezultati mjerena nakon 24, 48 i 72 sata su statistički isti i ne dolazi do značajnih promjena u kohezivnosti sredine kruha.



**Slika 6.** Grafički prikaz žvakljivosti sredine bezglutenskog kruha kroz 72 sata. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerena  $\pm$  standardna devijacija. Različitim eksponentima (a-d) označeni su uzorci unutar pojedine vrste kruha između kojih postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ).

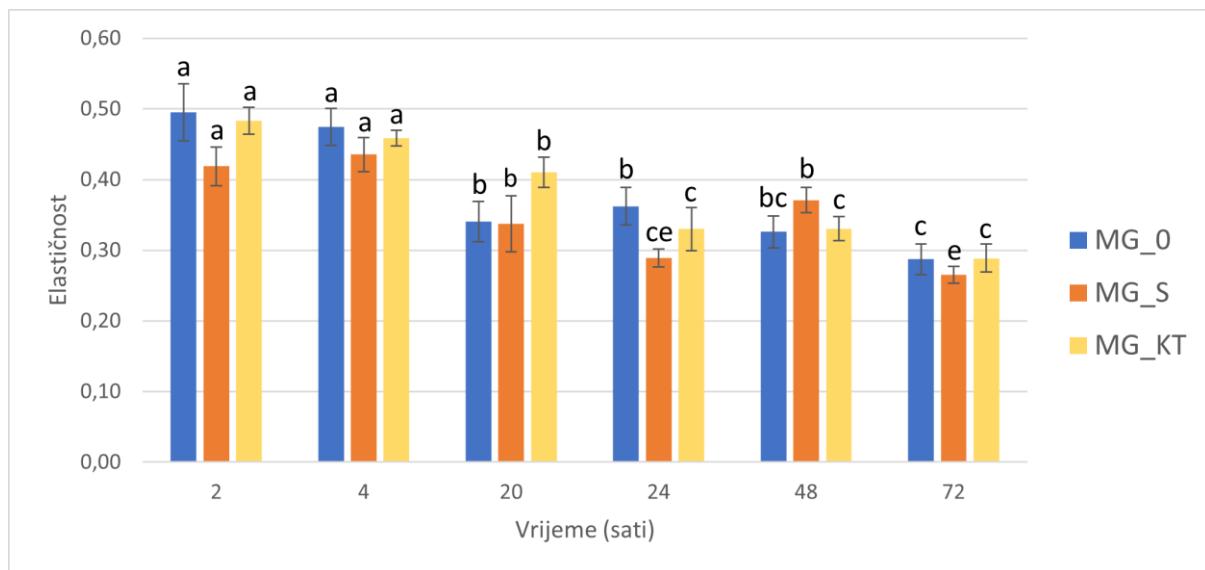
Žvakljivost sredine kruha najveće vrijednosti pokazuje u kruhu osnovne recepture (Slika 6.). Bez glutena i bez dodatnih sastojaka koji imaju mogućnost preuzimanja uloge glutena, stvaranja strukture koja pospješuje retenciju vode i plinova stvorenih za vrijeme fermentacije, nastaje kruh žvakljive strukture. Na prvom mjerenu nakon 2 sata, MG\_S i MG\_KT pokazuju manje od 2/3 žvakljivosti koju ima MG\_0. Žvakljivost im se smanjuje kroz vrijeme, kruh s kiselim tjestom pokazuje umjerenije i stabilnije smanjenje vrijednosti, dok kruh obogaćen rogačem i prosom nešto naglijije promijene žvakljivosti kroz vrijeme.

MG\_0 pokazuje veliku žvakljivost tijekom prva 4 sata nakon čega dolazi do pada za gotovo pola od prve izmjerene vrijednosti. Od 20 do 72 sata statistički ne dolazi do promjena u žvakljivosti, no i dalje ostaje veća od žvakljivosti MG\_S i MG\_KT. Zbog nedostatka glutena i strukture koju pruža, nastaje gusta, zbijena sredina kruha koja se očituje više žvakljivom teksturom.

Kruhu obogaćenom rogačem i prosom se smanjuje žvakljivost u prva 24 sata, sa naglijim padom u početku starenja. Mjereno nakon 48 sati pokazuje porast, slično kao i u prethodno prikazanim parametrima tvrdoće i kohezivnosti, nakon čega se pri 72 sata žvakljivost MG\_S smanjuje na vrijednost koja se statistički ne razlikuje od one pri 24 sata starenja.

Žvakljivost MG\_KT se statistički ne razlikuje tijekom prva 4 sata starenja, potom se relativno

jednoliko smanjuje pri čemu se vrijednosti statistički značajno ne razlikuju sve do 48 sati kada se žvakljivost stabilizira i ostaje ista i nakon 72 sata. Fermentacija kroz koju tjesto prolazi za vrijeme kiseljenja može dovesti do proizvodnje organskih kiselina koje imaju sposobnost razgradnje nekih proteina i škroba što povoljno utječe na stvaranje manje žvakljive teksture bezglutenskog kruha. Kruh s kiselim tjestom često dostigne veću razinu hidratacije od kruha bez kiselog tjesteta, što također pridonosi mekšoj i manje žvakljivoj sredini kruha.



**Slika 7.** Grafički prikaz elastičnosti sredine bezglutenskog kruha kroz 72 sata. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerena  $\pm$  standardna devijacija. Različitim eksponentima (a-d) označeni su uzorci unutar pojedine vrste kruha između kojih postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ).

Elastičnost sredine MG\_0 i MG\_KT se ne razlikuje značajno prva 4 sata starenja (Slika 7.), dok je sredina MG\_S nešto manje elastična. Mjerenje nakon 20 sati starenja pokazuje prvu značajnu promjenu pri čemu MG\_0 i MG\_S pokazuju nagliji pad, nego kruh s kiselim tjestom. Po kraju praćenog starenja sva tri tipa kruha pokazuju slične vrijednosti elastičnosti. Nakon 72 sata, kruhovi su izgubili otprilike 40 % elastičnosti koju su pokazivali poslije 2 sata starenja. Starenje kruha je generalno okarakterizirano smanjenjem arome i elastičnosti kruha, gubitkom vlage i mekšanjem kore te povećanjem tvrdoće i mravljinosti sredine kruha (Chinachoti, 2003). Elastičnost MG\_0 ne mijenja se prva 4 sata, zatim se značajno smanjuje pri 20 sati starenja te se ne razlikuje na sljedećem mjerenu. Pri 48 i 72 sata elastičnost postepeno pada, no vrijednosti se statistički značajno ne razlikuju.

Elastičnost kruha MG\_S je najmanja od 3, ne mijenja se prva 4 sata, dolazi do naglog pada pri

20 sati, zatim nastavlja padati, uz iznimku porasta vrijednosti nakon 48 sati, kao i u rezultatima ostalih parametara.

Elastičnost bezglutenskog kruha s kiselim tjestom ne pokazuje promjene u početku starenja. Kroz vrijeme dolazi do postepenog gubitka elastičnosti što se pokazalo u mjeranjima na 20 i 24 sata. Pad vrijednosti odvija se bez naglih promjena, stabilizira se nakon 24 sata starenja te mjerena pokazuju statistički istu elastičnost i nakon 48 te 72 sata starenja.

## **5. ZAKLJUČCI**

Cilj ovog rada bio je pojedinačno ispitati utjecaj dodatka smjese brašna rogača, prosa i prosenih posija te utjecaj kisele fermentacije iste smjese na kvalitetu bezglutenskog tankog kruha, mjerjenjem fizikalnih svojstava kruha s naglaskom na teksturalna svojstva kruha tijekom 72 sata. Na osnovu dobivenih rezultata donose se sljedeći zaključci:

1. Dodatak smjese brašna rogača i prosa te posija prosa, te dodatak kiselog tjesteta uzrokuju povećanje specifičnog volumen bezglutenskog kruha.
2. Dodatak kiselog tjesteta dovodi do razvoja tamnije boje kruha.
3. Dodatak kiselog tjesteta u bezglutenski tanak kruh smanjuje gubitak vode do kojeg dolazi za vrijeme pečenja i hlađenja kruha.
4. Dodatak smjese brašna rogača i prosa te prosenih posija, kao i dodatak kiselog tjesteta, uzrokuju smanjenje tvrdoće sredine bezglutenskog kruha te smanjenje žvakljivosti za otprilike 30 %
5. Kohezivnost i elastičnost sredine kruha se smanjuju kroz 72 sata za sve analizirane kruhove te oni postaju naočigled mrvljiviji.
6. Dodatak kiselog tjesteta bezglutenskom kruhu stabilizira njegove promjene teksture tijekom starenja. Vrijednosti svih analiziranih parametara teksture smanjuju se sporije u usporedbi s promjenama koje se događaju kod kruha osnovne recepture te kruha obogaćenog rogačem i prosom bez kiselog tjesteta.
7. Dodatak kiselog tjesteta te smjese rogača i prosa mogu djelovati kao prirodna alternativa za poboljšanje teksture bezglutenskog tankog kruha i produženje njegove trajnosti.

## **6. POPIS LITERATURE**

- Banu I, Aprodu I (2012) Studies concerning the use of *Lactobacillus helveticus* and *Kluyveromyces marxianus* for rye sourdough fermentation. *European Food Research and Technology* **234**, 769-777.
- Bender D, Fraberger V, Szepasvári P, D'Amico S, Tömösközi S, Cavazzi G, i sur. (2018). Effects of selected lactobacilli on the functional properties and stability of gluten-free sourdough bread. *European Food Research and Technology* **244**, 1037-1046.
- Drakula S (2020) Razvoj bezglutenskog kruha poboljšane aromе, povećane prehrambene vrijednosti i produljene trajnosti (doktorski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
- Łopusiewicz Ł, Kowalczewski PŁ, Baranowska HM, Masewicz Ł, Amarowicz R, Krupa-Kozak U (2023) Effect of Flaxseed Oil Cake Extract on the Microbial Quality, Texture and Shelf Life of Gluten-Free Bread. *Foods* **12**, 595.
- Mutak N (2018) Primjena rogačevog kiselog tijesta u proizvodnji pekarskih proizvoda (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
- Novotni D, Nanjara L, Štrkalj L, Drakula S, Čukelj Mustač N, Voučko B, i sur. (2022) Influence of Particle Size and Xylanase Pretreatment of Proso Millet Bran on Physical, Sensory and Nutritive Features of Gluten-Free Bread. *Food Technology and Biotechnology*.
- Panjkota Krbavčić I (2008) Prehrana kod celjakije. *Medicus* **17**, 87-92.
- Papaefstathiou E, Agapiou A, Giannopoulos S, Kokkinofta R (2018) Nutritional characterization of carobs and traditional carob products. *Food Science & Nutrition* **6**, 2151-2161.
- Pozderac I, Mijandrušić Sinčić B (2019) Poremećaji povezani s glutenom. *Medicina Fluminensis* **55**, 53-58.
- Ramos L, Alonso-Hernando A, Martínez-Castro M, Morán-Pérez JA, Cabrero-Lobato P, Pascual-Maté A, i sur. (2021) Sourdough Biotechnology Applied to Gluten-Free Baked Goods: Rescuing the Tradition. *Foods* **10**, 1498.

Štrkalj L (2019) Nutritivna i fizikalna svojstva bezglutenskoga kruha s dodatkom posija prosa, (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Tsatsaragkou K, Gounaropoulos G, Mandala I (2014) Development of gluten free bread containing carob flour and resistant starch. *LWT - Food Science and Technology* **58**, 124-129.

Tsatsaragkou K, Yiannopoulos S, Kontogiorgi A, Poulli E, Krokida M, Mandala I (2014) Effect of Carob Flour Addition on the Rheological Properties of Gluten-Free Breads. *Food and Bioprocess Technology* **7**, 868-876.

Verdonck C, De Bondt Y, Pradal I, Bautil A, Langenaeken NA, Brijs K, i sur. (2023) Impact of process parameters on the specific volume of wholemeal wheat bread made using sourdough- and baker's yeast-based leavening strategies. *International Journal of Food Microbiology* **396**, 110193.

Voučko B (2018) Primjena nusproizvoda prehrambene industrije i inovativnih tehnologija u razvoju pekarskih proizvoda za oboljele od celjakije i šećerne bolesti (doktorski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

## **Izjava o izvornosti**

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

---

Vlastoručni potpis