

# Nutritivna, senzorska i fizikalna svojstva bezglutenskog tankog kruha s dodatkom rogačevog i prosenog brašna

---

Pleš, Vedrana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:159:389001>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-30**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2024.

Vedrana Pleš

**NUTRITIVNA, SENZORSKA I FIZIKALNA  
SVOJSTVA BEZGLUTENSKOG TANKOG  
KRUHA S DODATKOM ROGAČEVOG I  
PROSENOG BRAŠNA**

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

Ovaj rad izrađen je u okviru projekta „FLAT BREAD MINE“, PRIMA programa (No 2031).

*Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Bojani Voučko na pruženoj prilici za izradu diplomskog rada, na odabiru zanimljive teme te na podršci i strpljenju tijekom same izrade i pisanja rada te cjelokupnog obrazovanja tijekom zadnje dvije godine.*

*Zahvaljujem se svojim roditeljima i cijeloj obitelji na financijskoj i emotivnoj podršci tijekom cijelog mog dugog puta do diplome i desetogodišnjeg obrazovanja u drugom gradu.*

*Zahvalu zaslužuju i moje prijateljice Katarina, Matea i Klara koje me vjerno prate i podržavaju, kako u obrazovanju, tako i u svakom pogledu života.*

*Mojim najdražim kolegicama s Fakulteta Ani, Mariji, Mateji i Sari dugujem veliku zahvalu jer bez timskog rada ne bi bilo niti ovoga.*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

NUTRITIVNA, SENZORSKA I FIZIKALNA SVOJSTVA BEZGLUTENSKOG TANKOG KRUHA S  
DODATKOM ROGAČEVOG I PROSENOG BRAŠNA

Vedrana Pleš, univ. bacc. ing. techn. aliment.

0058215584

### Sažetak:

Poboljšanje kvalitete bezglutenskih kruhova se u novije vrijeme pokušava postići bez upotrebe prehrambenih aditiva, odnosno upotrebom prirodnih sastojaka i procesa kao što je fermentacija. Primjer nedovoljno korištenih, nutritivno bogatih prirodnih sirovina su proso i rogač. Cilj ovog rada bio je nutritivno obogatiti bezglutenski kruh s dodatkom prosenog brašna i posija, brašna rogača, brašnom sjemenki rogača i kiselim tijestom dobivenim fermentacijom tih sirovina, te ispitati utjecaj dodataka na senzorsku prihvatljivost kruha. Dodatno, cilj je bio ispitati utjecaj brašna rogača ili brašna sjemenki rogača na starenje kruha, mjerenjem teksture i senzorske prihvatljivosti kruha tijekom 72 sata. Dodatak prosenog brašna i posija te brašna rogača i sjemenki rogača, uzrokovali su značajno povećanje udjela prehrambenih vlakana bez promjene senzorske prihvatljivosti kruha. Upotreba brašna sjemenki rogača, je u usporedbi s brašnom rogača, osigurala manju tvrdoću (27 %) i žvkljivost kruha (25 %) dva sata nakon pečenja, te veći senzorski osjećaj svježine tijekom 72 sata čuvanja.

**Ključne riječi:** bezglutenski kruh, prehrambena vlakna, rogač, proso, tekstura

**Rad sadrži:** 48 stranica, 11 slika, 4 tablice, 45 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb.

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

### Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu

1. izv. prof. dr. sc. Aleksandra Vojvodić Cebin (predsjednik)
2. doc. dr. sc. Bojana Voučko (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Katatina Lisak Jakopović (član)

**Datum obrane:** 30. rujna 2024.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Department of Food Engineering**  
**Laboratory for Cereal Chemistry and Technology**

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Food Technology

**Graduate university study programme:** Food Engineering

NUTRITIVE, SENSORY AND PHYSICAL PROPERTIES OF GLUTEN FREE FLAT BREAD MADE WITH THE ADDITION OF CAROB AND PROSO FLOUR

Vedrana Pleš univ. bacc. ing. techn. aliment.

0058215584

**Abstract:** Gluten-free bread quality improvement has recently been focused on clean label, by using natural ingredients and processes such as fermentation. Millet and carob are examples of underutilized, nutritionally rich natural raw materials. The aim of this work was to nutritionally enrich gluten-free bread by adding millet flour and bran, carob flour, carob seed flour, and sourdough obtained from the fermentation of these raw materials, and to examine the impact of these additions on the sensory acceptability of the bread. Additionally, the goal was to examine the effect of carob flour or carob seed flour on the aging of the bread by measuring its texture and sensory acceptability over 72 hours. The addition of millet flour and bran, as well as carob flour and carob seed flour, significantly increased the dietary fiber content without changing the sensory acceptability of the bread. Compared to carob flour, the use of carob seed flour resulted in lower hardness (27 %) and chewiness (25 %) of the bread two hours after baking, and a greater sensory perception of freshness during 72 hours of storage.

**Keywords:** gluten free bread, dietary fiber, carob, millet, texture

**Thesis contains:** 48 pages, 11 figures, 4 tables, 45 references

**Original in:** Croatian

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

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

**Reviewers:**

1. Aleksandra Vojvodić Cebin PhD, Associate professor (president)
2. Bojana Voučko, PhD, Assistant professor (mentor)
3. Katarina Lisak Jakopović, PhD, Full professor (member)

**Thesis defended:** 30<sup>th</sup> September, 2024



# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. BEZGLUTENSKA PREHRANA</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2. BEZGLUTENSKI KRUH</b> .....	<b>5</b>
2.2.1. Metode poboljšavanja bezglutenskog kruha .....	6
<b>2.3 PROSO I PROSENE POSIJE</b> .....	<b>8</b>
<b>2.4. ROGAČ</b> .....	<b>10</b>
2.4.1. Sjemenke rogača .....	11
<b>2.5. KISELO TIJESTO</b> .....	<b>12</b>
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1. MATERIJALI</b> .....	<b>15</b>
3.1.1. Sirovine .....	15
3.1.2. Uzorci .....	15
<b>3.2. METODE RADA</b> .....	<b>15</b>
3.2.1. Postupak izrade kruha .....	15
3.2.2. Određivanje kemijskih svojstava kruha .....	17
3.2.2.1. Određivanje udjela vode .....	17
3.2.2.2. Određivanje udjela lipida .....	18
3.2.2.3. Određivanje udjela pepela .....	18
3.2.2.4. Određivanje udjela proteina .....	19
3.2.2.5. Određivanje sastava prehrambenih vlakana .....	20
3.2.2.5.1. Priprema uzoraka .....	21
3.2.2.5.2. Određivanje netopljivih vlakana .....	22
3.2.2.5.3. Određivanje topljivih vlakana velike molekulske mase .....	22
3.2.2.5.4. Određivanje vlakana male molekulske mase .....	22
3.2.2.6. Određivanje sadržaja fruktana .....	23
3.2.2.6.1. Ekstrakcija fruktana .....	23
3.2.2.6.2. Uklanjanje saharoze, škroba i šećera .....	24
3.2.2.6.3. Hidroliza i mjerenje fruktana .....	24
3.2.3. Određivanje fizikalnih svojstava kruha .....	24
3.2.3.1. Mjerenje mase i gubitka vode .....	24
3.2.3.2. Mjerenje dimenzija kruha .....	25
3.2.3.3. Mjerenje volumena kruha .....	25
3.2.3.4. Mjerenje teksture kruha i određivanje starosti .....	26
3.2.4. Senzorske analize .....	26

3.2.4.1. Senzorsko određivanje starenja kruha .....	26
3.2.4.2. Hedonistička sensorika .....	27
3.2.5. Statistička obrada podataka .....	27
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>28</b>
<b>4.1. KEMIJSKI SASTAV BEZGLUTENSKOG TANKOG KRUHA.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2. HEDONISTIČKA SENZORSKA ANALIZA .....</b>	<b>32</b>
<b>4.3. FIZIKALNA SVOJSTVA BEZGLUTENSKOG TANKOG KRUHA.....</b>	<b>34</b>
<b>4.4. TEKSTURA I STARENJE BEZGLUTENSKOG KRUHA .....</b>	<b>36</b>
<b>4.5. STARENJE KRUHA ODREĐENO DESKRIPTIVNOM SENZORSKOM ANALIZOM .</b>	<b>41</b>
<b>5. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>44</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>45</b>

## 1. UVOD

Bezglutenska prehrana je sve popularnija, te se očekuje još veći porast interesa za bezglutenskim proizvodima. Procijenjeno je kako 5 % svjetske populacije ima neki poremećaj vezan za gluten (González i sur., 2024). Tržište bezglutenskih pekarskih proizvoda u sve je većem rastu, ali se susreće sa brojnim izazovima, budući da je tradicionalna proizvodnja pšeničnog bijelog kruha postavila visoke standarde senzorskih karakteristika kruha, kao i naviku potrošača na karakterističan okus i aromu. Bezglutenski kruh često ima nezadovoljavajuća senzorska svojstva i teksturu, mali volumen te kratak rok valjanosti. Također, bezglutenski kruh je često nutritivno siromašan, ima visok glikemijski indeks te visoke udjele masti i šećera te niske udjele vlakana, vitamina, minerala i bioaktivnih spojeva. Radi nezadovoljavajućih senzorskih i teksturalnih svojstava bezglutenski kruh je često složene recepture u koju se nerijetko dodaju aditivi poput hidrokoloida i škroba. Osim fizikalnih i nutritivnih svojstava, na nezadovoljstvo potrošača sa bezglutenskim proizvodima utječe i negativan stav prema aditivima u hrani. Zahtjevi potrošača za prirodnim sastojcima usmjerili su znanstvena istraživanja prema traženju prirodnih rješenja za poboljšanje nutritivnih, fizikalnih i senzorskih svojstava bezglutenskog kruha, odnosno prema korištenju alternativnih sirovina i kiselog tijesta.

Rogač je stablo iz porodice mahunarki čiji se plod često upotrebljava u prehrani i u prehrambenoj industriji. Koristi se kao aroma, zaslađivač, ugušćivač te stabilizator. Brašno rogača je nutritivno bogata namirnica, sadrži visoki udio šećera (32 - 60 %), prehrambenih vlakana (2,6 - 39,8 %), minerala (1 - 6 %) te umjeren udio proteina (1 - 7,6 %) (Durazzo i sur., 2014). Zahvaljujući svom povoljnom kemijskom sastavu, rogačevo brašno se može koristiti za povećanje nutritivne i zdravstvene vrijednosti te poboljšanje tehnoloških svojstava bezglutenskih proizvoda od žitarica kao što su kruh, keksi i kolači. Brašno rogača te gume izolirane iz sjemenki rogača koriste se u pekarstvu, no trenutno u maloj mjeri u bezglutenskim proizvodima.

Proso je specifična skupina žitarica koja obuhvaća više rodova, a u prehrani se najviše koristi obično proso (*Panicum miliaceum* L.) (Arendt i Zannini, 2013). Proso karakterizira malo zrno, te je to žitarica bogata proteinima, vitaminima B skupine te mineralima. Proso kao namirnica postaje sve popularnije radi nutritivno dobrog sadržaja te radi dobrog uzgoja, budući da uspjeva na širokom području te dobro podnosi sušu. Prosene posije su vanjski dio zrna prosa te su bogate vlaknima, mineralima, vitaminima i bioaktivnim komponentama. Posije prosa sadrže povećani udio proteina i mineralnih tvari od kojih su najzastupljeniji magnezij, zatim željezo, te cink i bakar. One su jeftina sirovina kojom se nutritivno može obogatiti bezglutenski kruh. Ipak, prosene posije mogu negativno djelovati na senzorske karakteristike i

teksturu kruha, te je njihovu količinu potrebno optimizirati u recepturama.

Kiselo tijesto je mješavina vode i brašna koju fermentiraju bakterije mliječne kiseline i kvasci, a koristi se za poboljšanje teksturalnih, senzorskih i nutritivnih karakteristika kruha (Klarić, 2017). Kiselo tijesto ponovno dobiva na popularnosti među potrošačima, ima pozitivan utjecaj na nutritivnu vrijednost i teksturalna svojstva kruha. Veliki je potencijal njegove upotrebe u proizvodnji bezglutenskih pekarskih proizvoda, u kojima je nedovoljno primjenjeno i istraženo. Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj dodatka rogačevog brašna mahune, brašna sjemenki rogača, prosenog brašna, prosenih posija te kiselog tijesta na nutritivna svojstva i senzorska svojstva bezglutenskog kruha. Dodatno, ispitan je utjecaj dodatka rogačevog brašna od mahune i sjemenki te brašna sjemenki rogača, na fizikalna svojstva, senzorsku prihvatljivost kruha, te starenje kruha kroz 72 sata praćeno mjerenjem teksture te senzorskom analizom.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. BEZGLUTENSKA PREHRANA

Pojedinci koji pate od nekog poremećaja vezanog za probavu glutena, moraju se pridržavati bezglutenske prehrane. Celijakija je imunološki posredovana, nasljedna i cjeloživotna enteropatija uzrokovana intolerancijom na gluten. Razgradnjom glutena nastaju peptidi na koje imunološki sustav daje nepoželjni odgovor kod pojedinaca s genetskim predispozicijama. Celijakija se očituje upalnim promjenama sluznice tankog crijeva što za posljedicu ima maloporciju hranjivih tvari, izvancrijevnim simptomima, ali je moguć i izostanak simptoma (Rybicka, 2018). Oštećenja crijevne sluznice uzrokovana celijakijom također mogu uzrokovati i sekundarnu intoleranciju na laktozu radi manjeg stvaranja enzima laktaze, tako da kod nekih ljudi prehrana mora biti bez glutena, ali i bez laktoze odnosno mliječnih proizvoda. Oštećenje sluznice tankog crijeva može prouzročiti i neadekvatnu količinu željeza, odnosno njegovu slabiju apsorpciju. Budući da se željezo apsorbira u duodeneumu i prvom dijelu jejunoma, oštećenje sluznice može uzrokovati njegovu smanjenu apsorpciju koja dovodi do anemije (Efthymakis i sur., 2017). Budući da je jedan od simptoma celijakije upala sluznice tankog crijeva te oštećenja sluznice, posljedica toga je maloporcija hranjivih tvari odnosno nedovoljna apsorpcija istih. Stoga je nutritivni profil pojedinaca koji pate od celijakije često neadekvatan. Posebnu bi se pažnju zbog toga trebalo posvetiti kvaliteti bezglutenske prehrane odnosno bezglutenskim prehranbenim proizvodima. Nažalost, brojna su istraživanja pokazala kako ljudi koji se moraju pridržavati bezglutenske prehrane ne prate kvalitetu hrane, već im je samo bitna da je bez glutena (Vici i sur., 2016). Uz ljude koji se moraju pridržavati ovakve prehrane, bezglutenska prehrana je zadnjih 10-tak godina postala popularna i kod osoba koje ne pate od celijakije. Prehrana bez glutena je sve više promatrana kao popularna i zdravija vrsta prehrane, a ne kao vrsta prehrane koja je propisana za osobe s dijagnozom. Tržište bezglutenske hrane u EU je u porastu, te se očekuje da će nastaviti rasti (Roman i sur., 2019). Prema Provedbenoj uredbi Komisije (EU) br. 828/2014, kako bi hrana mogla biti označena oznakom „bez glutena“ mora sadržavati manje od 20 mg glutena po kg proizvoda. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) hranu koja ne sadrži gluten možemo podijeliti u tri skupine:

- a) hrana koja prirodno ne sadrži gluten (odnosno prolamine pšenice, raži, ječma i zobi i njihovih derivata)
- b) kojoj je industrijskim postupcima uklonjen gluten i u kojima količina glutena ne prelazi 20 mg/kg
- c) koja sadrži pšenicu, ječam, raž i/ili zob i njihove derivate te u kojoj je gluten prisutan u količini od 20 do 100 mg/kg (FAO, WHO (2008)).

Hrana koja ne sadrži gluten može se prepoznati po oznaci prekriženog klasa (slika 1).



**Slika 1.** Oznaka bezglutenskog proizvoda (Anonymous 1)

Žitarice su jedan od glavnih izvora vlakana u ljudskoj prehrani. Pojedinci koji se pridržavaju bezglutenske prehrane unose manje žitarica radi izbjegavanja pšenice, raži i ječma. Dokazano je kako oni unose manje vlakana od preporučene količine. Preporučena dnevna doza za žene je 28 g/dan, a za muškarce 36 g/dan (Melini i sur., 2019). Bezglutenski pekarski proizvodi obično sadrže rafinirana brašna i škrobove, te kao takvi sadrže manje vlakana i imaju viši glikemijski indeks (Vici i sur., 2016). Povišenom glikemijskom indeksu pridonosi činjenica da se bezglutenskim proizvodima dodaje više šećera nego proizvodima iste vrste koji sadrže gluten. Isto tako se takvim proizvodima dodaje i škrob koji miješanjem sa vodom pri povišenog temperaturi želatinizira. U bezglutenske se proizvode, osim šećera i škrobova često dodaju i emulgatori, ulja i masti kako bi se postigla što sličnija svojstva glutenskim proizvodima. Radi toga bezglutenski proizvodi mogu sadržavati više zasićenih masnih kiselina, te općenito veću kalorijsku vrijednost (Melini i sur., 2019). Također je primjećeno kako su bezglutenski proizvodi siromašniji mikronutrijentima, radi sirovina koje su same po sebi siromašne istima. Kod pojedinaca koji se pridržavaju bezglutenske prehrane primjećen je nedostatak mikronutrijenata, a osobito vitamina D i B skupine te Ca, Mg, Zn i Fe (Rybicka, 2018).

Bezglutenski proizvodi su nutritivno siromašniji, ali postoje načini kako da im se poboljša nutritivni status. Radi obogaćivanja, u bezglutenske se proizvode može dodavati i razno voće i povrće, kao što su grašak, mrkva, grožđice, jagode i sl. Jedan od načina je i dodatak cjelovitih brašna od žitarica koje prirodno ne sadrže gluten ili brašna od pseudožitarica. Brašna koja se dodaju s ciljem obogaćivanja nutrijentima su proseno i heljdino, a pseudožitarice koje su u upotrebi su proso, amarant i kvinoja (Wang i sur., 2017). Njihovom se upotrebom obogaćuje nutritivni status, osobito vlakna i proteini, ali se i poboljšavaju senzorska svojstva bezglutenskih proizvoda. Osim žitarica i pseudožitarica, koriste se i brašna mahunarki, odnosno rogačevo, slanutkovo i sojino. Chia sjemenke se također mogu dodavati u bezglutenske proizvode, u obliku sjemenki ili brašna. Njihovom se upotrebom

povećava količina omega-3 masnih kiselina, te radi svoje sposobnosti vezanja vode utječu i na strukturu samog tijesta.

## **2.2. BEZGLUTENSKI KRUH**

Prehrambena industrija se susreće sa raznim izazovima kod proizvodnje bezglutenskog kruha, a to su tekstura, okus, miris, rok valjanosti, niska nutritivna vrijednost, cijena proizvodnje te unakrsna kontaminacija. Proizvodnja bezglutenskog kruha je izazovna budući da je vrlo teško postići svojstva slična glutenskom kruhu (Wang i sur., 2017). Gluten je ključan za strukturu koja kruhu daje izgled, strukturu, aromu i teksturu. Gluten je zaslužan za kohezivnost i visoko-elastična svojstva tijesta koja osiguravaju zadržavanje plina tijekom fermentacije i održavanje specifične sredine kruha nakon pečenja, odnosno poroznost, spužvastost i elastičnost sredine kruha (Drakula 2020; Wang i sur., 2017). Uklanjanjem glutena iz recepture povećava se uloga škroba u osiguravanju strukture i teksture kruha (González i sur., 2024). Škrob je u tijestu odgovoran za vezanje vode i stvaranje stabilne strukture sposobne za zadržavanje plina (Zannini i sur., 2012). Ulogu glutena niti jedan sastojak ne može u potpunosti zamijeniti, zbog toga su recepture za izradu kruha bez glutena kompleksne, a sirovine koje su korištene za izradu određuju kvalitetu, teksturu i senzorske karakteristike samog kruha. Uz odabir sirovina, uvjeti obrade i metodologija proizvodnje igraju ključnu ulogu u određivanju kvalitete konačnog proizvoda (González i sur., 2024).

Bezglutenski pekarski proizvodi uz to što su nutritivno siromašniji od standardnih proizvoda od žitarica, nisu zadovoljavajući niti s tehnološkog aspekta. Bezglutenska tijesta su sličnija tijestima za torte, nisu elastična i kohezivna. Njima je stoga teško rukovati te se lijepe za strojeve. U usporedbi s klasičnim kruhom, bezglutenski kruh ima lošiju teksturu i u ustima se mrvči. Bezglutenski kruh ima tvrđu koricu i sredinu od pšeničnog kruha radi drugačije raspodjele molekula vode. Isto tako, kraći mu je rok trajanja i manji volumen (González i sur., 2024). Uz sve ove negativne karakteristike bezglutenskog kruha, oni su i značajno skuplji u usporedbi s njihovim analogima na bazi pšenice, a i njihova dostupnost na tržištu je ograničena (Toth i sur., 2021). Najčešće se bezglutenski kruh proizvodi na bazi rižinog i kukuruznog brašna. Navedene su sirovine jeftine te neutralnog okusa i mirisa. Riža je bogata lako probavljivim i složenim ugljikohidratima, kao i mineralima i vitaminima B skupine. Brašno riže najčešće se dobiva od poliranog zrna kojemu je otklonjena vanjska ljuska u kojoj se nalazi većina hranjivih tvari. Integralno je brašno riže nutritivno bolje i bogatije, ali kraćeg roka valjanosti radi enzima lipaze i lipoksigenaze odnosno mogućeg razvoja užeglosti i gorkog okusa. Također, sastav rižinog brašna ovisi i o kultivaru same riže te uvjetima rasta i obrade. Tehnološka svojstva rižinog brašna uvelike ovise o škrobu, odnosno o omjeru amiloze i amilopektina. Za pripremu tijesta s rižinim brašnom koje je odgovarajuće konzistencije,

potrebna je znatno veća količina vode nego za pripremu tijesta od pšeničnog brašna (González i sur., 2024). Toth i sur. (2021) procijenili su profil teksture i senzorsku prihvatljivost 9 uzoraka bezglutenskog kruha koji su dostupni na tržištu, te ta svojstva usporedili s bijelim pšeničnim kruhom. Pri tome je uzoraka 7 bezglutenskog kruha imalo lošiji profil strukture u usporedbi sa pšeničnim kruhom, a dva bezglutenska kruha pokazala su bolja ili ista teksturalna svojstva kao i klasični bijeli kruh. Dva bezglutenska kruha imala su više slan okus što je smanjilo prihvatljivost potrošača. I tekstura i senzorski podaci pokazuju da se kvaliteta nekih bezglutenskih krušnih proizvoda značajno poboljšala posljednjih godina.

Tanki kruh je uobičajeno vrsta kruha jednostavne recepture. Pretežno se se radi od brašna, vode, soli i kvasca, ali može sadržavati i brašna ili dijelove zrna drugih žitarica, te biti obogaćen mlijekom, jajima, začinskim biljem i sl. Pšenica je uobičajeni sastojak. Somuni i lepinje se najčešće peku na tavi ili u pećnici (Patil i Arya, 2018). Tanki kruh se tradicionalno se proizvodi i na području Hrvatske (npr. pogača, lepinja i dr.). Potrošnja tradicionalno proizvedenog tankog kruha, ali i onog na industrijskoj razini raste iz godine u godinu na području cijelog svijeta (Patil i Arya, 2018). Također kako raste popularnost bezglutenske prehrane, sve je popularniji bezglutenski tanki kruh. Sve je veća potreba za razvojem tankog kruha bez glutena s poboljšanim svojstvima kako bi se zadovoljila potražnja osoba koje pate od celijakije, kao i potrošača koji zahtijevaju hranu bez glutena radi osobnog izbora (Patil i Arya, 2018). Patil i Arya (2019) razvili su bezglutenski tanki kruh koristeći zrna kvinoje, pogaču kikirija te visokokvalitetnog povrća (cikle i brokule). Takvi kruhovi pokazali su bogatije nutritivno svojstvo u usporedbi s glutenskim tankim kruhom, te 83 % prihvatljivosti kod potrošača.

### 2.2.1. Metode poboljšavanja bezglutenskog kruha

Brojnim se istraživanjima nastoji poboljšati kvaliteta bezglutenskog kruha. Cilj je postići veću kvalitetu s nutritivnog gledišta, tehnološkog, senzorskog te produljiti rok trajnosti kruha. Kvaliteta bezglutenskog kruha može se povećati upotrebom različitih sirovina, aditivima ili pak inovativnim tehnologijama proizvodnje (Wang i sur., 2017). Također, provode se i istraživanja o utjecaju specifičnih tretmana kao što su proteoliza i kiseljenje tijesta sirovina koje sadrže gluten u svrhu njegove potpune degradacije ili smanjenja koncentracije (Wang i sur., 2017). Kvaliteta bezglutenskog kruha može se poboljšati i dodatkom aditiva, kao što su hidrokoloidi. Hidrokoloidi su hidrofилni, dugolančani polisaharidi velike molekulske mase, a njihova funkcionalna svojstva ovise o kemijskoj strukturi (Korus i sur., 2021). Hidrokoloidi mogu biti prirodnog porijekla izolirani iz biljnih ekstrakta ili sintetizirani kemijskim, biokemijskim i mikrobiološkim putem. Hidrokoloidi u interakciji s vodom stvaraju mrežu gela koja povećava viskoznost, sposobnost zadržavanja plina te tako utječu na poboljšanje strukture, volumena,



teksture i izgleda kruha (Zannini i sur., 2012). Dodatkom hidrokoloida može se doprinijeti povećanju specifičnog volumena, smanjenju tvrdoće sredine, izraženijem posmeđivanju, poboljšanju senzorskih svojstava i usporavanju starenja bezglutenskog kruha (González i sur., 2024). Iako hidrokoloidi uspješno djeluju na fizikalna svojstva bezglutenskog kruha, mogu imati negativni utjecaj na nutritivnu vrijednost kruha. Hidrokoloidi na sebe mogu vezati minerale te tako umanjiti njihovu biološku dostupnost. Isto tako, mogu vezati proteine u teško probavljive komplekse i otežati njihovu probavljivost. Osim toga, hidrokoloidi, kao i aditivi hrani općenito, mogu na pojedince djelovati negativno u aspektu probavnih tegoba ukoliko ih se konzumira u prevelikoj mjeri (González i sur., 2024).

Još jedan popularan dodatak recepturi za izradu bezglutenskog kruha jesu proteini. Proteini koji se najčešće dodaju su proteini mlijeka, jaja, mahunarki i žitarica (Korus i sur., 2021; Matos i Rosell, 2015). Oni se bezglutenskom kruhu dodaju radi povećanja nutritivne vrijednosti te radi poboljšanja fizikalnih i senzorskih svojstava, odnosno pridonose osnaživanju tijesta. Dodatkom proteina u recepturu omogućuje se tvorba mreže koja oponaša svojstva glutenske mreže, odnosno poboljšavaju se reološka svojstva tijesta te produljenje roka valjanosti kruha.

Masti i emulgatori pridonose stabilizaciji mjehurića plina tijekom fermentacije te dovode do poboljšanja teksture sredine kruha (Matos i Rosell, 2015). Upotrebom masti i emulgatora može se produljiti rok valjanosti bezglutenskog kruha zato što u njihovoj interakciji s molekulama škroba mogu usporiti retrogradaciju škroba i migraciju vode (Klarić, 2017).

Dodatak enzima u tijesta također može doprinijeti poboljšanju kvalitete bezglutenskog kruha. Enzimi transglutaminaza i glukoza oksidaza doprinose nastanku mreže proteina u bezglutenskom tijestu (Zannini i sur., 2012), budući da kataliziraju reakcije direktnog (transglutaminaza) i indirektnog (glukoza oksidaza) povezivanja proteina.

Budući da raste svijest o kvalitetnoj prehrani među potrošačima, sve je popularnija hrana koja ne sadrži prehrambene aditive. Sve češći zahtjevi potrošača su čista deklaracija, prirodni proizvodi i proizvodi bez aditiva (Bender i sur., 2017). Kako bi se povećala prehrambena vrijednost bezglutenskog kruha primjenjuju se brašna velike prehrambene vrijednosti koja uključuju brašna bezglutenskih žitarica koja nisu često u upotrebi (sirka, prosa), pseudožitarica (amaranta, heljde, kvinoje), mahunarki (slanutka, leće, graha, graška, soje), korijenja i gomolja (krumpira, batata, manioke), orašastih plodova, sjemenki, voća i povrća (Matos i Rosell, 2015). Sirak i proso sadrže visoke udjele minerala, vitamina B skupine te fenolnih spojeva, dok su brašna pseudožitarica bogata esencijalnim masnim kiselinama, proteinima, mineralima i fenolnim spojevima (Taylor i Awika, 2017). Dodatkom navedenih alternativnih brašna struktura i senzorska svojstva kruha mogu se poboljšati, ali isto tako mogu i narušiti kvalitetu samog kruha te je njihov dodatak potrebno optimizirati. Zato se takva

brašna često kombiniraju s rafiniranim brašnima i škrobom koji se uobičajeno koriste za proizvodnju bezglutenskog kruha (Matos i Rosell, 2015).

Primjerice, Drakula (2020) uspješno je u svom istraživanju nutritivno obogatila bezglutenski kruh prehrambenim vlaknima, proteinima i mineralima dodatkom brašna žutog graška. Primjer uspješno obogaćenog bezglutenskog kruha je i u radu Voučko (2018) gdje je bezglutenski kruh s 13 % bučine pogače i 50 % prosenog brašna sadržavao 77 % više proteina i 62 % više pepela u usporedbi s bezglutenskim kruhom na komercijalnom tržištu.

Osim raznih sirovina i aditiva koji se mogu dodavati u recepturu u svrhu poboljšanja kvalitete bezglutenskog kruha, za poboljšanje kvalitete primjenjuju se i različite tehnologije. Tehnologije koje su često korištene za tu svrhu jesu kiseljenje tijesta, ohmsko zagrijavanje te tretman visokim hidrostatskim tlakom.

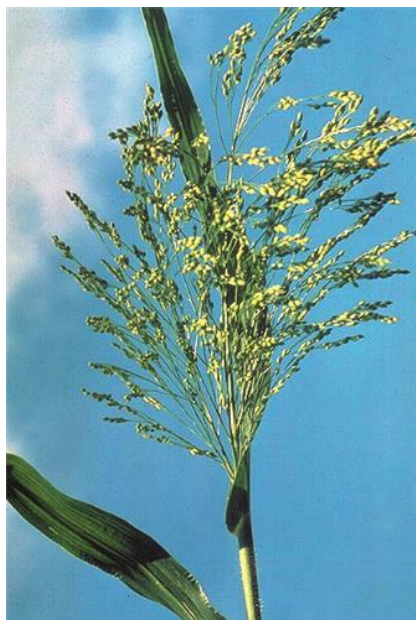
Prehrambena vlakna radi velike sposobnosti upijanja vode mogu negativno utjecati na volumen i teksturu kruha. Primjerice, Šoronja-Simović i sur. (2016) utvrdili su kako dodatak rogačevog brašna odnosno obogađivanje pšeničnog kruha prehrambenim vlaknima povećava tvrdoću kruha za 10 % i smanjuje elastičnost za 15 %. Kiselo tijesto može produljiti fermentaciju u kruhu te tako dati tijestu više vremena da postigne složeniju strukturu, što pozitivno utječe na teksturalna svojstva kruha. Bender i sur. (2018) utvrdili su kako dodatak zrelog kiselog tijesta u prosenom kruhu smanjuje tvrdoću kruha, te kako kiselo tijesto naciepljeno s nekoliko bakterijskih sojeva povećava volumen kruha.

## 2.3 PROSO I PROSENE POSIJE

Proso se naziva specifična skupina kultiviranih žitarica koje nisu iste vrste i ne pripadaju istom rodu, a karakteristika koja ih povezuje je izuzetno mala veličina zrna (Arendt i Zaninni, 2013). U prehrani ljudi se tradicionalno koristi na području Azije i Afrike, ali postaje popularan i u Europi i SAD-u. Najpoznatije vrste prosa su obično proso (*Panicum miliaceum* L.), biserno proso (*Pennisetum glaucum* L.), prstasto proso (*Eleusine coracana* L.), talijansko proso (*Setaria italica* L.), krvavo proso (*Digitaria exilis*) te etiopsko proso ili tef (*Eragrostis tef*). To je biljka koja nije prezahtjevna za uzgoj budući da dobro podnosi visoke i niske temperature, uspjeva na velikim nadmorskim visinama te ne zahtjeva previše vode za svoj rast. Proso je visoke nutritivne vrijednosti, bogat je proteinima, vitaminima B skupine, vlaknima, te mineralima poput željeza, cinka, kalcija, fosfora i kalija. Brojni su mu pozitivni učinci na ljudsko zdravlje, a pozitivno djeluje i na smanjenje razine glukoze u krvi, prevenciju dijabetesa te smanjenje kolesterola (Arendt i Zaninni, 2013).

Obično proso (*Panicum miliaceum* L.) jednogodišnja je biljka jarko zelenih listove te iznimno malog zrna koja može narasti do 1 m u visinu (Slika 2). Čini 8% svjetske proizvodnje prosa. 5 je podvrsta običnog prosa koje se međusobno razlikuju po boji sjemenke, vrsti ljuske i vrsti

antocijana. Obično proso je poželjna žitarica za uzgoj zato što zahtjeva najmanje vode te male količine dušika za rast u usporedbi s drugim žitaricama (Arendt i Zannini, 2013). Energetska vrijednost prosa iznosi 1552 kJ 100 g<sup>-1</sup>, sadrži 11,3-13 % proteina, 64,5-81,4 % ugljikohidrata, 8,9-12,5 % vlakana, 3,5-6,7 % masti i 1,5-4,2 % mineralnih tvari (Kalinová, 2007). Količina i kvaliteta proteina u prosu ovisi o uvjetima rasta, okolišnim uvjetima i sastavu tla.



**Slika 2.** Obično proso (Anonymous 2)

Obično proso najbogatije je proteinima u usporedbi s drugim vrstama prosa (od 11,5 do 13 %). Prema Osborne-u, proteini se mogu podijeliti na albumine, globuline, prolamine i gluteline, a u prosu su najzastupljeniji prolamini, neki autori tvrde da je udio prolamina između 25,1 i 36,9 %, dok je prema nekima udio do 50 % (Arendt i Zannini, 2013; Kalinová, 2007). Ugljikohidrati u prosu se sastoje od škroba, celuloze, hemiceluloze, topljivih šećera i pentozana. Najveći postotak ugljikohidrata u prosu predstavlja škrob (52,1 - 68,2 %) sa sadržajem amiloze od 17,21 % do 32,6 %, a škrobna zrnca prosa mogu se primjenjivati za dobivanje gela u preradi hrane radi dobrog svojstva želatinizacije (Kalinová, 2007). Proso se često koristi kod izrade bezglutenskih proizvoda, najčešće bezglutenskog kruha te slastica. Brites i sur. (2019) zaključili su kako je proseno brašno, uz heljdino, prikladno za izradu keksa poželjne teksture te senzorskih karakteristika. Proseno se brašno koristi i kao sirovina za proizvodnju bezglutenskog tankog kruha. Omran i Maghoub (2022) uspješno su proizveli bezglutenski tanki kruh od rižinog i prosenog brašna. Njihovi su rezultati pokazali kako proso povećava nutritivni sadržaj kruha. Zaključili su kako se zamjenom dijela rižinog brašna s prosenim brašnom povećava udio proteina, masti, pepela, vlakana i minerala u kruhu, a

smanjuje udio ugljikohidrata. Također su utvrdili da zamjena dijela rižinog brašna s prosenim brašnom utječe na boju finalnog proizvoda.

Posije (mekinje) su nusproizvodi žitarica koji nastaju mljevenjem zrna, a sadrže perikarp, omotač zrna, aleuronski sloj, klica i manji dio endosperma. Ovisno o vrsti žitarice, posije mogu sačinjavati 3 - 30 % ukupne mase zrna (Chinma i sur., 2015). Posije mogu imati značajan utjecaj na teksturu kruha radi visokog udjela vlakana koje sadrže. Primjerice, zobene posije sadrže 24,7 % vlakana, od čega 13 % netopljivih, dok ječmene posije sadrže 37,6 % prehrambenih vlakana od čega 26,6 % netopljivih (Chinma i sur., 2015). Pavišić (2022) zaključila je kako dodatak ječmenih i zobnih posija, osobito zobnih, negativno utječe na povećanje tvrdoće i žvkljivosti kruha.

Prosenim se posijama može obogatiti bezglutenski kruh budući da su one bogate prehrambenim vlaknima i fenolnim spojevima, a isto tako mogu i poboljšati teksturu samog kruha. Novotni i sur. (2022) u svome su istraživanju dokazali kako se bezglutenski kruh obogaćuje ukupnim mineralima za 15 %, nakon zamjene 10 % rižinog brašna prosenim posijama, ali i kako prosene posije mogu negativno utjecati na senzorna svojstva kruha. Dodatkom prosenih posija kruh je imao značajno tamniju boju, koja je poželjna budući da bezglutenski kruh obično ima svjetliju boju od kruha s glutenom. Dodatak prosenih posija pozitivno djeluje i na volumen bezglutenskog kruha te mekoću sredine kruha (Novotni i sur., 2022). Štrkalj (2019) zaključila je kako zamjenom 10 % rižinog brašna prosenim posijama udvostručuje udio prehrambenih vlakana u gotovom kruhu, te kako dodatak posija značajno povećava udio fenolnih spojeva u kruhu. Isto tako, budući da su posije bogate vlaknima, dobro upijaju i zadržavaju vodu, više se vode upotrebljava za zamjes te konačni proizvod sadrži veći udio vlage.

## **2.4. ROGAČ**

Rogač (lat. *Ceratonia siliqua L.*) je stablo iz porodice Mahunarki (*Fabaceae*) koje se uzgaja zemljama Mediterana, i na umjerenim i suhim područjima. Ovo stablo ima godišnju svjetsku proizvodnju preko 315 000 tona (Baumel i sur., 2018). Plod rogača je mahuna koja se sastoji od pulpe i sjemenki. Zdravi i neoštećeni se plodovi nakon berbe suše i usitnjavaju kako bi se se pulpa odvojila od sjemena. Plodovi se se prije mljevenja mogu pržiti radi bolje arome te se mljevenjem mogu dobiti prženo brašno ili sirovo brašno. Takvo brašno, poznato pod nazivima rogač ili brašno rogača, koristi se u prehrani samostalno ili se može prerađivati u svrhu ekstrakcije šećera, prehrambenih vlakana ili slično. Kemijski sastav ploda rogača razlikuje se ovisno o samoj sorti biljke, porijeklu i vremenu dozrijevanja, temperaturi, klimatskim uvjetima, stupnju zrelosti te načinu prerade (Baumel i sur., 2018). Rogač i proizvodi dobiveni od rogača dokazano imaju pozitivan učinak na ljudsko zdravlje te preveniraju bolesti. Za to su zaslužne

visoke koncentracije antioksidanasa, polifenola i vlakana zbog čega se ova namirnica preporučuje dijabetičarima (Papaefstarhiou i sur., 2018). Brašno ljuske rogača također predstavlja bogat izvor ugljikohidrata, bjelančevina, polifenola, minerala Ca, K, Mg, P i Na i nešto manju količinu masti i alkaloida (Papaefstarhiou i sur., 2018).

Brašno mahune rogača, osim zbog velike nutritivne vrijednosti, koristi se u pekarstvu jer pozitivno utječe na reološka svojstva tijesta, a time i na gotov proizvod. Brašno mahune rogača je sredstvo koje ima veliku sposobnost vezanja vode, te se zbog toga dodaje u tijesto kako bi mu povećao prinos. Ovo brašno se često koristi i kao zamjena za kakao u konditorskoj industriji, smeđe je boje te blagog okusa koji podsjeća na kakao. Zbog jake sposobnosti vezanja vode, rogačevo brašno zadržava vlagu u kruhu te tako usporava sušenje. Iako pozitivno utječe na produljenje roka valjanosti, rogačevo brašno može povećati tvrdoću kruha te je potrebno optimalno dozirati rogačevo brašno u recepturi. Salinas i sur. (2015) su ispitali utjecaj dodatka brašna sjemenke i brašna pulpe rogača (10-30 %) u bijeli pšenični kruh i rezultati su pokazali da povećanjem količine rogačevog brašna dolazi do smanjenja njegovog specifičnog volumena te kruh postaje tvrdi.

Osim u pekarstvu, koristi se i kao vezivna tvar u preljevima za kolače (Klarić, 2017).



**Slika 3.** Plod rogača (Anonymus 2)

#### 2.4.1. Sjemenke rogača

Brašno od mahune rogača i brašno od sjemenki rogača su dva različita proizvoda sa različitim svojstvima i primjenama, iako potiču od iste biljke - rogača (*Ceratonia siliqua*).

Sjemenke rogača dobivaju se lomljenjem ploda rogača. Karakterizira ih smeđa boja te tvrdoća, duljine su oko 10 mm te mase oko 2 g. Vrlo su otporne te imaju sjajnu površinu. Proizvodnja mljevenog rogača zahtjeva uklanjanje sjemenki koje zaostaju kao otpad ili nusproizvod (Fidan i sur., 2020). Sjemenke imaju drugačiji kemijski sastav i funkcionalna svojstva od pulpe mahune rogača, te ih je stoga potrebno razdvojiti. Sjemenke rogača bogatije su vlaknima i polisaharidima od brašna mahune rogača, dok brašno mahune rogača sadrži značajno veći udio šećera. Jedan od primjera je taj što se sjemenke moraju ukloniti pri

proizvodnji brašna i sirupa od rogača zato što bi narušile slatki okus i topljivost tih proizvoda (Papaefstarhiou i sur., 2018). Sjemenke rogača prvenstveno se koriste za proizvodnju galaktomanana koji se koristi kao stabilizator u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji (Fidan i sur, 2020). Sjemenke rogača su vrlo otporne i nisu lako kvarljive, što ih čini dugotrajnim i korisnim u različitim industrijama, posebno u prehrambenoj i farmaceutskoj. Kao i brašno mahune rogača, brašno sjemenki ne sadrži gluten te ga se može koristiti u bezglutenskoj prehrani.

Brašno sjemenki rogača ima više pozitivnih aspekata vezano za proizvodnju bezglutenskog kruha. Jedna od prednosti je neutralan okus, za razliku od brašna mahuna rogača koje ima sladak i blag okus, brašno sjemenki nema značajan okus ili aromu, što ga čini pogodnim za upotrebu u raznim vrstama pekarskih proizvoda bez mijenjanja njihovog okusa. U pekarskim proizvodima, brašno sjemenki rogača se koristi za zadržavanje vlage i sprečavanje isušivanja kruha i peciva. Dodavanje malih količina ovog brašna može značajno poboljšati mekoću i svežinu proizvoda (Fidan i sur., 2020). Koristi se pretežno u malim količinama budući da ima veliku moć zgušnjavanja.

Fidan i sur. (2020) zaključili su da su sjemenke rogača visoke nutritivne vrijednosti i imaju vrijedna funkcionalna svojstva te ih se može upotrebljavati kao aditiv hrani. One imaju uravnoteženi sastav proteina, sadrže galaktomanan koji ima veliku sposobnost bubrenja i zadržavanja ulja i vlage, te se njihovo brašno može koristiti u svrhu poboljšanja kvalitete bezglutenskog kruha, budući da ima veliku sposobnost zadržavanja vlage, koristi se i za produljenje roka trajanja.

Također, brašno sjemenki rogača koristi se i za proizvodnju dijetetskih i bezglutenskih proizvoda, a služi i kao zamjena za kakao i kavu te u različitim napitcima. Rogać je prirodni visokovrijedni sastojak koji može služiti u razvoju funkcionalne hrane (Papaefstarhiou i sur., 2018).

## **2.5. KISELO TIJESTO**

Kiseljenje tijesta jedno je od nastrarijih metoda proizvodnje kruha, a koristi se i danas, radi pozitivnog djelovanja na njegovu prehrambenu vrijednost, senzorska svojstva i trajnost. Kiselo tijesto je smjesa brašna i vode fermentirana pomoću bakterija mliječne kiseline (BMK) i kvasaca (Ramos i sur., 2021). Pritom su bakterije mliječne kiseline odgovorne za samu fermentaciju, odnosno za kemijske, metaboličke i enzimске promjene, dok kvasci proizvode ugljikov dioksid te pridonose sintezi metabolita odgovornih za specifičnu aromu i okus fermentiranih proizvoda (Ramos i sur., 2021). Nekoliko je rodova Bakterija mliječnih kiselina prisutno u kiselom tijestu – *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Weissella*, *Enterococcus* i *Streptococcus*, pri čemu su bakterije iz roda *Lactobacillus* najzastupljenije (De

Vuyst i sur., 2009). Najzastupljeniji rodovi kvasaca su *Saccharomyces cerevisie*, *Kazachstania exigua* i *Candida humilis* (De Vuyst i sur., 2009).

Kiselo tijesto moguće je proizvesti spontanom fermentacijom djelovanjem mikroorganizama prirodno prisutnih u žitaricama, ili pak dodatkom izoliranih bakterija mliječne kiseline i kvasaca. Komercijalno dostupne starter kulture za proizvodnju kiselog tijesta su u pravilu namijenjene za brašna s glutenom, stoga pri proizvodnji kiselog tijesta od bezglutenskog brašna je bitno pravilno odabrati kulture mikroorganizama koje će imati pozitivan učinak na svojstva kiselog tijesta i gotovog proizvoda (Bender i sur., 2017). Prilikom razvoja kiselog tijesta važno je kontrolirati tehnološke faktore koji utječu na sami razvoj tijesta i kvalitetu finalnog proizvoda. Neke tehnološke faktore nije moguće kontrolirati kao što su biokemijski sastav sirovina te mikrobiota prisutna tijekom proizvodnog procesa (Ramos i sur., 2021). Većinu je faktora, ipak, moguće kontrolirati, a to su tip kiselog tijesta, temperatura fermentacije, prinos tijesta, pH kiselog tijesta, dodatni izvori nutrijenata, 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).

Uslijed metaboličke aktivnosti bakterija mliječne kiseline proizvode se octena i mliječna kiselina, a one uzrokuju smanjenje pH vrijednosti u područje oko 4, pri čemu dolazi do pojačane enzimatske aktivnosti (De Vuyst i sur., 2009). Enzimi koji su prirodno prisutni i postaju aktivniji u tom području pH su amilaza, hemicelulaza te proteaza. Kiseline koje nastaju prilikom fermentacije direktno utječu na kvalitetu kiselog tijesta, kao i na kvalitetu finalnog proizvoda. Zakiseljavanje tijesta i povećana aktivnost enzima zaslužni su za usporeno starenje kruha. Također, radi mikrobiološke i enzimske aktivnosti može doći do smanjenja glikemijskog indeksa i probavljivosti škroba, povećanja topljivosti vlakana, iskoristivosti minerala te povećanja dostupnosti vitamina, antioksidanasa, sterola i fenolnih spojeva (De Vuyst i sur., 2009).

Osim nutritivnih poboljšanja koji nastaju kiseljenjem tijesta, ono ima dobrobiti i u tehnološkom aspektu. Za prednosti u tehnološkom smislu zaslužne su bakterije mliječne kiseline koje mogu sintetizirati egzopolisaharide, dugolančane ugljikovodične spojeve koji se u prehrambenoj industriji mogu upotrebljavati umjesto hidrokoloida. Prilikom odabira kulture za razvoj kiselog tijesta potrebno je birati one sojeve bakterija koje su prirodno prisutne unutar izvorne mikrobiote te se mogu brzo prilagoditi sustavu, omogućuju brzo zakiseljavanje tijesta i sveukupno imaju pozitivan učinak na kvalitetu proizvoda. Upotrebom starter kultura moguće je kontrolirati skupine mikroorganizama čiji se razvoj u kiselom tijestu želi potaknuti, zato je poželjno odabrati soj koji je prisutan u endogenoj mikrobioti bezglutenskog kiselog tijesta i ima sposobnost sinteze egzopolisaharida. Iako se tehnološka svojstva kruha mogu poboljšati

kontroliranjem sojeva bakterija, temperaturom i vremenom fermentacije, sami proces kiseljenja tijesta ukoliko se upotrijebi optimalni soj bakterija mliječne kiselina poboljšava kvalitetu kruha, a uz to može i zadovoljiti potrebe potrošača koji teže za prirodnim proizvodima bez aditiva (Bender i sur., 2018).



## **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### **3.1. MATERIJALI**

#### 3.1.1. Sirovine

Za izradu bezglutenskog kruha korišteno je bijelo kukuruzno brašno (OPG Danijel Sinković, Hrvatska), rižino brašno integralno (Nutrigold, Bugarska), proseno brašno (BEZGLUTEN Sp. z.o.o., Poljska), prosene posije (Mlinopek d.d., Slovenija), brašno sjemenki rogača, mljeveni rogač (Šafram d.o.o., Hrvatska), bijeli konzumni šećer (Viro d.o.o., Hrvatska), kuhinjska sol (Solana Pag, Hrvatska), instant suhi pekarski kvasac di-go (Kvasac d.o.o., Hrvatska), rafinirano suncokretovo ulje (Zvijezda plus d.o.o., Hrvatska), soda bikarbona (Franck, Hrvatska) te vodovodna voda.

#### 3.1.2. Uzorci

U ovom radu analizirane su 4 vrste bezglutenskog tankog kruha, čije se recepture međusobno razlikuju u sastojcima te njihovim omjerima. Recepture kruhova prikazane su u tablici 1.

### **3.2. METODE RADA**

#### 3.2.1. Postupak izrade kruha

Za pripremu zamjesa i za pečenje bezglutenskog kruha korištena je sljedeća oprema i pribor:-

Plastične posude

- Plastične špatule
- Metalne žlice
- Stakleni štapić
- Laboratorijska čaša od 150 mL
- Graduirane menzure od 50, 100, 250 i 1000 mL
- Metalni plehovi
- Stolni mikser ProfiMixx 44 (Robert Bpsch GmbH, Njemačka)
- Kuhalo za vodu
- Klima komora HPP110 (Memmert GmbH, Njemačka)
- Okrugli metalni kalupi za kruh promjera 15 cm
- Fermentacijska komora Typ: GS1 ED60/40 0600\_A-BJDBA (WIESHEU Wolfen)

Kruhovi su rađeni prema recepturama navedenima u tablici 1.

**Tablica 1.** Recepture za proizvodnju bezglutenskog tankog kruha (% na masu brašna)

SIROVINA	VP_11	VP_22	VP_33	VP_44*
Kukuruzno tijesto (od čega kukuruzno brašno)	99,5 (45)	99,5 (45)	105 (50)	99,5 (45)
Rižino brašno	45	45	50	45
Prosene posije	5,25	5,25	-	5,25
Proseno brašno	2,17	2,17	-	2,17
Mljeveni rogač	-	2,58	-	2,58
Brašno sjemenki rogača	2,58	-	-	-
Voda	115	110	110	110
Soda bikarbona	0,66	0,66	0,66	0,66
Sol	1,5	1,5	1,5	1,5
Ulje	1	1	1	1
Kvasac	1,3	1,3	1,3	1,3
Šećer	5,1	5,1	5,1	5,1

\*receptura s kiselim tijestom

Mase sastojaka izražene su u gramima (g), a postotci sastojaka izraženi su na ukupnu masu brašna. Postupak izrade kruha jednak je za sve recepture.

Dan prije zamjesa potrebno je izraditi kukuruzno tijesto na način da se kukuruzno brašno prelije se kipućom vodom i to u omjeru 1:1,1, te potom miksa tijekom 3 minute. Pripremljeno tijesto se ostavlja na sobnoj temperaturi 10 minuta nakon, do postizanja temperature tijesta < 42 °C, te se omata u plastičnu foliju i čuva u frižideru do sljedećeg dana. Također, kiselo se tijesto priprema dan prije zamjesa kruha. Na fermentaciju se stavlja mješavina brašna prosenih posija (52,5 %), prosenog brašna (21,7 %) i mljevenog rogača (25,8 %) sa dodatkom starter kulture bakterija mliječne kiseline *Limosilactobacillus fermentum* u količini 10<sup>7</sup> CFU po gramu kiselog tijesta i kvasca *Kluyveromyces marxianus* u količini 10<sup>5</sup> CFU po gramu kiselog tijesta; pri čemu prinos tijesta iznosi 400 g (1:3). Kiseljenje se odvija u klima komori pri 35 °C tijekom 6 sati (do postizanja pH = 4,1), nakon čega se kiselo tijesto čuva u hladnjaku na 4-8 °C tijekom noći. Rižino brašno, kukuruzno tijesto, prosene posije, proseno brašno, rogač i voda ili kiselo tijesto, miješaju se kuhinjskim mikserom 20 minuta, a u drugoj fazi miješanja se dodaju ostali sastojci navedeni u tablici 1 te ta faza miješanja traje još 20 minuta. Kvasac je potrebno aktivirati prije dodavanja u zamjes, sa 30 mL vode i 0,1 % ukupne količine dodanog šećera, stavljanjem u fermentacijsku komoru na 35 °C i relativnoj vlažnosti zraka 85%. Sol se dodaje dvije minute prije završetka zamjesa, kako sol ne bi narušila aktivnost kvasca. Po završetku miješanja, tijesto se raspodjeljuje u metalne kalupe promjera

15 cm koji su prethodno nauljeni. Masa tijesta koja se stavlja u kalupe je 120 g. Zatim se tijesto stavlja na fermentaciju 1 h u fermentacijskoj komori pri 35 °C i relativnoj vlažnosti zraka 85 %. Nakon fermentacije, slijedi pečenje kruha u dvije faze na 280 °C i to na način da se kruh nakon umetanja u pećnicu peče 3,5 minute, izvadi iz pećnice, okrene te vrati u pećnicu još 2,5 minute. Nakon završenog pečenja, kruh se vadi iz pećnice te se hladi na metalnim perforiranim pladnjevima, tijekom 1 sata. Kruhovi se spremaju u plastične vrećice od PA/PE plastike pomoću stroja za vakuum pakiranje te su tako zapakirani držani u klima komori na 23 °C i 30 % Rh.

### 3.2.2. Određivanje kemijskih svojstava kruha

Pečeni uzorci kruha podvrgavaju sušenju, te su nakon sušenja samljeveni i na tako samljevenim uzorcima su provedene kemijske analize. Određen je udio vode, udio lipida, udio pepela, udio proteina, sastav prehrambenih vlakana te sadržaj fruktana. Kemijska su svojstva određena na svim uzorcima bezglutenskog kruha.

#### 3.2.2.1. Određivanje udjela vode

Oprema i uređaji:

- eksikator sa silikagelom
- metalne zdjelice s poklopcem
- sušionik (Instrumentaria ST-01/02, Hrvatska)
- kuhinjski mlinac (AD443, Adler, Poljska)
- mlin na kojem su samljeveni uzorci prije analiza
- analitička vaga (ALS 220-4N, Kern & Sohn GmbH, Njemačka)

Udio vode izračunat je u sva četiri uzorka tankog kruha. Udio vode određen je prema standardnoj metodi AACC 44-15A. Svaki unaprijed samljeveni uzorak vagan je u metalnu zdjelicu, u količini od 4 grama. Mjerenja su provedena u dvije paralele. Uzorci su stavljeni u sušionik tijekom 90 min, na temperaturi 130 °C. Nakon provedenog sušenja, metalne zdjelice sa poklopicima se stavljaju u eksikator sa silikagelom do hlađenja na sobnu temperaturu. Nakon hlađenja, zdjelice s uzorkom važu se na analitičkoj vagi. Udio vode izračunava se iz razlike mase uzorka prije i nakon sušenja. Udio vode računa se prema sljedećoj formuli:

$$\text{Ukupna količina vode (\%)} = A + \frac{(100-A)xB}{100} \quad [1]$$

gdje je:

A - postotak vode dobiven zračnim sušenjem

B – postotak vode dobiven sušenjem u sušnici.

### 3.2.2.2. Određivanje udjela lipida

Uređaji i pribor:

- Laboratorijske čaše, 400 mL
- Graduirana menzura, 100 mL
- Lijevak
- Uređaj po Soxhletu s električnom grijačom pločom
- hladilo i ekstraktor
- tikvica s okruglim dnom, 250 mL - Filter papir, promjera 20-25 cm
- Stakleni štapić
- Satno staklo
- Analitička vaga (ALS 220-4N, Kern & Sohn GmbH, Njemačka)
- Staklene kuglice za vrenje

Reagensi:

- Petroleter, 40-65 % (Carlo Erba, Francuska)

Za određivanje udjela masti u uzorcima tankog kruha korištena je standardna metoda za određivanje udjela masti HRN ISO 6492:2001 (HRN ISO, 2001). Za svaki od uzoraka provedena su dva mjerenja. Usitnjeni uzorak važe se u papirnatu čahuru za ekstrakciju te se ekstrahira pomoću petroletera u aparaturi po Soxletu tijekom 6 sati. Nakon ekstrakcije petroleter je odstranjen izljevanjem petroletera iz ekstraktora kad se napuni; postupak se ponavlja dok u tikvici nije ostalo oko 0,5-1 mL petroletera koji se onda odpario još kratkim zagrijavanjem same tikvice koja nije bila spojena na aparaturu. Tikvica s ekstraktom se suši u sušioniku pri 105 °C do konstantne mase, hladi u eksikatoru do sobne temperature i važe.

Udjel masti izračunat je prema formuli 2.

$$\text{Udjel masti (\%)} = \frac{(m_1 - m_2) * 100}{m_0} \quad [2]$$

gdje je:  $m_0$  – masa uzorka (g),

$m_1$  – masa tikvice s ekstraktom (g),

$m_2$  – masa prazne tikvice (g).

### 3.2.2.3. Određivanje udjela pepela

Uređaji i pribor:

- Keramičke posudice za spaljivanje
- Eksikator sa silikagelom
- Analitička vaga (ALS 220-4N, Kern & Sohn GmbH, Njemačka)
- Mufolna peć (Heraeus, KR-170)

Udio pepela u uzorcima tankog bezglutenskog kruha određen je prema standardnoj metodi HRN ISO 2171:2010 (HRN ISO, 2010). Prethodno pripremljeni usitnjeni uzorak kruha izvagan

je u količini od 3-5 g u prethodnu izarenu, ohlađenu i izvaganu keramičku posudicu za spaljivanje. Keramička posudica je zatim s uzorkom prenesena u mufolnu peć (prethodnu zagrijanu na 550 °C) na spaljivanje. Spaljivanje je provedeno do postizanja svijetlo sivog pepela. Uzorak je prvo hlađen preko noći u mufolnoj peći, a sljedeći dan je posudica s uzorkom je stavljena u eksikator na hlađenje, do hlađenja na sobnu temperaturu i zatim je izvagana na analitičkoj vagi.

Udjel pepela izračunat je prema jednadžbi 3.

$$\text{Udjel pepela (\%)} = \frac{\text{masa pepela (g)}}{\text{masa uzorka (g)}} * 100 \quad [3]$$

#### 3.2.2.4. Određivanje udjela proteina

Oprema i uređaji:

- analitička vaga (ALS 220-4N, Kern & Sohn GmbH, Njemačka)
- uređaj za mineralizaciju-blok za spaljivanje
- uređaj za destilaciju
- pipeta
- Erlenmayerove tikvice od 250 mL
- dispnzeta za koncentriranu sumpornu kiselinu
- dispnzeta za bornu kiselinu
- menzura od 100 mL
- bireta

Reagensi:

- koncentrirana H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- 40 %-tna otopina NaOH
- 4 %-tna otopina H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>
- katalizator: Kjeldahl-ove kivete za mineralizaciju (Merck, Njemačka)
- 0,1 N titrival HCl
- obojeni indikatori (metil-crveno i bromkrezol zeleno)

Sadržaj proteina određen je u svim uzorcima tankog kruha. Određen je standardnom metodom po Kjeldahlu, AACC Method 46-12. Izvagano je 1 g uzorka i preseno u označenu Kjeldahl-ovu kivetu za mineralizaciju koje sadrže kalijev sulfat koji povećava temperaturu vrelišta kiseline iznad 300 °C. Mineralizacijom dolazi do razgradnje organske tvari i otpuštanja dušika u obliku amonijevog sulfata. U kivetu se zatim dodaje jedna tableta Kjeldahl katalizatora i 12 mL konc. sumporne kiseline te se miješa dok se sva količina uzorka navlaži s kiselinom. Kivete se nakon toga stavljaju u digestijsku jedinicu za mineralizaciju i oblože se aluminijskom folijom koja služi kao izolator. Uzorci se u digestijskoj jedinici zagrijavaju postepeno, a ukupno trajanje oko 1,5 h. Nakon završene mineralizacije kivete se hlade do

sobne temperature. Nakon hlađenja, u kivete se dodaje 75 mL destilirane vode te se potom provodi destilacija. U uređaj za destilaciju, se stavlja Erlenmayerova tikvica s 25 mL borne kiseline i podigne u gornji položaj tako da je destilacijska cjevčica uronjena u otopinu. Kjeldahl-ova kiveta stavi se na svoje mjesto, pričvrsti se te se zatvore sigurnosna vratašca. Uzorku se dodaje lužina kako bi dušik iz amonijevog sulfata prešao u amonijak. Prilikom destilacije, uzorak se zagrijava, amonijak reagira s bornom kiselinom pri čemu nastaje amonijev borat. Nakon destilacije, uzorak u tikvici titriran je s 0,1 N HCl, pri čemu je promjena boje uzorka u narančasto-crvenu označila kraj same titracije. Titracijom sa kloridnom kiselinom, amonijev borat prelazi u amonijev klorid pri čemu se ponovno oslobađa borna kiselina i time do spuštanja pH-vrijednosti otopine i promjene boje. Potrošeni volumen HCl je zapisan i korišten za izračun udjela proteina. Isti postupak je ponovljen i sa slijepom probom koja je sadržavala sve osim uzorka.

Udjel dušika korišten za račun je 6,25, a postotak proteina je izračunat prema formuli 4.

$$\% \text{ proteina} = \% \text{N} * 6,25 \quad [4]$$

gdje je:

N=udio dušika

#### 3.2.2.5. *Određivanje sastava prehrambenih vlakana*

Sastav prehrambenih vlakana određen je prema standardnoj metodi AOAC 2011.25. Određena su netopljiva vlakna (IDF), vlakna topljiva u vodi i netopljiva u 78 %-tnom etanolu velike molekulske mase (SDFP) i vlakna topljiva u vodi male molekulske mase (SDFS) na HPLC-u.

Za svaki uzorak bezglutenskog kruha vlakna su određena u dvije paralele.

Oprema i uređaji:

- Duran boce s čepom (500 mL i 1L)
- Staklene čaše
- Boca štrcaljka
- Okrugle tikvice s ravnim dnom
- Stakleni filter lončići (Schott, Duran, Danska) (50 mL, veličina pora 40-60 μm)
- Automatske pipete (50 - 200 μm i 5 ml) (Eppendorf, Njemačka)
- Magnetska miješalica (JK Werke IKA, Njemačka) i magneti
- pH metar (3510 Jenway, UK)
- Izvor vakuuma
- Aparatura za filtraciju (odsisne boce s gumenim čepom i lijevkom za filtraciju)
- Sušionik (Instrumentaria ST/01-02, Hrvatska)

- Rotavapor (Hei-VAP Core, Heidolph, Njemačka) - Polipropilenske posudice - Kolone za deionizaciju (J.T. Baker, SAD)
- Mufolna peć (Heraeus, KR-170)
- Falcon epruvete
- Šprice od 5 mL
- Syringe filteri veličine pora 0,45 µm (LAB-EX Labortrading LTD., Mađarska) 23
- Vijale za HPLC (2 mL)
- HPLC uređaj (Shimadzu LC-10AD VP, Shimadzu, Japan)
- Eksikator sa silikagelom
- Vodena kupelj s tresilicom (SBS40, Stuart, UK)
- Analitička vaga (ALS 220-4N, Kern & Sohn GmbH, Njemačka)

#### Reagensi:

- Enzimski set za određivanje vlakana K-INTDF 03/11 (Megazyme, Irska)
- Etanol, (Carlo Erba, Italija) 78 % i 95 %
- Aceton (Gram-mol d.o.o., Hrvatska)
- Celit (Megazyme, Irska)
- Natrij-maleatni pufer, 50 mM, pH=6, s 2 mM kalcijevog klorida (CaCl<sub>2</sub>)
- Otopina pankreasne α-amilaze (50 jedinica/mL) i amiloglukozidaze (AMG) (3,4 jedinice/mL)
- Trisma Base (Sigma cat. no. T-1503), 0,75 M
- Octena kiselina, 2 M
- Deionizirana voda s Na<sub>2</sub>CaEDTA
- D-glukoza (Megazyme, Irska)
- D-sorbitol (Megazyme, Irska)

#### 3.2.2.5.1. Priprema uzoraka

Za pripremu uzoraka potrebno je iste odvagati u dvije paralele. Važe se 1 g samljevenog uzorka te se uzorak prebacuje u Duran boce s čepom. Zatim se uzorak navlaži s 1 mL 95 %-tnog etanola. Zatim se u bocu doda 40 mL maleatnog pufera koji sadrži pankreasnu α-amilazu i amiloglukozidazu. Boce s uzorkom se zatim inkubiraju 16 h u vodenoj kupelji uz trešnju na temperaturi od 37 °C. Potom se otpipetira 3 mL trizma bazične otopine i sadržaj u boci se lagano promućka. Boce se potom stavljaju u vodenu kupelj pri temperaturi 95 - 100 °C, na 20 minuta. Zatim se boce hlade na temperaturu od 60 °C. U bocu se potom dodaje 100 µL otopine proteaze, promućka i inkubira u vodenoj kupelji uz trešnju 30 min na 60 °C. Na kraju se u uzorak dodaje 4 mL 2 M octene kiseline i 1 mL internog standarda D-sorbitola. D-sorbitol se dodaje kako bi mogli kvantificirati uzorak na HPLC analizi.

#### 3.2.2.5.2. *Određivanje netopljivih vlakana*

Kako bi se odredila netopljiva vlakna, lončić sa celitom postavlja se na aparaturu za filtraciju pod tlakom koji se namoči s 15 mL 78 %-tnog etanola. Potom se filtrira otopina uzorka i enzima, uz ispiranje destiliranom vodom zagrijanom na 60 °C. Sakupljeni se filtrat čuva za određivanje topljivih vlakana. Filtrat zadržan na lončiću se ispire sa po dvije porcije od 15 mL 78 %-tnog etanola, 95 %-tnog etanola i acetona. Zatim se lončići, prekriveni alu-folijom, suše preko noći na 105 °C. Nakon hlađenja, lončići se važu te se pomoću mase izračuna udjel netopljivih vlakana velike molekulske mase (IDF).

#### 3.2.2.5.3. *Određivanje topljivih vlakana velike molekulske mase*

Kako bi se odredila topljiva vlakna velike molekulske mase (SDFP) potrebno je zagrijati 70 mL filtrata iz poglavlja 3.6.2.5.3. na 60 °C te dodati 340 mL 95 %-tnog etanola, također zagrijanog na 60 °C, te dobro promiješati otopinu. Zatim se otopina taloži 60 min na sobnoj temperaturi. Otopina se filtrira istim postupkom kao i za netopljiva vlakna (postupak opisan u prethodnom poglavlju). Jedina razlika je u tome što se sadržaj boce kvantitativno prenese za 78 %-tnim etanolom. Ovaj se filtrat čuva za određivanje topljivih vlakana male molekulske mase (SDFS). Ostatak na lončiću se osuši i korigira za određivanje udjela proteina i pepela na isti način kao i kod postupka određivanja netopljivih vlakana.

#### 3.2.2.5.4. *Određivanje vlakana male molekulske mase*

Kako bi se odredio sadržaj vlakana male molekulske mase, potrebno je prenijeti oko 350 mL filtrata u tikvicu za otparavanje od 500 mL te otpariti sadržaj do suha na rotavaporu pod vakuumom na temperaturi 60 °C. Nakon otparavanja, tikvica se ispere sa 5 mL deionizirane vode i okreće se oko 2 min dok se ne otopi sav sadržaj. Ta se otopina prenese u polipropilensku bočicu s čepom od 20 mL i čuva se do daljne analize. Ovakav je uzorak potrebno deionizirati i to na način da se 2 mL otopine prenese na kolonu za deionizaciju s kationskim i anionskim (Amberlite i Ambersep) smolama koje se moraju dobro izmiješati prije postupka. Protok na kolonama potrebno je namjestiti na brzinu 1 mL/min, odnosno 1 kap u 3 sekunde. Kolona se ispire sa 20 mL deionizirane vode i eluira istom brzinom. Zatim se eluat upari do suha na rotavaporu pod vakuumom na 60 °C. Kad se uzorak otpari do suha, u tikvicu se doda 2 mL deionizirane vode i vrti se 2 min dok se sadržaj ne otopi u vodi. Otopina se zatim prenese u polipropilensku posudu za čuvanje do analize. Ta se otopina zatim filtrira preko šprice preko 0,45 µm filtera, kako bi uzorak bio dobre čistoće za naknadnu HPLC analizu. Mobilnu fazu za HPLC analizu čini otopina Na<sub>2</sub>Ca-EDTA u vodi koncentracije 50 mg/L. Protok mobilne faze iznosi 0,5 mL/min. Temperatura kolone iznosi 80 °C, a vrijeme propuštanja uzorka kroz kolonu je 30 min.

Udio netopljivih vlakana (IDF) i vlakana topljivih u vodi i netopljivih u 78 %-tnom etanolu na



temelju faktora odgovora i površine pikova dobivenih HPLC-analizom računa se pomoću Megazyme Mega-Calc-Data kalkulatora.( K-TSTA-100A)

### 3.2.2.6. *Određivanje sadržaja fruktana*

Sadržaj fruktana određivan je u mljevenom rogaču (Šafram d.o.o., Hrvatska) i u brašnu sjemenki rogača. Sadržaj fruktana određen je standardnom metodom AOAC Method 999.03.

Oprema i uređaji:

- Staklene epruvete 16x100 mm
- Velike epruvete 255x150 mm sa čepom
- Automatska pipeta
- Analitička vaga (ALS 220-4N, Kern & Sohn GmbH, Njemačka)
- Centrifuga
- Vortex
- Vodena kupelj (SBS40, Stuart, UK)
- Ključajuća vodena kupelj
- Rashladna vodena kupelj s ledom
- Centrifuga
- Kivete za centrifugu
- Štoperica
- Parafilm

Reagensi:

- kit za fruktane (sadrži standarde i enzimске otopine) (Megazyme, Irska)
- Na-maleatni pufer (100 mM, pH 6,5)
- Na-acetatni pufer (100 mM, pH 4,5)
- Otopina A (Priprema: 10 g hidrazida p-hidroksibenzojeve kiseline dodati u 60 ml vode i miješati na magnetskoj mješalici. Otopini dodati 10 ml koncentrirane HCl. Podesiti volumen na 200 mL destiliranom vodom.)
- Otopina B (Priprema: U 500 ml destilirane vode otopiti 24.9 g trinatrij citrata dihidrata. Dodati 2.2 g kalcij klorid dihidrata. Zatim dodati 40.0 g NaOH i otopiti uz miješanje. Dopuniti destiliranom vodom do 2l).
- Natrij hidroksid (50 mM)
- Alkalni borohidrid (10 mg/mL)
- Octena kiselina (200 mM)

#### 3.2.2.6.1. *Ekstrakcija fruktana*

U epruvetu se izvaže 400 mg uzorka te se dodaje 25 mL destilirane vode. Epruvete se zatim začepu i stavljaju u ključajuću kupelj na ukupno 10 min nakon čega se hlade na sobnu

temperaturu. 2 mL uzorka se centrifugira na 13 000 okr/min, 5 min. Osim uzoraka, istom postupku podliježu i standardi inulin, levan i saharoza te ih se tretira kao uzorke.

#### *3.2.2.6.2. Uklanjanje saharoze, škroba i šećera*

U staklenu epruvetu otpipetira se 0,2 mL supernatanta (nakon centrifugiranja) i dodaje 0,2 mL enzimske otopine A. Provodi se inkubacija u vodenoj kupelji na 30 °C kroz 30 min. U istu epruvetu se zatim dodaje 0,2 mL otopine alkalnog borohidrida, epruveta se snažno promućka i prekrije parafilmom. Slijedi inkubacija na 40 °C kroz 30 min. Nakon toga se u epruvetu dodaje 0,5 mL 200 mM octene kiseline te se ta otopina vorteksira. Dobivena otopina naziva se „Otopina S“.

#### *3.2.2.6.3. Hidroliza i mjerenje fruktana*

U 3 plastične epruvete otpipetira se po 0,2 mL alikvota „Otopine S“, nakon čega se u 2 od 3 epruvete dodaje 0,1 mL enzimske otopine B (uzorci), dok se u treću epruvetu dodaje 0,1 mL pufera 2 (slijepa proba; „Sample blank“). Zatim se epruvete, pokrivene parafilmom, inkubiraju na 40 °C kroz 30 min. Za vrijeme inkubacije potrebno je pripremiti kontrolne otopine: slijepu probu („Reagent blank“) i D-fruktoza kontrolu. Za pripremu „Reagent blank“ pomiješa se 0,3 mL pufera 2 i 5 mL PAHBAH radnog reagensa. Za pripremu D-fruktoza kontrole pomiješa se 0,2 mL D-fruktoza standardne otopine (bočica 6) i 0,9 mL pufera 2. Dobivena otopina podijeli se na 4 alikvota po 0,2 mL u koje se doda 0,1 mL pufera 2 i 5 mL PAHBAH radnog reagensa (neposredno prije inkubacije skupa s uzorcima). Po 5 mL PAHBAH radnog reagensa dodaje se u sve epruvete: uzorke (uključujući kontrole inulin i levan), slijepu probu („Sample bank“) te kontrolne otopine: slijepu probu („Reagent blank“) i D-fruktoza standard te se provodi inkubacija točno 6 min u vrijućoj vodenoj kupelji. Nakon 6 min, epruvete se izvade iz kupelji te uranjaju u ledenu vodenu kupelj oko 5 min da se ohlade, odnosno da se zaustavi kemijska reakcija. Slijedeći korak jest mjerenje apsorbancije na 410 nm, uz slijepu probu („Reagent blank“). Za izračun udjela fruktana u uzorcima na temelju izmjerenih apsorbancija korišten je Megazyme Mega-Calc™ kalkulator.

### **3.2.3. Određivanje fizikalnih svojstava kruha**

Svježe pečenim uzorcima kruha VP\_11 i VP\_22 su mjerene masa i gubitak mase tijekom sušenja te dimenzije i volumen. Također, uzorcima kruha VP\_11 i VP\_22 procijenjen je rok trajnosti na temelju određivanja teksture teksturometrom i senzorske analize prihvatljivosti tijekom 72 sata.

#### *3.2.3.1. Mjerenje mase i gubitka vode*

Masa tijesta prije pečenja iznosila je 120 g. Masa pečenog kruha mjerena je 1 h nakon završetka pečenja. Masa je mjerena na preciznoj vagi 0,01g PLB 2000-2 (KERN & Sohn

GmbH, Njemačka), Gubitak mase vode izračunat je kao omjer razlike mase tijesta prije pečenja i mase kruha nakon pečenja, pomnožen sa 100 i izražen kao postotak prema formuli 5:

$$GV = \frac{m(smjese) - m(kruha)}{m(smjese)} \times 100 \quad [[5]$$

### 3.2.3.2. Mjerenje dimenzija kruha

Nakon pečenja i hlađenja pri sobnoj temperaturi, kruhovima su kaliperom mjerene dimenzije: promjer i visina. Svaka se dimenzija mjerila na 6 mjesta te je za izračun korištena aritmetička sredina određene dimenzije. Pomoću navedenih dimenzija računat oblik kruha prema formuli:

$$O = \frac{d}{v} \quad [6]$$

gdje je:

O = oblik kruha

d = promjer kruha

v = visina kruha

### 3.2.3.3. Mjerenje volumena kruha

Mjerenje volumena kruha provedeno je prema standardnoj metodi (AACC 10-05.01, 2000), koristeći uljanu repicu. Volumen je mjereno na uzorcima VP\_11 i VP\_22. Prije mjerenja aparatura za mjerenje volumena baždarena na način da je spremnik sa zatvorenim ispusnim otvorom napunjen uljanom repicom, dok je ispod njega postavljen prihvatni spremnik. Uljana se repica ispušta iz gornjeg spremnika u donji kroz otvor veličine određene prije mjerenja. Kako bi nasipna gustoća tijekom mjerenja bila konstantna, repica je pri svakom mjerenju puštana kroz otvor jednake veličine. Količina repice koja je ispunila prihvatni spremnik se koristila za daljnja mjerenja, a ostatak je uklonjen iz aparature. Za mjerenje volumena kruha je iz gornjeg spremnika puštena repica volumena koji je jednak volumenu prihvatnog spremnika. Kada repica pokrije dno prihvatnog spremnika, kruh čiji se volumen mjeri je položen u spremnik i ostatak repice u potpunosti ispuni prihvatni spremnik. Višak repice, odnosno repica koja više ne stane u spremnik predstavlja volumen kruha koji je zauzeo prostor u prihvatnom 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 mjereno bezglutenski kruh. Specifični volumen izračunat je kao omjer volumena i mase bezglutenskog kruha, prema formuli:

$$v = \frac{V}{m} \quad [7]$$

gdje je:

v = specifični volumen kruha [cm<sup>3</sup>/g]

V = volumen kruha [cm<sup>3</sup>]

m = masa kruha [g]

#### 3.2.3.4. Mjerenje teksture kruha i određivanje starosti

Za analizu teksture kruha provoden 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. Parametri koji su mjereni jesu tvrdoća (N), kohezivnost, žvakljivost (Nmm) i elastičnost. Starenje kruha određivano je mjerenjem navedenih parametara tijekom 72 sata. Uzorci kruha uzimani su na način da je kruh bio rezan okruglim kalupom promjera 3,5 cm. Mjerenja su provedena 2, 4, 20, 24, 48 i 72 sata nakon pečenja kruha, u 6 paralelnih mjerenja. Za svako mjerenje upotrebljavana su dva kružna uzorka, koja su bila postavljena jedan na drugi ispod sonde teksturometra promjera 5,5 cm. Sonda pritišće uzorak do 50 % visine tankog kruha brzinom od 2 mm s<sup>-1</sup> dva puta, s razmakom od 30 s između svake kompresije.

#### 3.2.4. Senzorske analize

U ovome su radu odrađene dvije senzorske analize uzoraka bezglutenskog tankog kruha. Uzorcima kruha VP\_11 i VP\_22 je ocijenjeno starenje kroz 72 sata deskriptivnom senzorskom analizom.

Sva 4 uzorka kruha su bila podvrgnuta hedonističkoj senzorskoj analizi kako bi se dobio stav potrošača o bezglutenskom tankom kruhu

##### 3.2.4.1. Senzorsko određivanje starenja kruha

Osim teksturometrom, starenje bezglutenskog kruha određivano je i senzorski. Senzorske analize su provedene u laboratoriju sa senzorsko ocjenjivanje na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Za ispitivanje senzorne percepcije starosti kruha korištena je standardna metoda AACC 74-30. Senzorski tim sačinjavalo je 16 educiranih senzoričara, 13 žena i 3 muškaraca starosti od 21-64 godine, djelatnika Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Uzorci su posluženi na plastičnim tanjurima, označeni brojevima, te su ocjenjivači u pojedinačnim kabinama u istim okolišnim uvjetima ocjenjivali uzorke. Ocjenjivači nisu ništa jeli ni pili, osim vode, do jedan sat prije ocjenjivanja uzoraka. Senzoričari su morali ocijeniti svježinu 4 uzorka kruha različite starosti, a iste recepture, s obzirom na osjećaj pod prstima, miris, aromu i teksturu u ustima. Ljestvica ocjena je sljedeća: 6 - vrlo svjež kruh; 5 - svjež kruh; 4 - neznatno svjež; 3 - neznatno star; 2 - star; 1 - star. Kruhovi su jedan sat nakon pečenja pakirani u plastične vrećice od PA/PE plastike pomoću stroja za vakuum pakiranje te su tako zapakirani spremni u klima komoru na 20 °C i čuvani do trenutka senzorske analize. Starost je određivana na

kruhovima koji su bili stari 72 h, 48 h, 24 h i 1h.

#### *3.2.4.2. Hedonistička senzorika*

Senzorska analiza provedena je prema standardnoj metodi ISO 6658:2017. Senzorska je analiza uključivala 42 sudionika, 34 žene i 8 muškaraca, u dobi od 21-64 godina. Uzorci su posluženi na plastičnim tanjurima, označeni brojevima, a ocjenjivači su u pojedinačnim kabinama u istim okolišnim uvjetima ocjenjivali uzorke. Ispitivači su koristili hedonističku ljestvicu od 9 stupnjeva, poznatu kao i ljestvica stupnja sviđanja, kako bi opisali u kojoj mjeri im se sviđa ili ne sviđa uzorak kruha. Ljestvica se kretala od stupnja 1 (izuzetno mi se ne sviđa) do 9 (izuzetno mi se sviđa).

#### *3.2.5. Statistička obrada podataka*

Za statističku obradu podataka korišteni su Microsoft Office Excel 2016). Za izradu grafičkih prikaza rezultata korišten je Microsoft Office Excel 2016. Svako je mjerenje provedeno minimalno dva puta, stoga su rezultati mjerenja izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je nutritivno obogatiti bezglutenski tanki kruh na bazi integralnog rižinog brašna i kukuruznog brašna dodavanjem prosenog brašna, prosenih posija, rogačevog brašna od mahune (u daljnjem tekstu 'MR') te brašna sjemenki rogača (u daljnjem tekstu 'SR') u recepturu za izradu tankog bezglutenskog kruha. Osim poboljšanja nutritivnog statusa cilj je bio i ispitati utjecaj ova dva brašna (MR i SR) na fizikalna svojstva bezglutenskog kruha (u daljnjem tekstu TBH) te mu produljiti rok trajnosti.

U ovom poglavlju su prikazani rezultati kemijske i hedonističke senzorske analize 4 uzorka bezglutenskog tankog kruha rađenih po različitim recepturama (Tablica 2). Također su prikazani rezultati određivanja fizikalnih svojstava kruha, odnosno gubitak vode tijekom pečenja, dimenzije i volumen kruha i rezultati mjerenja teksture, te rezultati deskriptivne senzorske analize starenja TBH kroz 72 sata gdje je prikazano starenje u ovisnosti o dodatku MR i SR u recepturu.

Svako je mjerenje provedeno u najmanje dvije paralele te su rezultati statistički obrađeni.

### 4.1. KEMIJSKI SASTAV BEZGLUTENSKOG TANKOG KRUHA

**Tablica 2.** Kemijski sastav bezglutenskog kruha. Svi rezultati su prikazani kao srednja vrijednost dva paralelna mjerenja  $\pm$  standardna devijacija

g/100 g uzorka	VP_11	VP_22	VP_33	VP_44
<b>Vlaga</b>	39,3 $\pm$ 0,4	34,5 $\pm$ 0,3	33,8 $\pm$ 0,4	33,8 $\pm$ 0,00
<b>Lipidi</b>	2,07 $\pm$ 0,00	2,10 $\pm$ 0,05	2,37 $\pm$ 0,06	2,09 $\pm$ 0,05
<b>Pepeli</b>	2,51 $\pm$ 0,06	2,70 $\pm$ 0,11	2,39 $\pm$ 0,00	2,68 $\pm$ 0,03
<b>Proteini</b>	9,37 $\pm$ 0,12	9,47 $\pm$ 0,07	9,14 $\pm$ 0,01	9,53 $\pm$ 0,22
<b>Ugljikohidrati</b>	34,09	43,25	48,44	47,39
<b>Netopiva vlakna</b>	5,01 $\pm$ 0,19	5,40 $\pm$ 0,76	2,89 $\pm$ 0,08	5,44 $\pm$ 0,08
<b>Topljiva vlakna velike m. mase</b>	2,39 $\pm$ 0,05	1,21 $\pm$ 0,26	0,80 $\pm$ 0,08	0,49 $\pm$ 0,10
<b>Topljiva vlakna male m. mase</b>	8,80 $\pm$ 0,01	5,34 $\pm$ 0,04	4,12 $\pm$ 0,40	2,06 $\pm$ 0,00

Udio vlage u uzorcima TBH kreće se 33,8-39,3 g/100 g uzorka. Uzorci VP\_33 i VP\_44 imaju

jednaku vrijednost količine vode. Najveći sadržaj vode u 100 g kruha ima uzorak koji je sadržavao brašno SR, VP\_11. Salinas i sur. (2015) ustanovili su da brašno sjemenki rogača ima veći utjecaj na reološka svojstva tijesta nego brašno mahune rogača. U njihovom istraživanju, dodatak 10 % brašna SR osnovnu recepturu za izradu kruha apsorbira vode je bila 64,4 %, a kod dodatka 10 % brašna MR 57,5 %. Time se povećala viskoznost tijesta i povećao udio vode u pečenom kruhu, a razlog tome je taj što su sjemenke rogača bogate gumom rogača koja se u prehrambenog industriji koristi kao zgušnjivač.

Najveću količinu lipida u 100 g kruha ima uzorak VP\_33, uzorak koji se sastojao samo od rižinog i kukuruznog brašna i nije sadržavao mješavinu prosenog brašna, posija i rogača. Kako je i očekivano, ostala tri uzorka međusobno se gotovo i ne razlikuju. Dodatkom prosa i rogača smanjuje se količina lipida u kruhu, odnosno kruh koji se izrađuje samo od kukuruznog i rižinog brašna ima najveći udio lipida. Literatura pokazuje kako su brašna rogača poželjna u proizvodnji zdrave hrane radi niskog sadržaja lipida te povoljnog omjera masnih kiselina. Rosa i sur. (2015) proveli su istraživanje, a cilj istraživanja je bio proizvesti bezglutenski kolač u kojemu je kakao prah zamijenjen rogačevim brašnom. Rogačevo brašno korišteno je radi niskog udjela masti, posebice u odnosu na udio masti u kakau te vrlo slična boja i okus. Rezultati su pokazali da kolač proizveden s rogačevim brašnom ima veći udio vode zbog prehrambenih vlakana koja odlično apsorbiraju vodu, nadalje veći udio prehrambenih vlakana, manji udio masti i ugljikohidrata pa tako i nižu kalorijsku vrijednost, dok su okus, miris i tekstura bili približno jednaki. S druge strane, kukuruzno brašno je sirovina koja je bogata lipidima, te se time može objasniti viši udio lipida u uzorku VP\_33. Nikolić i sur. (2023) u svom istraživanju su dobili rezultate kako kukuruzno brašno, ovisno o kultivaru, sadrži 4,87 - 7,23 % lipida.

Količine pepela se razlikuju u različitim uzorcima TBH. Najmanju količinu pepela sadrži uzorak VP\_33. Najveću količinu pepela ima uzorak VP\_22. Drugim riječima, kruh bez dodatka rogača i prosa sadrži najmanji udio pepela, dok kruhovi s dodatkom rogačevog brašna, prosenog brašna i prosenih posija sadrže veći udio pepela. Kalinová (2007) navodi kako proso sadrži u prosjeku 1,5-4,2 % mineralnih tvari te da se većina mineralnih tvari u prosu, kao i u ostalim žitaricama većinom nalazi u vanjskim dijelovima zrna. Stoga se može reći da se udio mineralnih tvari u kruhu može povećati dodavanjem prosenih posija u recepturu. Novotni i sur. (2022) u svome su istraživanju dokazali kako se bezglutenski kruh obogaćuje ukupnim pepelima za 15 %, nakon zamjene 10 % rižinog brašna prosenim posijama. Kruhovi za čiju se izradu koristi brašno MR sadrže više pepela od uzorka za čiju je izradu korišteno brašno SR. Prema literaturnim je podacima vidljivo kako rogač obiluje mineralima. Brašno MB od mineralnih tvari sadrži: K, Ca, Mg, Na, P, S i Fe od kojih prevladavaju kalij, kalcij i magnezij, a od vitamina, vitamin E, D, C, niacin, B6 i folnu kiselinu (Khlifa i sur., 2013).

Što se tiče količine proteina u različitim uzorcima TBH, najsiromašniji je uzorak VP\_33, što je i očekivano obzirom na jednostavnu recepturu po kojoj se izrađuje. Uzorci TBH s najvišim udjelom proteina su VP\_22 te VP\_44, u čijoj se recepturi nalazi brašno MR, koje prema literaturnim podacima sadrži oko 5,2 % proteina. Uzorak TBH VP\_11 sadrži oko 0,10% manje proteina u usporedbi s uzorcima VP\_22 i VP\_44, što ukazuje na to da brašno MR ima više proteina nego brašno SR. Osim rogača u recepturi kruh se proteinima obogaćuje i dodatkom prosenog brašna i prosenih posija u recepturu. Proso u svom sastavu sadrži 11,3-13 % proteina, dok prosene posije sadrže oko 11,5 % proteina. Udio i kvaliteta proteina u prosu ovisi o više čimbenika, kao što su klimatski uvjeti, sastav tla i slično, ali je poznato kako je proso bogatije od ostalih žitarica esencijalnim aminokiselinama, osobito lizinom (Kalinová i sur.,2007).

Proteini, osim što poboljšavaju nutritivnu vrijednost, mogu pozitivno utjecati na strukturu i senzorna svojstva gotovog proizvoda (Korus i sur., 2021).

Uzorak TBH VP\_11 u čijoj se recepturi nalazi brašno SR sadrži manje ugljikohidrata u usporedbi s ostalim uzorcima. Fidan i sur. (2020) proveli su istraživanje vezano za kemijski sastav sjemenki rogača, te došli do zaključka kako sjemenke rogača nisu bogate šećerom, da sadrže 8 % saharoze te 2,2 % glukoze, dok fruktoza nije detektirana. Isto tako, Petkova i sur. (2017) usporedili su kemijske sastave brašna MR te brašna SR i došli do zaključka kako brašno SR sadrži znatno manju količinu šećera.

Fruktani se definiraju kao polimeri molekula fruktoze. U ovome radu fruktani su određivani u uzorcima rogača, odnosno u brašnu MR te brašnu SR. Sadržaj fruktana u odabranim sirovinama određen je prema metodi AOAC 999.03. Dobiveni su sljedeći rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija iskazani kao g fruktana/100 g uzorka. Brašno SR koje je korišteno u recepturi za kruh VP\_11 sadrži  $0,3807 \pm 0,0584$  g fruktana, dok brašno MR korišteno za izradu kruha VP\_22 sadrži 1,0233 g fruktana u 100 g uzorka. Rezultati koji su dobiveni su u skladu sa literaturom, budući da se većina fruktana u žitaricama nalazi u vanjskim slojevima zrna (Kalinová, 2007). Rogać pripada porodici mahunarki te se prema rezultatima daje zaključiti kako se većina fruktana i u rogaču nalazi u ljusci. Brašno dobiveno od sjemenki rogača sadrži značajno manje fruktana u usporedbi s brašnom koje je dobiveno od cijele mahune rogača.

Uzorak koji je najbogatiji prehranbenim vlaknima je VP\_11 koji sadrži brašno SR, ukupna masa vlakana na 100 g uzorka je 16,20 g. Najveći dio mase vlakana u ovome uzorku čine topljiva vlakna male molekulske mase, zatim netopljiva vlakna, a najmanji udio ukupnih vlakana čine topljiva vlakna velike molekulske mase. Literaturni podaci govore kako je rogač pogodna sirovina za obogaćivanje kruha prehranbenim vlaknima, te da je vrsta vlakana (topljiva i netopljiva) različita ovisno o sorti same biljke. Mutak (2018) prikazala je kako je



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

Slijedi ga uzorak kruha VP\_22 koji u svom sastavu sadrži brašno MR, kojemu je ukupna masa vlakana na 100 g uzorka 11,95 g, odnosno 26,2 % manje u usporedbi s uzorkom VP\_11. Uzorak TBH VP\_44 koji sadrži kiselo tijesto rogača i prosa ima ukupnu masu vlakana 7,98 g u 100 g uzorka, a uzorak TBH VP\_33 ima 7,80 g vlakana u 100 g proizvoda. Ovo se može objasniti tako što su za izradu kruha VP\_33 korištena samo kukuruzno i rižino brašno, a literaturni podaci pokazuju kako su kukuruz i riža sirovine siromašne prehrambenim vlaknima. Nikolić i sur. (2023) navode kako zrna kukuruza različitih kultivara sadrže 9,24 - 15,77 % prehrambenih vlakana. González i sur. (2024) u svome su istraživanju analizirali bezglutenske kruhove u čijoj su se recepturi našla dva različita rižina brašna. Rižinim brašnima određen je udio vlakana, jedno je brašno sadržavalo 1,6 % prehrambenih vlakana, a drugo 0,6 %. Proseno brašno, kao i prosene posije su sirovine bogate vlaknima. Proseno brašno u prosjeku sadrži 9,52 % vlakana (Kalinová i sur., 2007). Prosene posije su također sirovina koja se koristi u svrhu obogaćivanja kruha prehrambenim vlaknima. Štrkalj (2019) u svome je istraživanju zamijenila 10 % rižinog brašna u recepturi za bezglutenski kruh posijama prosa, te se tako udio vlakana u kruhu udvostručio. Rogač je također sirovina bogata prehrambenim vlaknima. Salinas i sur. (2015) naveli su da rogač sadrži 2,6 - 39,8 % prehrambenih vlakana, ovisno o kultivaru te uvjetima rasta same biljke. Dakle, može se zaključiti kako se dodatkom prosenog brašna i posija, te brašnima rogača (MR i SR) bezglutenski kruh obogaćuje prehrambenim vlaknima.

Uzorci TBH VP\_22 i VP\_44 sadrže najveću količinu netopljivih vlakana, dok kruh VP\_11 ima nešto nižu količinu istih. U oba je uzorka TBH (VP\_22 i VP\_44) korišteno brašno MR rogača dobiveno od cijele mahune rogača, a Salinas i sur. (2015) ustanovili su kako se udio netopljivih vlakana povećava prema vanjskim slojevima mahune rogača, što objašnjava zašto kruh VP\_11 u kojemu je korišteno brašno sjemenki rogača ima nešto nižu količinu netopljivih vlakana.

Iz rezultata je također vidljivo da uzorak TBH VP\_44 ima niže količine topljivih prehrambenih vlakana nego uzorak VP\_22, odnosno da sa kiseljenjem tijesta količine topljivih vlakana opadaju.

Prema Pravilniku o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama (2010), hrana koja sadrži najmanje 3 g vlakana na 100 g naziva se izvorom vlakana, pa se tako može reći da je svaki uzorak kruha u radu izvor vlakana. Iako svaki uzorak sadrži više od 3 g vlakana u 100 g uzorka, kruh u koji se dodaje rogač je bogatiji prehrambenim vlaknima. Prema Pravilniku, hrana koja sadrži minimalno 6 g vlakana na 100 g uzorka naziva se bogata vlaknima, prema čemu se svi uzorci TBH mogu nazvati bogati vlaknima.

Iz rezultata je vidljivo kako uzorci s dodatkom rogača i prosa imaju bogatiji nutritivni sastav u usporedbi s kruhom VP\_33 koji sadržava samo brašna riže i kukuruza. Rezultati u ovome radu, kao i literaturni podaci pokazuju kako su proseno brašno i posije te brašna rogača pogodna za poboljšanje nutritivnog sastava bezglutenskog kruha. Nutritivni je status uspješno poboljšan bez dodataka hidrokoloida, škroba, guma, konzervansa i ostalih grupa prehrambenih aditiva.

## 4.2. HEDONISTIČKA SENZORSKA ANALIZA

**Tablica 3.** Prikaz ocjena senzoričara za osobine kruha. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost najmanje tri mjerenja  $\pm$  standardna devijacija.

Uzorak	Vanjski izgled	Miris	Okus i aroma	Tekstura	Sveukupni doživljaj
VP_11	6,74 $\pm$ 1,81	7,00 $\pm$ 1,81	6,55 $\pm$ 1,73	6,60 $\pm$ 1,74	6,64 $\pm$ 1,65
VP_22	6,25 $\pm$ 2,09	6,83 $\pm$ 1,63	6,67 $\pm$ 1,66	5,96 $\pm$ 1,83	6,50 $\pm$ 1,64
VP_33	6,79 $\pm$ 1,79	7,17 $\pm$ 1,52	6,96 $\pm$ 1,60	6,75 $\pm$ 1,62	6,79 $\pm$ 1,54
VP_44	6,54 $\pm$ 1,93	6,63 $\pm$ 1,71	6,71 $\pm$ 1,23	6,92 $\pm$ 1,28	6,54 $\pm$ 1,56

Iz rezultata prikazanih u Tablici 3 vidljivo je kako su senzoričari slično ocjenili sve uzorke TBH. Ocjene sveukupnog doživljaja za sve recepture kruha kreću se između 6,50 - 6,79 te između njih ne postoji statistički značajna razlika. Najviša moguća ocjena za sve parametre bila je 9, a najniža 1. Ako se ocjene sveukupnog doživljaja zaokruže na cijeli broj 7, može se reći da se sva 4 uzorka TBH sviđaju potrošačima. Drakula (2020) u svom je istraživanju na temelju senzorske analize usporedila prihvatljivost pšeničnog bijelog kruha te bezglutenskih kruhova različitih receptura, te je pšenični bijeli kruh ocijenjen je najvišom ocjenom sviđanja dok su se ocjene za bezglutenske kruhove kretale od 5,3 - 6,9, što se podudara i sa rezultatima u ovom radu. Takve rezultate pokazuju i dosadašnja istraživanja koja su pokazala da su potrošači zadovoljni kvalitetom bezglutenskih slatkiša, keksa i tjestenine, ali još uvijek je potrebno značajno poboljšanje bezglutenskog kruha i kolača kako bi se ispunila očekivanja potrošača. Toth i sur. (2022) proveli su istraživanje proizvoda s tržišta i usporedili zadovoljstvo potrošača glutenskim i bezglutenskim kruhovima. 17 je senzoričara pritom dalo više ocjene glutenskim proizvodima, dok su bezglutenske opisivali kao suhe, bezokusne, gorke i/ili preslatke. U ovome je radu također dvoje senzoričara uputilo komentar kako su uzorci kruha gorki ili kako imaju naknadan gorak okus. Gorak okus u bezglutenskim kruhovima često potječe od

nusproizvoda žitarica koje se dodaju u recepturu te u velikim količinama mogu negativno utjecati na senzorna svojstva proizvoda. Novotni i sur. (2022) došli su do zaključka kako je dodavanje prosenih procija u bezglutenski kruh povećalo gorak okus i naknadni okus. Naknadna se gorčina može objasniti ostacima fitinske kiseline i fitata, fenolnim spojevima, aminokiselinama i peptidima koje su prisutne u prosenim posijama (Novotni i sur., 2022). Uzorke TBH VP\_33 te VP\_22 jedan je senzoričar komentirao kao preslane, dok je uzorak kruha VP\_22 od strane jednog senzoričara komentiran kao presladak. Uzorak VP\_22 od strane nekoliko senzoričara komentiran je kao rahli ili suhi.

Najvišu prosječnu ocjenu sveukupnog sviđanja dobio je uzorak VP\_33 i ona iznosi 6,79. Uzorak VP\_33 u svojoj recepturi sadrži samo kukuruzno i rižino brašno, bez dodatka prosa i rogača. Ovakva bi se pojava dala objasniti tako što je rogač specifičnog okusa i arome koju neki potrošači ne preferiraju. Mutak (2018) u svome je radu provela anketu u kojoj se 27 % ispitanika izjasnilo kako ne preferira okus i aromu rogača. Najnižu prosječnu ocjenu sveukupnog sviđanja dobio je uzorak VP\_22 te ona iznosi 6,50. Ipak, svi su uzorci TBH ocijenjeni slično, što je veliki napredak budući da dodatkom nusproizvoda od žitarica je moguće narušavanje senzorskih karakteristika kruha (Novotni i sur., 2022). Kako često celijakičari imaju nepovoljan nutritivni status (Vici i sur., 2016), ovako nutritivno obogaćeni TBH mogao bi pozitivno djelovati na kvalitetu njihove prehrane, a da se okus ne razlikuje pretjerano u usporedbi s kruhom koji nije nutritivno obogaćen.

Prosječne ocjene za vanjski izgled kruhova kreću se od 6,25 - 6,79. Ponovno je najnižu ocjenu dobio uzorak VP\_22, a najvišu VP\_33. U recepturama za izradu kruhova VP\_22 i VP\_44 korišteno je brašno MR koje je tamno. Mutak (2018) prikazuje kako uzorci koji sadrže rogač imaju nižu  $L^*$  vrijednost kod mjerenja boje, koja predstavlja tamnije nijanse.  $L^*$  vrijednost kreće se od 0 (crna) do 100 (bijela). Prema prosječnim ocjenama za vanjski izgled uzoraka, vidljivo je kako je potrošačima privlačnija svjetlija boja kruha. Također, uzorak TBH VP\_11 koji sadrži brašno SR pokazuje više ocjene od uzorka VP\_22 koji sadrži brašno MR, što se može povezati s višom visinom kruha koja je privlačna potrošačima. Također, na slikama su vidljive pukotine na površini uzorka VP\_22 što također nije privlačna karakteristika. Zaključno se može reći kako brašno SR pozitivno utječe na vanjski izgled TBH.

Parametar mirisa najbolje je ocijenjen kod uzorka VP\_33 s prosječnom ocjenom 7,17, a slijedi ga uzorak VP\_11 s prosječnom ocjenom 7,00. Najnižu prosječnu ocjenu za miris dobio je uzorak VP\_22.

Kod parametra okus i aroma, najvišu je ocjenu dobio uzorak VP\_33 izrađen od kukuruznog i rižinog brašna. Slijedi ga uzorak VP\_44 koji sadrži kiselo tijesto. Drakula (2020) u svome je istraživanju došla do zaključka kako kiselo tijesto pozitivno utječe na okus i aromu kruha kojemu je dodano brašno žutog graška, odnosno može se reći kako dodatak kiselog tijesta

pozitivno utječe na gorčinu koja može poteći od nusproizvoda žitarica.

Što se tiče teksture, najvišu procjenu ocjenu dobio je uzorak kruha VP\_44. To je uzorak koji u svojoj recepturi ima kiselo rogačevo tijesto. Klarić F. (2017) navodi kako kiselo tijesto daje proizvodima veću vlažnost i elastičnost, kruh postaje čvršći i lakše se reže. Najnižu prosječnu ocjenu za teksturu dobio je uzorak VP\_22. Uzorak VP\_33 za parametar teskture ocijenjen je nešto niže u usporedbi s uzorkom VP\_44. Nadalje, uzorak TBH VP\_11 koji sadrži brašno SR za parametar teksture dobio je više ocjene od uzorka VP\_22 u kojem je korišteno brašno MR. Šoronja-Simović i sur. (2016) utvrdili da dodatak rogačevog brašna od mahune ima nepovoljan utjecaj na poroznost sredine kruha, smanjuje joj se finoća, dok se u radu Salinas i sur. (2015) pokazalo da povećanjem količine brašna sjemenki rogača u pšenični kruh, dolazi do smanjenja promjera mjehurića pa je sredina zbijenija. Takvi su rezultati povezani sa sadržajem vlage i parametrima teksture opisanima u poglavlju 4.3.

### 4.3. FIZIKALNA SVOJSTVA BEZGLUTENSKOG TANKOG KRUHA

**Tablica 4.** Gubitak vode pečenjem, dimenzije i volumen bezglutenskog kruha. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost najmanje tri mjerenja  $\pm$  standardna devijacija.

Uzorak	Gubitak pečenjem (%)	Specifični volumen (cm <sup>3</sup> /g)	Oblik (d/v)
VP_11	20,6 $\pm$ 0,76	1,83 $\pm$ 0,08	8,9 $\pm$ 0,27
VP_22	22,31 $\pm$ 0,95	1,82 $\pm$ 0,10	9,1 $\pm$ 0,49

Gubitak pečenjem predstavlja postotak vode koji se gubi prilikom procesa pečenja i hlađenja. Uzorak TBH VP\_11 pokazuje nešto manji gubitak vode tijekom pečenja u odnosu na uzorak VP\_22. Uzorak VP\_11 u svojoj recepturi sadrži brašno SR. Zanimljivo je da je uzorak kruha VP\_11 izrađivan s 5 % više vode u usporedbi s ostalim uzorcima, a tijekom pečenja gubi manje vode. Isto tako, u Tablici 2. gdje je prikazan kemijski sastav svih uzoraka je vidljivo kako sadrži najveću količinu vode od svih uzoraka. Rogačevo brašno spada u sredstva koja imaju izrađenu sposobnost vezanja velike količine vode (Klarić, 2017).



**Slika 4.** Uzorak tanko bezglutenskog kruha VP\_22

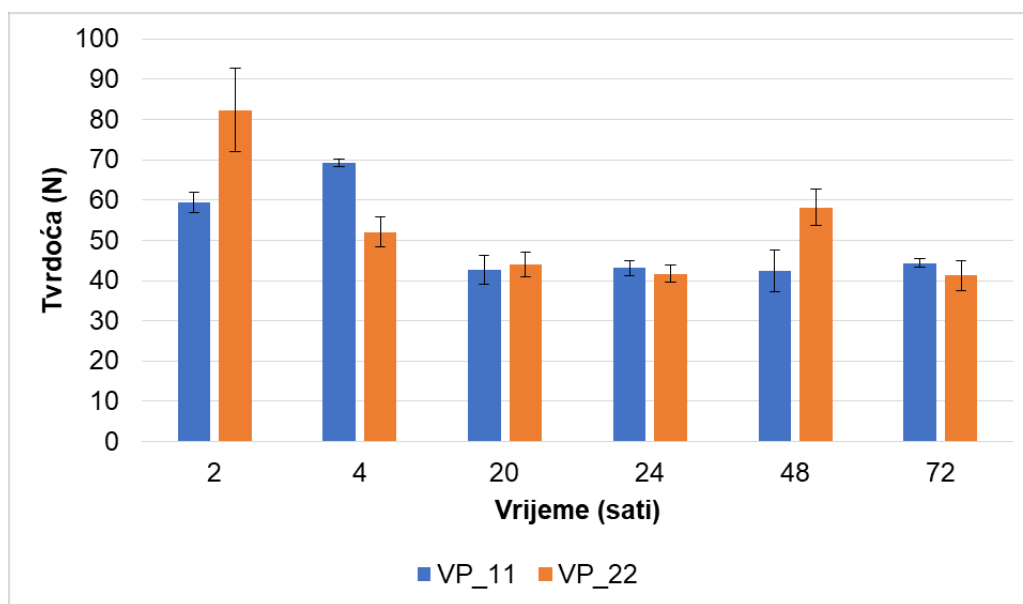


**Slika 5.** Uzorak tankog bezglutenskog kruha VP\_11

Specifični volumen kruha u omjer stavlja volumen i masu kruha. Oblik kruha predstavlja omjer diametra odnosno promjera kruha i njegove visine. Ni volumen ni oblik kruha se nisu značajno mijenjali ovisno o upotrebi brašna SR ili MR. Uzorak VP\_11 pokazuje nešto manju vrijednost navedenog omjera. To je posljedica toga što se kruh VP\_11 u pečenju više skupljao od uzorka VP\_22 te pečeni kruh ima manji promjer od kruha VP\_22. Sve navedeno može se pripisati dobrobiti upotrebe brašna sjemenki rogača koje uvelike pospješuju apsorpciju vode tijekom izrade samog kruha. Fidan i sur. (2020) dokazali su kako vlakna iz sjemenki rogača, odnosno izolirani protein galaktomanan, ima veliku sposobnost bubrenja te kapacitet vezanja vode i nazvali su ga potencijalnim zgušnjivačem u prehrambenoj industriji. Manji omjer promjera i visine kruha pokazuje kako je kruh kvalitetniji. Veća visina kruha proporcionalna je i većem volumenu kruha, što je jedna od bitnijih stavki kod potrošača. Međutim, karakteristika tankog kruha nije veliki volumen. Na slikama 4 i 5 vidljivo je kako dolazi do pucanja površine kruha uslijed fermentacije i pečenja, što nije poželjna karakteristika.

#### 4.4. TEKSTURA I STARENJE BEZGLUTENSKOG KRUHA

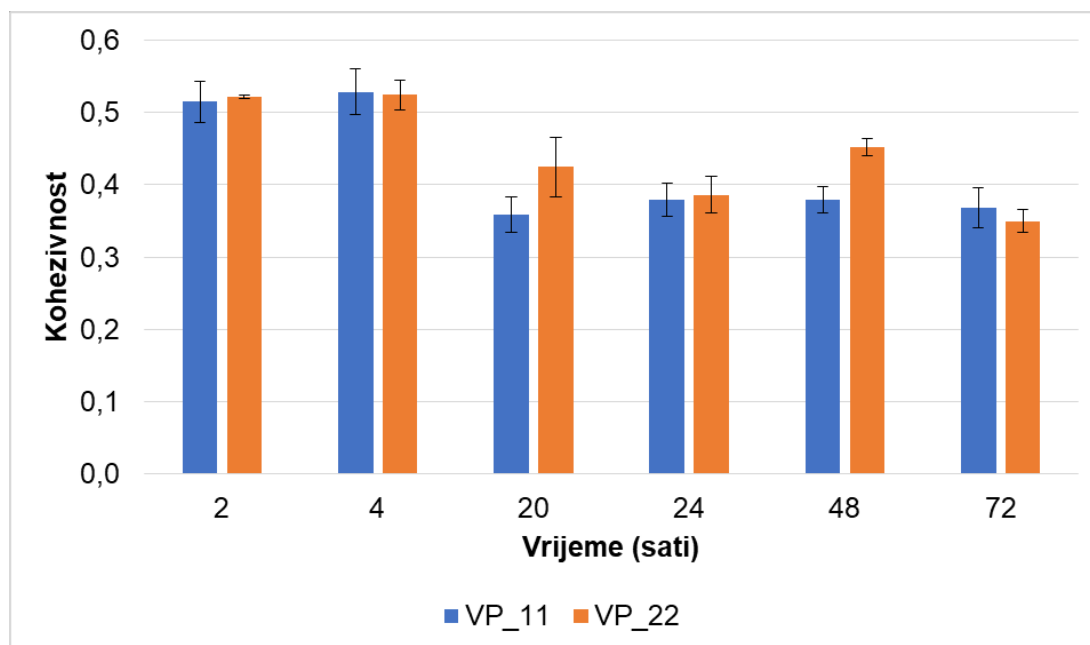
Starenje bezglutenskog kruha praćeno je mjerenjem teksturalnih svojstava kroz 72 sata. Parametri koji su pritom praćeni su tvrdoća, kohezivnost, žvakljivost te elastičnost sredine tankog bezglutenskog kruha. Uzorci tankog kruha pripremljeni su i mjerena im je tekstura nakon 2, 4, 20, 24, 48 i 72 sata nakon pećenja.



**Slika 6.** Grafički prikaz tvrdoće sredine bezglutenskog kruha kroz 72 sata. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerenja  $\pm$  standardna devijacija.

Grafički prikaz tvrdoće sredine TBH prikazan je na slici 6. Uzorak TBH VP\_22 pokazuje veću tvrdoću kruha od uzorka VP\_11 dva sata nakon pećenja. U usporedbi sa brašnom MR, brašno SR pogodnije je za proizvodnju mekšeg bezglutenskog tankog kruha. Ovakav je rezultat usklađen s literaturnim podacima. Mutak (2018) navodi kako se nakon dodatka brašna MR u osnovnu recepturu pšeničnom kruhu tvrdoća povećala za 10 %, dok se nakon dodatka brašna SR u osnovnu recepturu tvrdoća nije povećala. Salinas i sur. (2015) utvrdili su korelaciju između tvrdoće mrvica kruha i sadržaja vlage u kruhu, uzorci s većim postotkom vlage pokazivali su manje vrijednosti tvrdoće. U ovom radu je isto tako vidljiva takva korelacija budući da uzorak TBH VP\_11 pokazuje manje vrijednosti tvrdoće, a sadrži veću količinu vlage na 100 g uzorka u odnosu na uzorak TBH VP\_22. Uzorak VP\_22 ima najveću tvrdoću 2 h nakon pećenja, dok uzorak VP\_11 4 h nakon pećenja. Najmanju tvrdoću uzorci imaju u periodu od 20 do 24 h nakon pećenja, odnosno uzorak VP\_11 i do 48 sati. Karakteristika

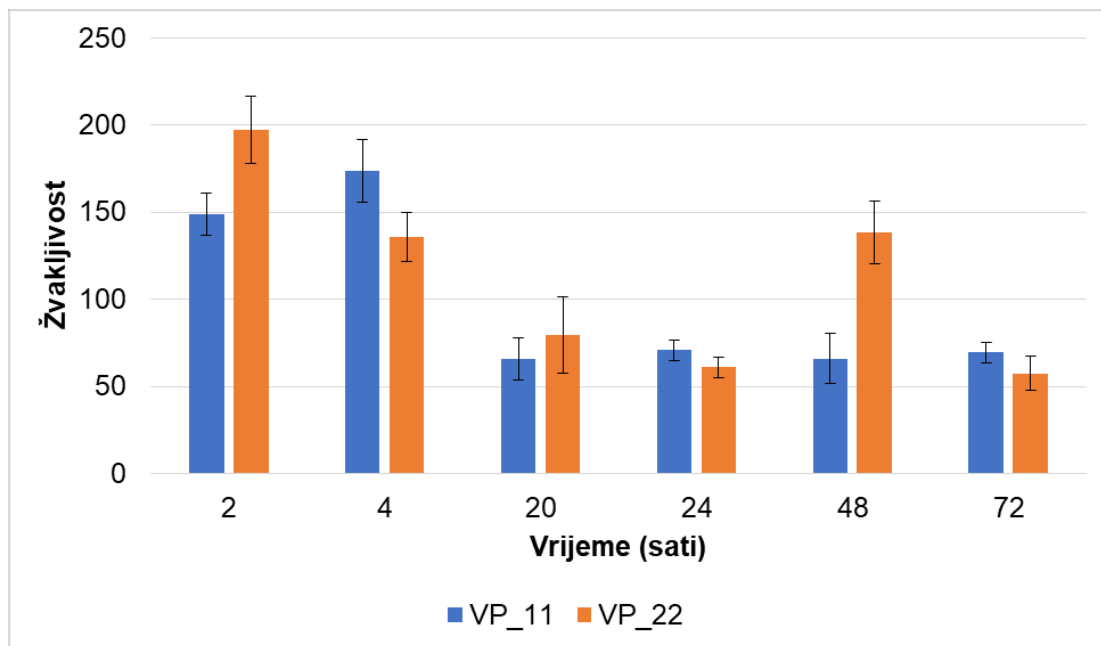
kruha je da otvrdnjava s vremenom stajanja. Ovakva se pojava može izbjeći dodatkom aditiva u recepturu za kruh, prema čemu potrošači imaju negativan stav. Stoga se intenzivno traga za novim rješenjima protiv starenja bezglutenskog kruha (González i sur., 2024). Roman i sur. (2019) ustanovili su kako bezglutenski kruhovi koji su na tržištu ne sadrže samo jednu zamjenu za škrob ili gluten već čitav niz sastojaka od kojih su većina aditiva poput emulgatora, aroma, zgušnjivača, hidrokoloida i konzervansa. Također je primjećeno da se pseudožitarice, na kojima je fokus u znanstvenim istraživanjima, jedva koriste za proizvodnju komercionalno dostupnih bezglutenskim kruhovima. Kako je vidljivo u poglavlju 4.1. brašna rogača te prosa se uspješno koriste za poboljšanje nutritivnih svojstava bezglutenskog kruha. Ipak, dodatak takvih sirovina može narušiti poželjna fizikalna svojstva kruha. Rogač, osobito sjemenke rogača, bogate su gumama koje se mogu koristiti kao zamjena hidrokoloidima (González i sur., 2024; Salinez i sur., 2015). Sjemenke rogača bogate su gumama koje se u prehrambenoj industriji koriste kao zgušnjivač, te je prepoznat potencijal brašna SR za poboljšanje fizikalnih svojstava kruha što je ispitano u ovom radu. Karakteristika bezglutenskog kruha je da brzo otvrdnjava. Mjerenjem teksture, vidljivo je kako se to nije dogodilo, upravo suprotno, tvrdoća je vremenom opadala. Isto tako, tijekom mjerenja i same pripreme uzoraka za analizu bilo je vidljivo kako se uzorci TBH nakon 72 sata mrve i raspadaju, osobito uzorak VP\_22 koji sadrži brašno MR. González i sur. (2024) su potvrdili kako dodatkom ksantan gume u bezglutenski rižin kruh tvrdoća kruha opada tijekom starenja kruha, dok je u kruhu bez dodatka ksantan gume tvrdoća bezglutenskog kruha starenjem rasla. Tvrdoća kruha VP\_22, uzorka koji u svojoj recepturi sadrži brašno MR raste nakon 48 sati, te ponovno pada nakon 72 h i ima jednaku tvrdoću kao i nakon 24 h. Tvrdoća uzorka bezglutenskog kruha VP\_11, koji u svom sastavu ima brašno sjemenki rogača, pada 20 h nakon pečenja te se nakon toga ne razlikuje značajno.



**Slika 7.** Grafički prikaz kohezivnosti sredine bezglutenskog kruha kroz 72 sata. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerenja  $\pm$  standardna devijacija.

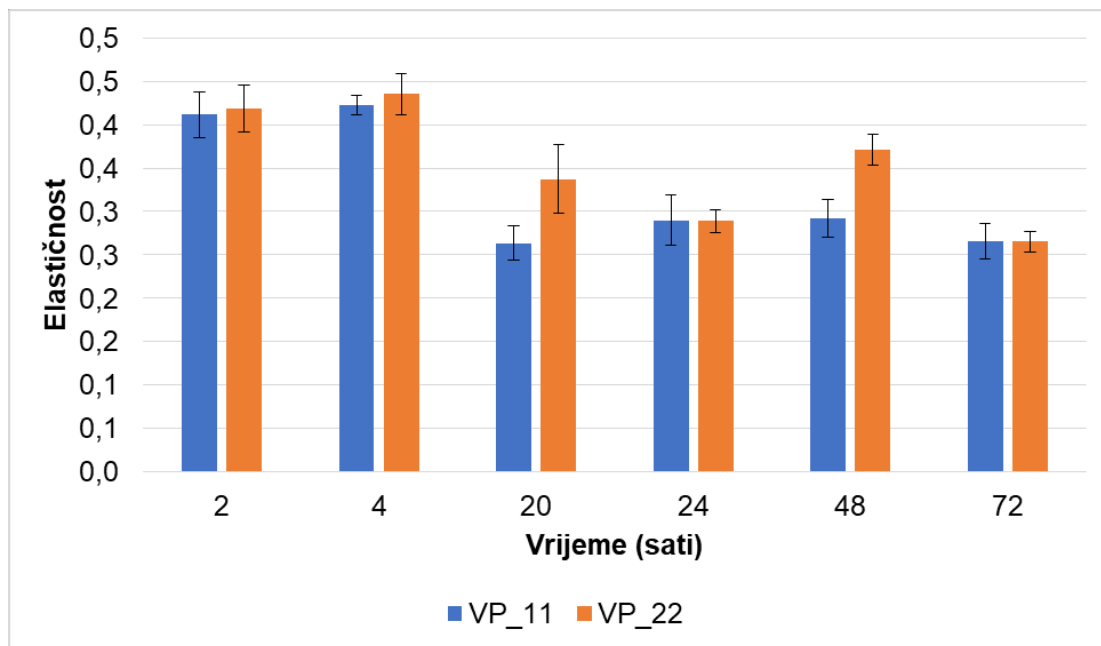
Kohezivnost sredine bezglutenskog kruha prikazana je grafički na slici 7 te kod oba uzorka ima najveću vrijednost dok je kruh svjež, odnosno do 4 h nakon pečenja. Kohezivnost oba uzorka pokazuje slične vrijednosti pri mjerenjima nakon 2 i 4 h. Vrijednosti kohezivnosti naglo padaju 20 h nakon pečenja, što je i očekivano obzirom na veći vremenski razmak između mjerenja. Uzorak VP\_11 bilježi nagli pad kohezivnosti nakon 20 h, u usporedbi s uzorkom VP\_22. Također, kod kruha VP\_11 kohezivnost pada nakon 20 h te se u daljnjem periodu mjerenja, do 72 h ne mijenja značajno. Kod kruha VP\_22 kohezivnost također pada nakon 20 h te nastavlja padati do 24 h nakon pečenja, a kod mjerenja nakon 48 h je nešto veća, dok nakon 72 h ponovno pada. Kohezivnost sredine TBH VP\_22 je najmanja nakon 72 h. Generalno se kohezivnost smanjuje kroz vrijeme. González i sur. (2024) zaključili su kako se kohezivnost mrvica bezglutenskog kruha značajno smanjila s vremenom skladištenja, osim u kruhu koji sadrži ksantan gumu. Budući da se kohezivnost oba uzorka kruha ne mijenja značajno u periodu od 20-72 sata nakon pečenja kruha, može se reći kako dodatak brašna MR i brašna SR usporava starenje kruha. Ova je pojava bila vidljiva i kod rezanja kruha za analizu budući da je postajao mrvljiv.





**Slika 8.** Grafički prikaz žvakljivosti bezglutenskog kruha kroz 72 sata. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerenja  $\pm$  standardna devijacija.

Vrijednosti žvakljivosti se međusobno razlikuju između uzoraka TBH s različitim recepturama što je grafički prikazano na slici 8. Također, žvakljivost se drugačije mijenja kroz vrijeme. Uzorak TBH VP\_22 2 sata nakon pečenja koji sadrži brašno MR ima veću vrijednost žvakljivosti za 25 % u usporedbi s kruhom VP\_11 koji sadrži brašno SR, također 2 sata nakon pečenja. Salinas i sur. (2015) godine proveli su analizu teksture svježe pečenih bezglutenskih kruhova s različitim udjelima brašna rogača i brašna sjemenki rogača te utvrdili kako se žvakljivost povećava povećanjem udjela komercijalnog brašna rogača u recepturi za izradu kruha. Ovakvi se rezultati podudaraju s ovim radom. Kod uzorka VP\_11 žvakljivost ima najveću vrijednost 4 h nakon pečenja, nešto višu u usporedbi s mjerenjem nakon 2 h, te tijekom starenja ta vrijednost pada. Uzorak VP\_11 bilježi nagli pad žvakljivosti nakon 20 h starosti kruha, dok se u periodu mjerenja od 20 do 72 h vrijednosti ne mijenjaju značajno. Uzorak TBH VP\_22 najveću vrijednost žvakljivosti ima 2 h nakon pečenja. Vrijednost žvakljivosti zatim pada. Vrijednost je nešto niža nakon 4 h, a zatim naglo pada kod mjerenja nakon 20 h. Nastavlja blago padati i do 24 h, a nakon toga ima porast za više od 50 % vrijednosti. Vrijednost žvakljivost čak je viša nakon 48 h nego nakon 4 h. Vrijednost zatim ponovno ima nagli pad, nakon 72 h je više za polovicu viša nego nakon 48 h. Vrijednosti žvakljivosti kod oba uzorka se ne razlikuju značajno u usporedbi sa mjerenjima nakon 20 i 24 sati.



**Slika 9.** Grafički prikaz elastičnosti sredine bezglutenskog kruha kroz 72 sata. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerenja  $\pm$  standardna devijacija.

Vrijednosti elastičnosti slične su kod oba uzorka TBH, kako je vidljivo na grafičkom prikazu (slika 9). Kao što je i očekivano, uzorci TBH gube elastičnost prolaskom vremena. Korus i sur. (2021.) navode kako se u uzorcima bezglutenskog kruha elastičnost smanjivala starenjem, te kako je imala najniže vrijednosti tri dana nakon pečenja kruha, što je slučaj i u ovome radu. Prva 4 sata starenja uzorci pokazuju gotovo iste vrijednosti. One ne odstupaju značajno između mjerenja kod 2 i 4 h te ne odstupaju kod dva različita uzorka kruha.

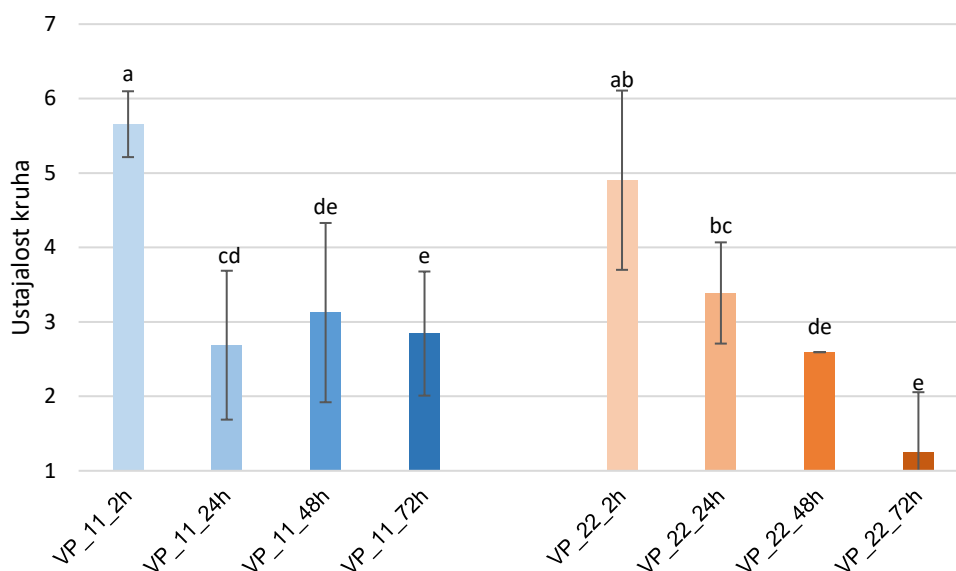
Vrijednosti elastičnosti pokazuju pad nakon 20 h starosti kruha i pritom uzorak TBH VP\_11 ima nagliji pad elastičnosti, ona se smanjuje za oko 33 % vrijednosti u usporedbi s vrijednosti kod 4 h starosti. Uzorak kruha VP\_11 zatim nema značajne promjene u vrijednostima elastičnosti tijekom daljnjeg starenja. Uzorak VP\_22 pokazuje nešto niži pad vrijednosti elastičnosti nakon 20 h. Vidljivo je kako uzorak VP\_22 koji sadrži brašno MR pokazuje nešto više vrijednosti elastičnosti usporedno s kruhom VP\_22 u čijoj se recepturi nalazi SR. Slične su rezultate dobili i Salinas i sur. (2015). Oni su u svojem istraživanju u osnovnu recepturu za kruh dodavali jednaki postotak brašna MR i brašna SR, a elastičnost u uzorcima s brašnom MR bila je za oko 10 % viša kod svježeg pečenog kruha u odnosu na uzorke s brašnom SR. Nakon 24 h vrijednost je nešto niža u usporedbi s mjerenjem prilikom 20 h starosti. Zatim, vrijednost elastičnosti ima blagi porast i višu vrijednost kod 48 h starosti kruha. Elastičnost kod ovog uzorka je najniža kod 72 h starosti kruha.

#### 4.5. STARENJE KRUHA ODREĐENO DESKRIPTIVNOM SENZORSKOM ANALIZOM

Senzorne karakteristike nekog proizvoda su sa stajališta potrošača najbitniji parametar kvalitete. Bezglutenski kruh i općenito ima kratak rok trajanja, odmah nakon pečenja bezglutenski kruhovi imaju ljepljivu i mokru sredinu, a već sljedeći dan se ona mrvi i postaje suha i gruba. Bezglutenski kruh također karakterizira mali volumen, a volumen je uz boju prva karakteristika koju potrošači primjećuju. Kruh izrađen od bezglutenskog brašna radi izostanka visokoelastičnih svojstava glutena je malog volumena (Korus i sur., 2021). Starenjem bezglutenski kruh prolazi kroz nekoliko transformacija kao što su retrogradacija i kristalizacija škroba, gubitak vlage, preraspodjela proteinsko-škrobnih komponentenata, što posljedično dovodi do povećanja tvrdoće i mrvljivosti, smanjenja elastičnosti i kohezivnosti, gubitka arome te suhoće (González i sur., 2024). Ovakve pojave dovode do ekonomskih gubitaka i potrošačkog prihvatanja proizvoda (Demirkesen i sur., 2014). Staranje bezglutenskih kruhova uglavnom se pripisuje migraciji vode u koricu, gubitku vlage te retrogradaciji i rekristalizaciji škroba (González i sur., 2024). Ovakve pojave dovode do promjena u teksturi kruha tijekom starenja. Takve se promjene većinom prate mjerenjem teksture kako je opisano u poglavlju 3.2.4.4. Osim teksturometrom, starenje kruha može se pratiti i senzorskom analizom kako bi se utvrdilo koliko je dugo proizvod prihvatljiv od strane potrošača, što je direktno povezano i sa ekonomskim rezultatima. Senzoričari su ocijenili starost uzoraka TBH koji su bili označeni brojevima, a pripremljeni uzorci vidljivi su na slici 10.



**Slika 10.** Uzorci kruha pripremljeni za deskriptivnu senzorsku analizu



**Slika 11.** Grafički prikaz ocjena senzoričara ustajalosti kruha kroz 72 sata. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost minimalno dva paralelna mjerenja  $\pm$  standardna devijacija. Različitim eksponentima (a-e) označeni su uzorci unutar pojedine vrste kruha između kojih postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ).

Ocjene koje je senzorski panel dodijelio uzorcima bezglutenskog kruha kreću se u rasponu 1-6. Vrijednost koju ocjene predstavljaju su sljedeće: 6 - jako svjež, 5 - svjež, 4 - neznatno star, 3 - neznatno star, 2 - star, 1 - star. Rezultati su grafički prikazani na slici 11. Uzorak VP\_11 je 2 sata nakon pečenja dobio je procječnu ocjenu 5,7, što je znatno više u usporedbi s uzorkom VP\_22 koji je dobio prosječnu ocjenu 4,9. Generalno se može reći da je uzorak VP\_11 dobio više ocjene, odnosno da senzoričarima djeluje svježije od uzorka VP\_22. Također, mjerenjem teksture dokazano je kako uzorak kruha VP\_11 ima manju tvrdoću u usporedbi s uzorkom kruha VP\_22. Ovakvi se rezultati mogu povezati sa činjenicom da je vlaga u uzorku TBH VP\_11 koji sadrži brašno SR viša nego kod uzorka TBH VP\_22 koji sadrži brašno MR. Smanjenjem vlage u kruhu se povećava mrvljivost kruha koja je karakteristična za star kruh. Uzorak VP\_11 24 sata nakon pečenja dobio je nižu prosječnu ocjenu u usporedbi s istim uzorkom starim 48 h. Isto tako, kod određivanja starosti teksturometrom su parametri tvrdoće, kohezivnosti i žvakljivosti nešto viši kod uzoraka starih 48 sati u usporedbi s uzorcima starima 24 sata. Zanimljivo je da je uzorak VP\_11 72 sata nakon pečenja dobio prosječnu ocjenu 2,8 što bi prema ljestvici značilo 'neznatno star', odnosno da je kruh senzorski prihvatljiv i 72 sata nakon pečenja.

Ocjene dodijeljene uzorku kruha VP\_22 padaju kontinuirano sa starošću kruhova. Uzorak VP\_22 48 sati nakon pečenja dobio je prosječnu ocjenu 2,6, što je niže od uzorka VP\_11, iste starosti, koji je ocijenjen s 3,1. Uzorak VP\_22 72 sata nakon pečenja senzorski nije prihvatljiv

budući da mu je dodijeljena prosječna ocjena 1,3 što prema ljestvici označava jako star kruh. Kod pripreme uzoraka, odnosno rezanja, bilo je vidljivo kako je uzorak kruha VP\_22 bio mrvljiv te raspadnut. Jedan od senzoričara je za navedeni uzorak dodatno prokomentirao kao užeglog. To se može pripisati upotrebi brašna mahune rogača, koje sadrži i ljusku, a karakteristika brašna koje sadrže vanjske dijelove zrna žitarica je veća koncentracija enzima koji mogu dovesti do oksidacije lipida te posljedično do užeglog mirisa.

Zaključno se može reći kako je uzorak TBH VP\_22 koji sadrži brašno MR senzorski prihvatljiv do 48 sata nakon pečenja. Uzorak TBH VP\_11 koji sadrži brašno SR senzorski je prihvatljiv i 72 sata nakon starenja. Daje se zaključiti kako brašno SR produljava senzorsku prihvatljivost kruha, zahvaljujući većem udjelu vlage i sposobnosti zadržavanja vlage koje ima brašno SR. Također, upotrebom brašna SR značajno se smanjuje tvrdoća TBH, odnosno ovo brašno ima pozitivni učinak na teksturalna i fizikalna svojstva kruha.

## 4. ZAKLJUČCI

U ovome radu ispitan je utjecaj dodatka brašna rogača i prosa na kemijska i fizikalna svojstva bezglutenskog tankog kruha, a cilj je bio dobiti nutritivno bogat kruh poželjne teksture, arome i okusa. Osnovnoj recepturi za bezglutenski tanki kruh koja se temeljila na kukuruznom i rižinom brašnu dodavano je komercijalno brašno rogača, brašno sjemenki rogača, proseno brašno te prosene posije. Na temelju provedenih analiza, doneseni su sljedeći zaključci:

1. Dodatak prosenog brašna i posija te brašna rogača i sjemenki rogača, uzrokovali su značajno povećanje udjela prehrambenih vlakana (2,31 - 51,85 %), smanjenje udjela lipida (11,39 - 12 %), a povećanje udjela pepela (4,78 - 11,48 %), i proteina (2,45 - 4,09 %).
2. Dodatak prosenog brašna i posija te brašna rogača i sjemenki rogača nisu imali utjecaj na senzorsku prihvatljivost bezglutenskog kruha
3. Dodatak kiselog tijesta proizvedenog fermentacijom prosenog brašna i posija te brašna rogača i sjemenki rogača, u bezglutenskih kruh, nije promjenilo senzorsku prihvatljivost bezglutenskog kruha
4. Upotreba brašna sjemenki rogača, je u usporedbi sa brašnom rogača, nije imala značajan utjecaj na oblik i volumen kruha, ali je poboljšala udio gubitka vode tijekom pečenja, teksturalna svojstva svježeg bezglutenskog kruha te veći senzorski osjećaj svježine tijekom 72 sata čuvanja.

U ovom radu zaključeno je kako se tankom bezglutenskom kruhu se može povećati nutritivna vrijednost dodatkom rogačevog brašna, brašna sjemenki rogača, prosenih posija i prosenog brašna i upotrebom procesa fermentacije navedenih brašna, bez utjecaja na senzorsku prihvatljivost kruha. U usporedbi sa brašnom mahune i sjemenke rogača, upotreba brašna sjemenki rogača u proizvodnji bezglutenskog kruha osigurava poboljšanje teksturalnih svojstava svježeg kruha i veći senzorski osjećaj svježine tijekom 72 sata čuvanja.

## 6. LITERATURA

- Anonymous 1, <https://www.alergijaija.com/2017/05/10/gluten-free-kupovina/>. Pristupljeno 17. rujna 2024.
- Anonymous 2, <https://www.biobio.hr/rogac-svjezi-hr-eko-proizvod-22623/>. Pristupljeno 17. rujna 2024.
- Anonymous 3, <https://agrobasesapp.com/croatia/weed/pravo-proso>. Pristupljeno 17. rujna 2024.
- Arendt, E K, Zannini, E (2013) Buckwheat. U: Cereal grains for the food and beverage industries, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, str. 369-400.
- Baumel A, Mirleau P, Viruel J, Kharrat MBD, La Malfa S, Ouahman L i sur. (2018) Assessment of plant species diversity associated with the carob tree (*Ceratonia siliqua*, *Fabaceae*) at the Mediterranean scale. *Plant Ecol Evol* **151(2)**:185–193. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2018.1423>
- Bender D, Fraberger V, Szepasvári P, D'Amico S, Tömösköz S, Cavazzi G i sur. (2018) Effects of selected lactobacilli on the functional properties and stability of gluten-free sourdough bread. *Eur Food Res Technol* **244**, 1037–1046. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-3020-0>
- Bender D, Schönlechner R (2020) Innovative approaches towards improved gluten-free bread properties. *J. Cereal Sci.* **91**, 102904. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102904>
- Chinma CE, Ramakrishnan Y, Ilowefah M, Hanis-Syazwani M, Muhammad K (2015) Properties of Cereal Brans: A review. *Cereal Chem.* **92**, 1-7. <http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM-10-13-0221-RW>
- De Vuyst L, Vrancken G, Ravyts F, Rimaux T, Weckx S (2009) Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota. *Food Microbiol.* **26**, 666–675. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.012>
- Drakula S (2020) Razvoj bezglutenskog kruha poboljšane arome, povećane prehrambene vrijednosti i produljene trajnosti (doktorski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
- 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.
- Efthymakis K, Milano A, Laterza F, Serio M, Neri M (2017) Iron deficiency anemia despite effective gluten-free diet in celiac disease: Diagnostic role of small bowel capsule endoscopy. *Dig. Liver Dis.* **49**, 412-416. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2016.12.007>

FAO, WHO (2008) Codex standard 118-1979 for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten. FAO – Food and Agriculture Organization of United Nations. WHO – World Health Organization. [https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B118-1979%252FCXS\\_118e\\_2015.pdf](https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B118-1979%252FCXS_118e_2015.pdf)

Fidan H, Stankov S, Petkova N., Petkova Z, Iliev A, Stoyanova M i sur. (2020) Evaluation of chemical composition, antioxidant potential and functional properties of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seeds. *J Food Sci Technol* **57**, 2404–2413. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04274-z>

González LC, Contigiani EV, Tolaba MP (2024) Development of gluten-free and gum-free rice bread: influence of ingredients, hydration and processing time on bread quality. *Discov Food* **4**, 61. <https://doi.org/10.1007/s44187-024-00112-9>

Kalinová J. (2007) Nutritionally Important Components of Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.). *Food* **1**, 91 - 100.

Khelifa M, Bahloul A, Kitane S (2013). Determination of chemical composition of carob pod (*Ceratonia siliqua* L) and its morphological study. *J. Mater. Environ. Sci*, **4**, 348-353.

Klarić F (2017) *Suvremene tehnologije u pekarstvu i slastičarstvu - sirovine i proizvodi*, Tim zip d.o.o., Zagreb.

Korus J, Chmielewska A, Witczak M, Ziobro R, Juszcak L (2021) Rapeseed protein as a novel ingredient of gluten-free bread. *Eur Food Res Technol* **247**, 2015–2025. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03768-0>

Matos M., Rosell CM (2015) Understanding gluten-free dough for reaching breads with physical quality and nutritional balance. *J. Sci. Food Agric.* **95**, 653–661

Melini V, Melini F (2019) Gluten-Free Diet: Gaps and Needs for a Healthier Diet. *Nutrients* **11**, 170-191. <https://doi.org/10.3390/nu11010170>

Mutak N (2018) *Primjena rogačevog kiselog tijesta u proizvodnji pekarskih proizvoda* (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Nikolić V, Simić M, Žilić S, Kravić N, Vančetović J, Sečanski M i sur. (2023) Nutritional composition and bioactive properties of the wholegrain flour obtained from maize inbred lines, University of Novi Sad. <http://dx.doi.org/10.5937/ffr0-41894>

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*. <https://doi.org/10.17113/ftb.61.01.23.7776>

Papaefstathiou E, Agapiou A, Giannopoulos S, Kokkinofa R (2018) Nutritional characterization of carobs and traditional carob products. *Food Science & Nutrition* **6**, 2151-



2161. <https://doi.org/10.1002%2Ffsn3.776>

Patil S, Arya SS (2019) Characterization of gluten free flatbread: quality improvement by the addition of hydrocolloids and emulsifiers using simplex centroid design. *Food Measure* **13**, 821–830. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9994-y>

Pavišić Z (2022) Ultrazvučna obrada zobenih i ječmenih posija i njihova primjena u tankom kruhu (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Petkova N, Petrova I, Ivanov I, Mihov R, Hadjikinova R, Ognyanov M, Nikolova V (2017) Nutritional and antioxidant potential of carob (*Ceratonia siliqua*) flour and evaluation of functional properties of its polysaccharide fraction. *J Pharm Sci Res* **9**, 2189–2195.

Pravilnik (2010) Pravilnik o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama. Narodne novine 84, Zagreb (NN 84/10). [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010\\_07\\_84\\_2402.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_07_84_2402.html)  
Pristupljeno 25. kolovoza 2024.

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. <https://doi.org/10.3390/foods10071498>

Roman L, Belorio M, Gomez M (2019) Gluten-free breads: the gap between research and commercial reality. *Compr Rev Food Sci Food Saf* **18**:690–702. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12437>

Rosa CS, Tessele K, Prestes R., Silveira M, Franco F (2015) Effect of substituting of cocoa powder for carob flour in cakes made with soy and banana flours. *IFRJ*. **22**, 2111-2118.

Rybicka I (2018) The Handbook of Minerals on a Gluten-Free Diet. *Nutrients* **10**, 1683-1691.

Salinas MV, Carbas B, Brites C, Pupp MC (2015) Influence of different carob fruit flours (*Ceratonia siliqua* L.) on wheat dough performance and bread quality. *Food Bioprocess Technol*. <https://doi.org/10.3390/nu10111683>

Šoronja-Simović DM, Smole-Možina S, Raspor P, Maravić NR, Zahorec JJ, Luskar L i sur. (2016) Carob flour and sugar beet fiber as functional additives in bread. *apteff*. **47**, 83-93. <http://dx.doi.org/10.2298/APT1647083S>

Šoronja-Simović D, Zahorec J, Šereš Z, Griz A, Sterniša M, Smole-Možina S (2022) The food industry by-products in bread making: single and combined effect of carob pod flour, sugar beet fibers and molasses on dough rheology, quality and food safety. *J Food Sci Technol* **59**, 1429–1439. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05152-y>

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

Taylor JRN, Awika JM (2017) *Gluten-Free Ancient Grains*. Elsevier.

Tóth M, Kaszab T, Meretei A (2022) Texture profile analysis and sensory evaluation of commercially available gluten-free bread samples. *Eur Food Res Technol* **248**, 1447–1455.

<https://doi.org/10.1007/s00217-021-03944-2>

Vici G, Belli L, Biondi M, Polzonetti V (2016) Gluten free diet and nutrient deficiencies: A review. *Clin. nutr.* **35**, 1236-1241. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.05.002>

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

Wang K, Lu F, Li Z, Zhao L, Han C (2017) Recent developments in gluten-free bread baking approaches: A review. *Food Sci. Technol.* **37**, 1–9. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457x.01417>

Zannini E, Jones JM, Renzetti S, Arendt EK (2012) Functional replacements for gluten. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **3**, 227–245. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101203>

## IZJAVA O IZVORNOSTI

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

V. PLES<sup>✓</sup>

---

Vlastoručni potpis