

Rast i preživljavanje probiotičkih bakterija u fermentiranim napitcima od zob i riže

Gabelić, Sara

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:159:708076>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-02**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2024.

Sara Gabelić

**RAST I PREŽIVLJAVANJE PROBIOTIČKIH
BAKTERIJA U FERMENTIRANIM
NAPITCIMA OD ZOBI I RIŽE**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Katarine Lisak Jakopović.

Zahvaljujem se mentorici, izvanrednoj profesorici dr. sc. Katarini Lisak Jakopović, na neumornoj podršci, stručnom vođenju i inspirativnim sugestijama tijekom izrade ovog diplomskog rada. Njezina predanost i stručnost bile su ključne u mom akademskom razvoju i postizanju ciljeva koje sam si postavljala.

Najiskrenije se zahvaljujem mojoj obitelji - roditeljima Marku i Jadranki i sestrama Andrei i Marini. Bez njihove neizmjerne podrške, razumijevanja i ohrabrenja, ova akademska avantura ne bi bila moguća. Neka moja duboka zahvalnost svima vama bude iskazana kao izraz trajne hvale za vaš nenadmašan doprinos mom osobnom i akademskom razvoju.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

RAST I PREŽIVLJAVANJE PROBIOTIČKIH BAKTERIJA U FERMENTIRANIM NAPITCIMA OD ZOB I RIŽE

Sara Gabelić, univ. bacc. ing. techn. aliment. 0113148042

Sažetak: Zadnjih nekoliko godina prisutan je rastući trend upotrebe biljnih napitaka kao zamjene za mlijeko. Razlozi su intolerancija na laktozu, alergije na proteine mlijeka, osobna uvjerenja, način prehrane i dr. Fermentirani biljni napitci obično ne sadrže probiotičke bakterije te bi se njihovim dodavanjem povećala nutritivna vrijednost i zdravstvene beneficije. Cilj ovog istraživanja bio je fermentirati zobeni i rižin napitak te pratiti preživljavanje probiotičkih bakterija tijekom 15 dana hladnog skladištenja. Određivana su i fizikalno-kemijska i reološka svojstva te boja napitaka. Fermentacija oba napitka je trajala u prosjeku 5 sati, a broj određivanih probiotičkih bakterija (laktobacila i bifidobakterija) je tijekom hladnog skladištenja u fermentiranim napitcima bio konstantan i iznosio je više od 7 log CFU mL⁻¹. pH vrijednost, suha tvar i pepeo su bile konstantne tijekom hladnog skladištenja. Boja i reološka svojstva razlikovale su se između zobenog i rižinog fermentiranog napitka. Probiotičke bakterije dobro preživljavaju u fermentiranim biljnim napicima od zobi i riže.

Ključne riječi: zob, riža, biljni napitak, fermentacija, probiotičke bakterije

Rad sadrži: 56 stranica, 16 slika, 17 tablica, 65 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: izv. prof. dr. sc. Katarina Lisak Jakopović

Pomoć pri izradi: Snježana Šimunić, tehnička suradnica

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. izv.prof.dr.sc. Irena Barukčić Jurina (predsjednik)
2. izv.prof.dr.sc. Katarina Lisak Jakopović (mentor)
3. doc.dr.sc. Bojana Voučko (član)
4. izv.prof.dr.sc. Nives Marušić Radovčić (zamjenski član)

Datum obrane: 16. srpanj 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Technology Engineering
Laboratory for Dairy Technology and Dairy Products

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Engineering

GROWTH AND SURVIVAL OF PROBIOTIC BACTERIA IN FERMENTED OAT AND RICE BEVERAGES

Sara Gabelić, univ. bacc. ing. techn. aliment. 0113148042

Abstract: In recent years, there has been a growing trend of using plant-based beverages as milk substitutes. The reasons include lactose intolerance, milk protein allergies, personal beliefs, dietary choices, and more. Fermented plant-based beverages usually do not contain probiotic bacteria, and their addition could enhance the nutritional value and health benefits. The aim of this study was to ferment oat and rice beverages and monitor the survival of probiotic bacteria during 15 days of cold storage. Physical-chemical and rheological properties, as well as the color of the beverages, were also determined. The fermentation of both beverages lasted an average of 5 hours, and the number of probiotic bacteria (lactobacilli and bifidobacteria) remained constant during cold storage in the fermented beverages, exceeding $7 \log \text{CFU mL}^{-1}$. The pH value, dry matter, and ash content were constant during cold storage. The color and rheological properties differed between the fermented oat and rice beverages. Probiotic bacteria survive well in fermented plant-based beverages made from oats and rice.

Keywords: oat, rice, plant-based beverage, fermentation, probiotic bacteria

Thesis contains: 56 pages, 16 figures, 17 tables, 65 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: Katarina Lisak Jakopović, PhD, Associate professor

Technical support and assistance: Snježana Šimunić, technical associate

Reviewers:

1. Irena Barukčić Jurina, PhD, Associate professor (president)
2. Katarina Lisak Jakopović, PhD, Associate professor (mentor)
3. Bojana Voučko, PhD, Assistant professor (member)
4. Nives Marušić Radovčić, PhD, Associate professor (substitute)

Thesis defended: July 16th, 2024

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. ZOB	2
2.1.1. Morfologija zobi.....	2
2.1.2. Kemijski sastav i nutritivna vrijednost zobi.....	4
2.2. NAPITAK OD ZOBI	5
2.2.1. Svojstva zobenog napitka	5
2.2.2. Proizvodnja zobenog napitka	6
2.3. RIŽA	7
2.3.1. Morfologija riže.....	8
2.3.2. Kemijski sastav i nutritivna vrijednost riže	9
2.4. RIŽIN NAPITAK	10
2.4.1. Svojstva rižinog napitka	10
2.4.2. Proizvodnja rižinog napitka	12
2.5. FERMENTACIJSKI PROCESI U PROIZVODNJI RIŽINIH I ZOBENIH NAPITAKA ..	12
2.5.1. Starter kulture	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	15
3.1. MATERIJALI	15
3.2. METODE RADA.....	18
3.2.1. Priprema zobenog napitka	18
3.2.2. Priprema rižinog napitka.....	19
3.2.3. Analize napitaka.....	19
3.3. OBRADA PODATAKA	27
4. REZULTATI I RASPRAVA	28
4.1. TRAJANJE FERMENTACIJE.....	29
4.2. MIKOBIOLOŠKA ANALIZA NAPITAKA.....	31
4.3. KISELOST NAPITAKA.....	34
4.4. UDJEL SUHE TVARI I PEPELA U NAPITCIMA.....	35
4.5. UDJEL SOLI U NAPITCIMA.....	36
4.6. ODREĐIVANJE BOJE NAPITAKA.....	37
4.7. REOLOŠKA SVOJSTVA NAPITAKA	39
5. ZAKLJUČCI.....	46
6. LITERATURA	47

1. UVOD

Fermentacija je jedan od najstarijih načina konzerviranja hrane kojim se postiže produžetak roka trajanja, ali i poboljšanje nutritivnih i senzorskih svojstava namirnica. U novije vrijeme, fermentacija biljnih napitaka postaje sve popularnija, osobito među potrošačima koji preferiraju vegansku prehranu, kao i onima koji imaju intoleranciju na laktozu te alergije na proteine mlijeka (Križanac, 2021). Biljni napitci, poput rižinog i zobenog, predstavljaju odlične baze za fermentaciju zbog svog sastava te imaju dobar potencijal za rast i razvoj probiotičkih bakterija.

Dosadašnja istraživanja pokazuju da fermentacija pomoću bakterija mliječne kiseline (BMK) značajno poboljšava probavljivost proteina, bioraspoloživost mineralnih elemenata, smanjuje glikemijski indeks, produžuje rok trajanja i poboljšava senzorska svojstva (Coda i sur., 2017). Dodatak probiotičkih bakterija ovim napitcima može pružiti dodatne zdravstvene prednosti, kao što su poboljšanje metabolizma laktoze kod netolerantnih osoba povećanjem aktivnosti enzima β -galaktozidaze u crijevima, što omogućava razgradnju laktoze unatoč fiziološkom nedostatku tog enzima (Radmanić, 2014).

Unatoč brojnim istraživanjima, broj studija koje se bave fermentacijom zobenih i rižinih napitaka uz dodatak probiotičkih kultura vrlo je ograničen. Također, dostupno je vrlo malo podataka o utjecaju hladnog skladištenja na preživljavanje probiotičkih bakterija u ovim fermentiranim napitcima. Stoga je važno istražiti kako fermentacija i hladno čuvanje utječu na mikrobiološka i fizikalno-kemijska svojstva fermentiranih biljnih napitaka.

Cilj ovog rada bio je istražiti proces fermentacije rižinog i zobenog napitka s posebnim naglaskom na rast i aktivnost bakterija mliječne kiseline te rast i preživljavanje dodanih probiotičkih bakterija tijekom 15 dana hladnog skladištenja. Za postizanje postavljenog cilja osim mikrobioloških analiza, provedene su i fizikalno-kemijske analize poput mjerenja pH vrijednosti, određivanja udjela mliječne kiseline, ukupne suhe tvari, pepela i količine soli. Fermentiranim napitcima su određena i reološka svojstva te parametri boje. Rezultati ovog istraživanja doprinijet će boljem razumijevanju fermentacijskih procesa u biljnim napitcima te njihovoj funkcionalnoj vrijednosti uz dodatak probiotičkih bakterija, čime će se povećati raznolikost i kvaliteta dostupnih fermentiranih proizvoda na tržištu.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. ZOB

Avena sativa L., odnosno zob, je vrsta žitarice koja se uzgaja zbog svog sjemena. Podrijetlom iz *starog svijeta* (područje Europe i Azije), zob se danas uzgaja širom svijeta. Za razliku od nekih drugih žitarica poput pšenice, raži ili ječma, bolje je prilagodljiva na ljetnu toplinu i obilnu kišu. Posebno je važna u područjima s hladnim i vlažnim ljetima. Zob je jednogodišnja biljka te se može sijati ili u jesen (za berbu krajem ljeta) ili u proljeće (za berbu početkom jeseni) (Singh, De i Belkheir, 2013). Na svjetskoj razini, zob je šesta po proizvodnji, iza kukuruza, riže, pšenice, ječma i sirka. Oko 67 % svjetske proizvodnje dolazi iz Rusije, Kanade, SAD-a, Finske i Poljske, dok je Australija vodeći proizvođač na južnoj hemisferi, a slijedi Argentina, Čile i Brazil (Šifner, 2021).

Zob ima široku primjenu u prehrambenoj industriji kao žitarica za doručak, u proizvodnji piva te pekarskih proizvoda i ekstrudiranih žitarica iz krupice ili brašna. Također, ima medicinsku upotrebu te se koristi u terapiji tijekom odvikavanja od duhana, te ovisnosti o opijatima (Singh, De i Belkheir, 2013). U usporedbi s drugim žitaricama, zob sadrži značajan udjel β -glukana, biljnog polisaharida otpornog na probavu u tankom crijevu koji čini više od polovice ukupnih prehrambenih vlakana zobi s brojnim fiziološkim učincima (Novak, 2021). Rastući trend konzumacije zobi pokazuje sve veću primjenu u proizvodnji sladoleda, hrane za dojenčad i zobenog napitka (Zwer, 2004). U tablici 1 prikazana je botanička kvalifikacija zobi.

Tablica 1. Botanička kvalifikacija zobi kao biljke (Vukšić, Maleš i Verbanac, 2020)

Razred	<i>Equisetopsida</i>
Podrazred	<i>Magnoliidae</i>
Red	<i>Poales</i>
Porodica	<i>Poaceae ili Gramineae</i>
Rod	<i>Avena</i>

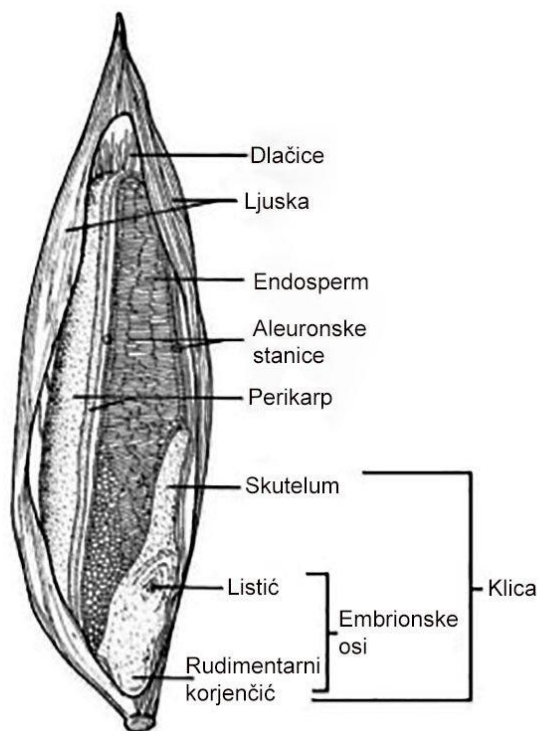
2.1.1. Morfologija zobi

Avena sativa L. je jednogodišnja zeljasta biljka (*Plantae*) iz porodice trava (*Poaceae*), reda travolike (*Poales*), koja može narasti do visine oko 1,5 metara. Stabljike mogu biti busenaste ili usamljene, uspravne ili savijene u bazi, a obično su glatke. Listovi su

neartikulirani i zeleni, sa zaobljenim ovojnicama na leđima, dok je ligula tupa i membranozna. Cvatuća struktura je razgranata metlica s 2-3 cvijeta. Zrno zobi čvrsto je zatvoreno tvrdom plevom i paleom, a veličina sjemena varira ovisno o sorti (Singh, De and Belkheir, 2013). Obično je oko 30.000 sjemenki po kilogramu usjeva (Gibbs Russell i sur., 1990).

Osim *Avena sativa* L., postoje i druge sorte zobi koje uključuju crvenu zob (*A. byzantina*), veliku голу zob (*A. nuda*), malu голу zob (*A. nudibrevis*), divlju crvenu zob (*A. steriles*), pustinjsku zob (*A. wiestii*), vitku zob (*A. barbata*), pješčanu zob (*A. strigosa*), abesinsku zob (*A. abyssinica*, *A. wiestii*) i divlju zob (*A. fatua*) (Gibbs Russell i sur., 1990).

Sjemenka zobi sastoji se od tri glavna dijela (slika 1). Klica (embrio) čini otprilike 3 % mase sjemenke, ovojnica (perikarp) 38-40 %, dok endosperm čini najveći udjel mase zrna (58-60 %) (Novokmet, 2020). Površina zrna prekrivena je dlačicama koje mogu biti gusto raspoređene ili rijetke (Delcour i Hoseneey, 2010). Od slojeva, sjemenku čine perikarp, omotač sjemena, nucelarni epidermis i endosperm. Endosperm je bogat škrobom, proteinima, lipidima i visokim udjelom β -glukana, a njegov vanjski sloj, kao i kod svih žitarica, čine aleuronske stanice. Klica, koja se proteže do trećine duljine zrna i veća je od pšenične klice, sastoji se od embrionske osi i skuteluma koji osigurava hranu tijekom klijanja (Novokmet, 2020).



Slika 1. Građa sjemenke zobi (prema Young, 1986)

2.1.2. Kemijski sastav i nutritivna vrijednost zobi

Zob je izuzetno hranjiva namirnica koja se često koristi i kao lijek za razne bolesti. Istraživanja su pokazala da većina osoba s celijakijom može tolerirati zob, što je čini pogodnom za bezglutensku prehranu (Klose i Arendt, 2012). Osim toga, bogata je proteinima te sadrži mnoge korisne mineralne elemente poput željeza, kalcija, kalija, magnezija, bakra, cinka, silicija i selen, te niz vitamina kao što su vitamini B1, B2, B6, B12, niacin, C, A i E. Ti mineralni elementi i hranjive tvari ključni su za jačanje kostiju i zubi te za održavanje zdravog živčanog sustava. Zob obiluje različitim kemijskim spojevima poput ugljikohidrata, proteina, avenantramida, lipida, flavonoida, saponina i sterola. Avenacin, triterpenoidni saponin, nalazi se u korijenu, dok su avenakosidi A i B prisutni u listovima (Singh, De and Belkheir, 2013).

Prehrambena vlakna, važna komponenta ljudske prehrane, prisutna su u ne škrobnim polisaharidima iz stanične stijenke zrna zobi. Vlakna su jestivi biljni ugljikohidrati koji se ne probavljaju u tankom crijevu, već se djelomično ili potpuno fermentiraju u debelom crijevu pomoću crijevne mikroflore. Uključuju polisaharide, oligosaharide, lignin i srodne biljne tvari. Zob sadrži i topiva i netopiva vlakna, a ukupni udjel vlakana varira između 10,9 i 13,9% (Novak, 2021). U usporedbi s drugim biljnim namirnicama, zob ima najveći udjel vlakana (tablica 2).

Zobeni škrob ima karakteristična svojstva želatinizacije i sadrži β -glukan, koji je najznačajnije prehrambeno vlakno zobi. Zob se ističe visokim sadržajem topivih vlakana u obliku β -glukana, ali također sadrži i netopiva vlakna poput arabinoksilana i celuloze (Singh, De and Belkheir, 2013).

Zob je jedina žitarica koja sadrži globulin, avenalin, kao glavni (80%) skladišni protein, te avenin, manji prolaminski protein. Kvaliteta zobenog proteina gotovo je jednaka kvaliteti sojinog proteina, koji je jednak mesu, mlijeku i jajima prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO). Sadržaj proteina u jezgrama zobi bez ljuske kreće se od 12-24%, što je najviše među žitaricama (Singh, De i Belkheir, 2013). U usporedbi s drugim žitaricama, zob karakterizira viši sadržaj lizina, limitirajuće aminokiseline u žitaricama.

Tablica 2. Sadržaj vlakana u nekim važnim biljnim namirnicama (*prema Singh, De and Belkheir, 2013*)

Namirnica	Vlakna (g 100 g ⁻¹)
Zob	10,3
Pšenica	9,5
Ječam	9,2
Kukuruz	7,3
Riža	2,8
Voće i povrće	0,5-5,0
Orašasti plodovi	4,0-12,0
Mahunarke	5,0-18,0

Ukupni sadržaj ugljikohidrata, uključujući celulozu i ne škrobne polisaharide, može doseći 75–80 % suhe tvari zobi. Primarna komponenta zobi je škrob, čiji sadržaj varira ovisno o vrsti i uvjetima uzgoja (Khanna, 2016). Škrob je glavna sastavnica zrna zobi i ključni faktor probavljivosti zrna. Općenito, sadržaj škroba i proteina u zobi su obrnuto proporcionalni. Zoben škrob ima svoju intermedijarnu frakciju između amilopektina i amiloze, koja je pretežno linearna (Boczkowska i sur., 2016).

Zob je izvrstan izvor lipida i sadrži znatno više masnih kiselina u usporedbi s ostalim žitaricama. Količina lipida varira između 5 i 9 %, pri čemu se većina nalazi u endospermu (Rasane i sur., 2013). Također, ističe se povoljnim omjerom nezasićenih i zasićenih masnih kiselina te je posebno bogata esencijalnim masnim kiselinama poput linolne masne kiseline (18:2), koja čini oko 35,5 % ukupnog udjela masnih kiselina (Rosentrater i Evers, 2018).

2.2. NAPITAK OD ZOBİ

2.2.1. Svojstva zobenog napitka

Napitak od zobi je emulzija koje nastaje razgradnjom (smanjenjem veličine) zobi te se ekstrahira u vodi i homogenizira.

Neki od glavnih atributa zobenog napitka su antioksidacijska svojstva te bogatstvo vitaminima i mineralnim elementima poput kalcija, vitamina B skupine i vitamina D, osobito ako je prilikom same proizvodnje obogaćen.

Zobeni napitak je izvor vlakana te sadrži β -glukan, vrstu topivih vlakana korisnih za zdravlje srca. β -glukan čini molekulu fleksibilnom, što doprinosi funkcionalnim svojstvima poput viskoznosti, sposobnosti zadržavanja vode i topljivosti. Također, ima korisne učinke na

kontrolu krvnog tlaka, zdravlje arterija i razinu inzulina, kao i smanjenje razine ukupnog i LDL kolesterola (Singh, De i Belkheir, 2013).

Zobeni napitak može biti koristan za probavni sustav i pomoći u prevenciji raka debelog crijeva. Međutim, zobeni napitak ima nekoliko nedostataka. Primjerice, može biti siromašan izvor kalcija, ključnog mineralnog elementa za rast i razvoj, pa se često komercijalni zobeni napitak dodatno obogaćuje kalcijem. Još jedan nedostatak je visok udjel škroba, koji iznosi oko 60 %, zbog čega se tijekom zagrijavanja može stvoriti gel velike viskoznosti, smanjujući pritom prihvatljivost proizvoda kod potrošača (Vrhovec, 2021). Kako bi se to izbjeglo, potrebno je primijeniti prethodnu hidrolizu škroba.

Tablica 3 prikazuje nutritivni sastav 100 mL zobenog napitka. Pokazuje da je zobeni napitak relativno niskokaloričan, bogat kalcijem i kalijem, te da najveći dio čine ugljikohidrati sa 6,67 g na 100 mL od kojih šećeri čine 2,92 mg, a dijetalna vlakna 0,8 g. Također, u manjim količinama sadrži proteine, lipide i druge nutrijente poput željeza, fosfora i vitamina B12. Ovaj sastav ukazuje na to da zobeni napitak može biti koristan dodatak prehrani, posebno za one koji traže izvor kalcija, kalija i vitamina B12.

Tablica 3. Nutritivni sastav zobenog napitka (količina u 100 mL napitka) (USDA, 2021a)

Sastojak	Količina	Sastojak	Količina
Energija (kcal)	50,0	Kalcij, Ca (mg)	146,0
Proteini (g)	1,25	Željezo, Fe (mg)	0,12
Lipidi (g)	2,08	Fosfor, P (mg)	112,0
Ugljikohidrati (g)	6,67	Kalij, K (mg)	162,0
Vlakna (g)	0,8	Natrij, Na (mg)	42,0
Šećeri (g)	2,92	Riboflavin (mg)	0,25
Zasićene masne kiseline (g)	0,21	Vitamin B12 (µg)	0,5
Kolesterol (mg)	0,0		

2.2.2. Proizvodnja zobenog napitka

Suvremeni postupci proizvodnje biljnih napitaka ovise o vrsti i obliku sirovine. Neke sirovine, poput riže i zobi, dolaze već oljuštene, dok druge, poput lješnjaka i badema, treba namakati u vrućoj vodi i potom oljuštiti. Industrijska proizvodnja biljnih napitaka obuhvaća pripremu i mljevenje sirovina za ekstrakciju, ekstrakciju vodom, odvajanje krutih čestica od tekućine, formuliranje proizvoda (dodavanje ulja, šećera, aditiva), homogenizaciju, pasterizaciju ili sterilizaciju te pakiranje (Glavak, 2021).

Glavni sastojci zobenog napitka su voda i zobeno brašno ili pahuljice. Različite varijacije

među proizvođačima proizlaze iz dodanih sastojaka, poput biljnog ulja, soli, stabilizatora, vitamina i mineralnih elemenata, zaslađivača te aroma. Opcije mogu uključivati punomasne, ekstra kremaste ili nemasne varijante, te okuse poput vanilije i čokolade (Vrhovec, 2021). Postupak proizvodnje zobenog napitka započinje miješanjem zobenih pahuljica s vodom kako bi se stvorila kaša. Dobivena kaša se podvrgava hidrolizi kako bi se razgradio škrob i spriječila želatinizacija i zgušnjavanje pri visokim temperaturama. Zbog visokog udjela škroba u zobi s temperaturom želatinizacije između 44,7 °C i 73,7 °C, javlja se problem pri toplinskoj obradi zobenog napitka zbog stvaranja gela. Stoga je potrebno hidrolizirati škrob u maltodekstrine kako bi se izbjegli navedeni problemi (Vrhovec, 2021). Najčešće se primjenjuje enzimska hidroliza (α - i β -amilaza) koja se odvija na 70-75 °C (Bubnić, 2023).

Ekstrakcija vodom može značajno utjecati na konačni sastav proizvoda, a njezina učinkovitost može se povećati povišenjem temperature, upotrebom enzima ili reguliranjem pH vrijednosti (dodavanjem NaOH ili bikarbonata). Alkalna ekstrakcija posebno je učinkovita jer povećava topljivost i ekstraktibilnost proteina (Glavak, 2021). Nakon hidrolize škroba slijedi odvajanje većih čestica biljnog materijala koje se provodi filtracijom. Kako bi se poboljšala kvaliteta, stabilnost i hranjiva vrijednost proizvoda, mogu se dodati ulja, šećeri, zaslađivači, arome, aditivi, vitamini i mineralni elementi kao i stabilizatori, zgušnjivači, emulgatori i regulatori kiselosti (Glavak, 2021). Nadalje, homogenizacijom se osigurava stabilnost napitka te sprječavanje taloženja disperziranih tvari, a termičkom obradom zaštita od mikroorganizama, odnosno produljenje roka trajanja. Nakon proizvodnje, zobeni napitak se treba skladištiti na hladnom mjestu, idealno na temperaturi od 4 °C, sve do distribucije u trgovačke centre (Glavak, 2021).

2.3. RIŽA

Riža (*Oryza sativa* L.) je jedna od najvažnijih žitarica na svijetu, osnovna hrana za više od polovice svjetske populacije. Azijska kultivirana riža (*Oryza sativa* L.) zauzima jedinstveno mjesto među domaćim usjevima, jer se gotovo isključivo konzumira kao zrno i osigurava 20 % dnevnih kalorija za svjetsku populaciju (Garris i sur., 2005).

Riža je treća po količini proizvodnje i uzgojne površine među žitaricama, te je osnovna hrana u tropskim i suptropskim predjelima Azije, Afrike i Amerike, posebno u Indiji, Kini, Indoneziji i Japanu. Kao tropska i suptropska kultura, manje je rasprostranjena od drugih žitarica, ali njezina genetska raznolikost omogućava prilagodbu različitim geografskim i ekološkim uvjetima na obje hemisfere (Fornažar, 2017).

Azijska domaća riža, *Oryza sativa* L., ima dvije glavne podvrste: *indica* i *japonica*. *Indica* je dugozrnata, s dugim i tankim zrnima koja ostaju odvojena nakon kuhanja. *Japonica* je kratkozrnata, s kraćim i okruglijim zrnima koja postaju ljepljiva kad se skuha (Zadravec,

2019).

2.3.1. Morfologija riže

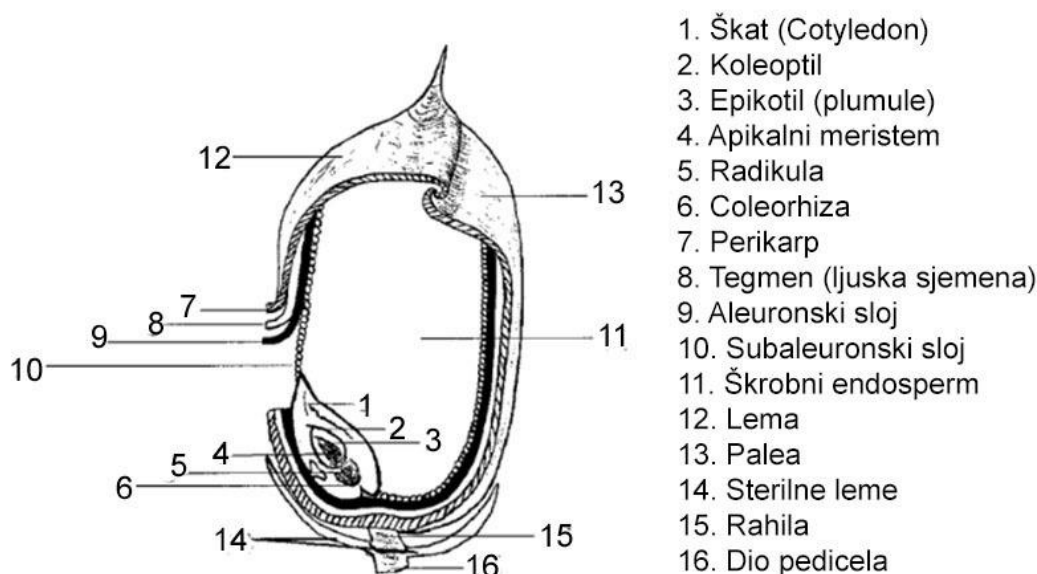
Plod riže, poznat kao zrno, može varirati u boji (žuta, smeđa ili crna) i obliku, s pljevicom koja je ponekad srasla uz zrno.

Zrno riže sastoji se od dva glavna dijela: ljuske i sjemenke. Potpuna struktura zrna prikazana je na slici 2. Napolirana sjemenka poznata je kao smeđa riža. Ljuska se sastoji od neplodnih ljuskica, rahile, pleve i ljuske. Ona obuhvaća oko dvije trećine sjemena, s rubovima pleve koji se uklapaju unutra kako bi čvrsto obavili sjeme. Sjemenka sadrži embrij i škrobni endosperm, okružene sjemenskom opnom (tegmenom) i perikarpom (Smith i Dilday, 2002).

Embrij je rudimentarno biljno tkivo koje će se razviti u biljku riže tijekom klijanja. Kotiledon okružuje prva tri lista (plumule), kao i apikalni meristem. Korijen je okružen kotiledonom (sjemenim korijenom). Sve te stanice su vrlo male i jako nabreknu kada se voda upije tijekom klijanja (Smith and Dilday, 2002).

Endosperm je tkivo formirano tijekom zrenja, koje služi kao hrana za embrij tijekom klijanja i rani rast sadnice. Sastoji se od tkiva za skladištenje škroba, ispunjenog škrobnim granulama i malim brojem proteinskih tijela. Okružen je aleuronskim slojem stanica, koje su male i gotovo kockaste, te sadrže proteinska i lipidna tijela, ali ne i škrob. Subaleuronski sloj, koji leži neposredno ispod aleurona, ima karakteristike između aleurona i tkiva za skladištenje škroba (Smith and Dilday, 2002).

Tegmen, ili sjemenska ovojnica, je tanka membrana s razbijenim staničnim stijenkama, što predstavlja ostatak unutarnjeg integumenta stijenske jajnika. Perikarp je zrela stijenska jajnika, koja se sastoji od epiderme i nekoliko slojeva parenhima koji okružuju vaskularni snop. Taj snop prenosi otopine i mineralne elemente do razvijajućeg sjemena tijekom zrenja. U potpuno zreloj sjemeni, parenhim se raspadne i postaje spužvast, dok vaskularni snopovi gube svoju funkciju (Smith i Dilday, 2002).



Slika 2. Struktura zrna riže (prema Smith i Dilday, 2002)

2.3.2. Kemijski sastav i nutritivna vrijednost riže

Riža (*Oryza sativa* L.) je žitarica bogata škrobom i proteinima, ali s malo lipida. Zbog niskog udjela esencijalne aminokiseline lizina, treba je kombinirati s drugim izvorima proteina. Rižini proteini su lako probavljivi, bez glutena i hipoalergeni, ali slabo topljivi u vodi pri neutralnom pH. Glavne masne kiseline u riži su oleinska (C18:1), palmitinska (C16:0) i linolna (C18:2). Riža je bogata vitaminom E, fosforom, magnezijem i kalijem. Rižini napitci sadrže mnogo ugljikohidrata, ali malo proteina i lipida te se često aromatiziraju. Zbog visokog udjela škroba, emulzije su nestabilne, što se može poboljšati hidrolizom škroba α i β -amilazama (Glavak, 2021).

Smeđa riža, koja ostaje nakon uklanjanja pljevice, znatno je hranjivija od bijele. Bogatija je prehranbenim vlaknima, lizinom i mineralnim elementima poput kalcija, fosfora i kalija. Međutim, rijetko se konzumira jer zahtijeva duže kuhanje. Također, tanji sloj pljevice sklon je kvarenju i može uzrokovati gorak okus riže (Subota, 2016).

Tablicom 4 prikazane su razlike u kemijskom sastavu između smeđe i bijele riže. Smeđa riža sadrži manji udjel ugljikohidrata u usporedbi s bijelom rižom, ali je bogatija proteinima, mastima, vlaknima i pepelom. Prema tome, smeđa riža sadrži više hranjivih tvari i prehranbenih vlakana u prehrani u usporedbi s bijelom rižom. Osim toga, veći udjel vlakana u smeđoj riži može pružiti dodatne zdravstvene koristi, kao što pozitivan utjecaj na probavu i regulacija razine šećera u krvi.

Tablica 4. Prikaz kemijskog sastava zrna riže (Subota, 2016)

	Prosječni kemijski sastav zrna riže (%)				
	Ugljikohidrati	Proteini	Masti	Vlakna	Pepeo
Smeđa riža	57	7,2	1,9	0,7	1
Bijela riža	67	5,7	0,3	0,3	0,5

2.4. RIŽIN NAPITAK

2.4.1. Svojstva rižinog napitka

Napitak od riže je biljni napitak proizveden od mljevene riže i vode. Rižin napitak ima obično blagu, slatku notu, neprozirne je bijele ili bež boje i koristi se kao piće ili kao sastojak u raznim receptima.

Rižin napitak sadrži više šećera od kravljeg mlijeka, jer se tijekom obrade ugljikohidrati razgrađuju u šećere, dajući napitku slatki okus. Istraživanja pokazuju da isključiva konzumacija rižinog napitka kao zamjene za kravlje mlijeko može dovesti do pothranjenosti, posebno kod dojenčadi, zbog manjeg udjela proteina i masti (Mustapić, 2022).

Rižin napitak je dobar izbor za osobe koje su alergične na sastojke drugih biljnih napitaka, poput bademovog ili sojinog napitka, te ga često konzumiraju i osobe intolerantne na laktozu. Ovaj napitak sadrži bioaktivne sastojke poput α -tokoferola, koji štiti organizam od slobodnih radikala i oksidativnog stresa, te γ -orizanola, koji se povezuje s brojnim farmakološkim svojstvima poput antioksidativnog, protuupalnog i antidijabetičkog djelovanja. Unos ovih komponenti kroz rižin napitak povezan je sa smanjenim rizikom od karcinoma, ublažavanjem simptoma menopauze i regulacijom razine lipida u krvnoj plazmi (Blažević, 2022).

Po pitanju funkcionalnosti i utjecaja na organizam, napitak od rižinih mekinja je bolji izbor. Sadrži polifenole poput fenolne kiseline, antocijana i proantocijanidina koji uključuju katehin i epikatehin (Shao i sur., 2018). Također, u prilog mu ide značajna količina željeza, budući da više od 85 % ukupnog željeza riže dolazi iz mekinja (Paul i sur., 2020).

Nadalje, važni bioaktivni spojevi rižinog napitka su vitamini tiamin, niacin i piridoksin, koji su ključni mikronutrijenti neophodni za normalan metabolizam stanica i funkcioniranje živčanog sustava.

S druge strane, istraživanja pokazuju da rižin napitak nije potpuno prikladna zamjena za mlijeko jer sadrži velike količine ugljikohidrata, a premalo proteina, te mu nedostaju neki vitamini i mineralni elementi poput β -karotena i željeza. Iako je riža bogata željezom, tijekom proizvodnje rižinog napitka većina dijelova zrna bogatih ovim elementom se uklanja, pa je

napitak potrebno obogatiti željezom (Paul i sur., 2020). Dodatno, novija istraživanja ukazuju na visok sadržaj arsena u rižinom napitku, osobito onom napravljenom od rižinih mekinja (Hojsak i sur., 2015).

Nutritivni sastav 100 grama rižinog napitka prema USDA (tablica 5) pokazuje da je ovaj napitak niskokaloričan i nizak u makronutrijentima kao što su proteini i masti, ali sadrži značajne količine određenih vitamina i mineralnih elemenata posebno kalcija, vitamina B12 i vitamina D, što može biti korisno za one koji traže alternative mliječnim proizvodima. Od ugljikohidrata, šećera ima 5,28 g, a dijetalnih vlakana 0,3 g. Među lipidima, najviše ima mononezasićenih masnih kiselina (0,625 g) i polinezasićenih (0,313 g), dok zasićene i trans masne kiseline nisu prisutne.

Tablica 5. Nutritivni sastav rižinog napitka (količina u 100 mL napitka) (USDA, 2021b).

Sastojak	Količina	Sastojak	Količina
Voda (g)	89,3	Kalcij, Ca (mg)	118,0
Energija (kcal)	47,0	Željezo, Fe (mg)	0,2
Proteini (g)	0,28	Magnezij, Mg (mg)	11,0
Lipidi (g)	0,97	Fosfor, P (mg)	56,0
Pepeo (g)	0,3	Kalij, K (mg)	27,0
Ugljikohidrati (g)	9,17	Natrij, Na (mg)	39,0
Dijetalna vlakna (g)	0,3	Cink, Zn (mg)	0,13
Šećeri (g)	5,28	Bakar, Cu (mg)	0,037
Zasićene masne kiseline (g)	0,0	Mangan, Mn (mg)	0,282
Mononezasićene masne kiseline (g)	0,625	Selen, Se (mg)	2,2
Polinezasićene masne kiseline (g)	0,313	Tiamin (mg)	0,027
Trans masne kiseline (g)	0,0	Riboflavin (mg)	0,142
		Niacin (mg)	0,39
		Vitamin B6 (mg)	0,039
		Folat (µg)	2,0
		Vitamin B12 (µg)	0,63
		Vitamin A (µg)	63,0
		Vitamin E (µg)	0,47
		Vitamin D (IU)	42,0

2.4.2. Proizvodnja rižinog napitka

Proizvodnja rižinog napitka je složen tehnološki proces koji uključuje nekoliko važnih koraka kako bi se dobio kvalitetan i zdravstveno ispravan proizvod. Prvi korak je izbor sirovina, pri čemu se koristi visokokvalitetna bijela ili smeđa riža, po mogućnosti organskog porijekla, te čista voda bez mikrobioloških zagađenja.

Mljevenje rižinog zrna može biti potpuno ili djelomično. Potpuno mljevena riža prolazi kroz postupak uklanjanja ljuske, klice i mekinja. S druge strane, kod djelomično mljevene riže uklanja se samo ljuska. Kod potpunog mljevenja dolazi do značajnijih gubitaka vitamina, mineralnih elemenata i vlakana u usporedbi s djelomično mljevenom rižom (Bubnić, 2023).

S obzirom da rižin napitak ima visok udjel škroba koji se nepovoljno odražava na stabilnost emulzije, sljedeći korak je enzimska hidroliza, gdje se riža miješa s vodom i zagrijava, a zatim se dodaju enzimi (α - i β -amilaza ili glukozidaza) koji razgrađuju škrob u jednostavnije šećere (Silva i sur., 2020). Nakon hidrolize, smjesa se filtrira kako bi se uklonili ostatci riže, a za postizanje visoke čistoće napitka može se koristiti mikrofiltracija ili ultrafiltracija.

Nakon postizanja odgovarajuće viskoznosti, dodaju se ulje, sol, stabilizatori, vitamini, mineralni elementi, arome i zaslađivači. Homogenizacijom napitka se dobiva stabilna emulzija (Vrhovec, 2021). U rižin napitak također se mogu dodati prirodne ili umjetne arome poput vanilije i čokolade, zgušnjivači poput ksantan gume, tapioka škroba ili karagenana, te vitamini i mineralni elementi poput kalcija i vitamina A, D i B12 (Lamothe i sur., 2020).

Konačno, provodi se sterilizacija gotovog proizvoda kako bi se uništili patogeni mikroorganizmi i produžila trajnost napitka. Ona može uključivati pasterizaciju ili UHT sterilizaciju, pri čemu se sterilizacija obavlja 15-20 minuta na 121 °C ili nekoliko sekundi na 135 °C, dok se pasterizacija provodi na temperaturama ispod 100 °C kroz nekoliko minuta. Nakon sterilizacije, napitak se aseptički puni u sterilnu ambalažu i skladišti na temperaturi ispod 4 °C, pri čemu se hladni lanac mora održavati i tijekom transporta (Dubovečak, 2022).

2.5. FERMENTACIJSKI PROCESI U PROIZVODNJI RIŽINIH I ZOBENIH NAPITAKA

Fermentacija je jedan od najstarijih procesa konzerviranja hrane s ciljem produžetka roka trajanja ali i poboljšanja nutritivnih i senzorskih svojstava. Žitarice su posebno prikladne zbog svog sastava koji pogoduje rastu mikroorganizama. Tradicionalni pripravci od žitarica najviše se konzumiraju u Africi, gdje se koriste za prehranu populacije i dojenčadi. Pripremaju se iz kukuruza, prosa i sirka uz spontanu fermentaciju bakterija mliječne kiseline i kvasaca.

Najčešći mikroorganizmi uključuju rodove *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* te *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Endomycopsis*, *Hansenula*, *Saccharomyces* i *Trichosporon* (Šifner, 2021).

Fermentirani mliječni napitci konzumiraju se u Europi već 4000 godina. U novije vrijeme, potrošnja probiotičkih napitaka znatno je porasla u Europi, Americi i azijsko-pacifičkim zemljama, pri čemu više od 90 % tih proizvoda sadrži sojeve *Lactobacillus acidophilus* te *Bifidobacterium* spp. (Božanić i sur., 2002). Žive stanice probiotičkih bakterija pomažu uspostaviti normalnu mikrobiotu probavnog sustava, poboljšavaju iskorištavanje laktoze kod osoba s malapsorpcijom laktoze, smanjuju razinu kolesterola u krvi i potencijalno pomažu u prevenciji karcinoma. Povećanje broja bifidobakterija u debelom crijevu olakšava opstipaciju, poboljšava apsorpciju kalcija i magnezija, stimulira imunost te sprječava intestinalne infekcije (Božanić i sur., 2002).

2.5.1. Starter kulture

Starter kultura je mikrobni pripravak sastavljen od velikog broja stanica barem jednog mikroorganizma. Dodaje se sirovini kako bi omogućila brzu i kontroliranu fermentaciju u proizvodnji fermentirane hrane. Najznačajnije od njih su bakterije mliječne kiseline (BMK), gram-pozitivne, okruglog ili štapićastog oblika, nesporigene, anaerobne ili mikroaerofilne. One fermentiraju heksoze u mliječnu kiselinu, otporne su na kiseline, te imaju nizak udjel gvanina i citozina u molekuli DNA (Novak, 2021). U većini slučajeva fermentaciju provode mješovite kulture koje mogu uključivati različite vrste bakterija, kombinacije bakterija i kvasaca, ili bakterija i plijesni. Odnosi među vrstama unutar ovih kultura moraju biti sinergistički, što znači da one rastu u simbiozi i međusobno potiču svoj rast (Petrovicky, 2016).

Trajanje fermentacije biljnih napitaka obično varira između 12 i 24 sata, ovisno o svojstvima sirovine biljnog materijala te vrsti mikroorganizama. Duža fermentacija može negativno utjecati na nutritivna i organoleptička svojstva napitaka (Cichońska i Ziarno, 2022).

Probiotici su najčešće dostupni kao dodaci prehrani ili kao hrana za posebne medicinske potrebe. Komercijalno dostupni sojevi obuhvaćaju različite vrste rodova *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Oni se smatraju korisnima za zdravlje zbog raznih mehanizama djelovanja poput normalizacije crijevne mikroflore, konkurencije s patogenima i proizvodnje kratkolančanih masnih kiselina (Vitali Čepo i sur., 2020). Primjerice, fermentirani zobeni napitci nazivaju se i funkcionalnim zbog simbiotičkog učinka probiotičkih starter kultura i prebiotika poput β -glukana (El-Batawy i sur., 2019).

Preživljavanje pojedinih bakterija u proizvodu može biti otežano. Različiti čimbenici mogu utjecati na preživljavanje korisnih bakterija u jogurtu, uključujući kiselost, vodikov dioksid,

temperaturu čuvanja, sadržaj kisika, koncentraciju mliječne i octene kiseline (Shah et al., 1995.; Lankaputhra et al., 1996.). Bakterija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* može uzrokovati naknadnu kiselost tijekom skladištenja, što može smanjiti preživljavanje probiotičkih bakterija. Osim toga, ovaj soj proizvodi vodikov peroksid koji može inhibirati rast soja *L. acidophilus*, ali se taj problem može riješiti korištenjem starter kulture bez *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Božanić i sur., 2002).

Prema dostupnim opisima, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus leichmannii*, *Lactobacillus lactis* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dijele zajednička svojstva poput proizvodnje D(-) mliječne kiseline iz glukoze (Weissi sur., 1983). Sinergija između različitih vrsta bakterija može ubrzati proces fermentacije, primjerice, mješavina bakterija poput *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* u fermentaciji mlijeka za proizvodnju jogurta. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* proizvodi određene aminokiseline koji potiču rast *S. thermophilus*, dok *S. thermophilus* može stvarati uvjete koji su povoljni za rast *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, poput proizvodnje mravlje kiseline i ugljikovog dioksida. *Lactobacillus delbrueckii* je nepatogena gram-pozitivna bakterija koja se nalazi u različitim ekološkim staništima, uključujući mliječne proizvode, biljke i ljudski gastrointestinalni trakt (Dan i sur., 2019).

Streptococcus thermophilus je važna BMK, odmah iza *Lactococcus lactis* s GRAS (općepriznato kao sigurno, engl. Generally Regarded As Safe) i QPS (kvalificirana pretpostavka o sigurnosti, engl. Qualified Presumption of Safety) statusom zbog dugogodišnje sigurne uporabe u hrani. Za razliku od drugih gram-pozitivnih bakterija, preferira laktozu kao izvor ugljika umjesto glukoze. Također može stvarati egzopolisaharide koji poboljšavaju teksturu fermentiranih proizvoda (Novak, 2021).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Za proizvodnju fermentiranog napitka od riže korišten je komercijalno nabavljen biljni napitak od riže marke "Alpro" bez dodataka. Za proizvodnju fermentiranog napitka od zobi, proizveden je zobeni napitak od zobenih pahuljica (Nutrigoold, Hrvatska) i vode (slika 3). Za fermentaciju oba napitka korištena je ista veganska kultura (Vege 053 LYO, 200 DCU, Danisco, IFF, Francuska). Tablicom 6 je prikazana nutritivna vrijednosti rižinog napitka, a tablicom 7 nutritivna vrijednosti zobenih pahuljica.



Slika 3. Zobene pahuljice "Nutrigoold" i rižin napitak "Alpro" (vlastita fotografija)

Tablica 6. Nutritivna vrijednost rižinog napitka "Alpro" (deklaracija s proizvoda)

Energija	200 kJ (47 kcal)
Masti	1 g
Zasićeno	0,1 g
Jednostruko nezasićeno	0,3 g
Višestruko nezasićeno	0,6 g
Ugljikohidrati	9,5 g
Šećeri	3,3 g
Vlakna	0 g
Proteini	0,1 g
Sol	0,09 g
Vitamini	
Vitamin D	0,75 µg
Vitamin B12	0,38 µg
Mineralni elementi	
Kalcij	120 mg

Tablica 7. Nutritivna vrijednost zobnih pahuljica "Nutrigold" (deklaracija s proizvoda)

Nutritivna vrijednost	Na 100 g
Energija	1546 kJ (367 kcal)
Masti	6,7 g
Od kojih zasićene masne kiseline	1,3 g
Ugljikohidrati	59,4 g
Od kojih šećeri	10,9 g
Vlakna	9,6 g
Proteini	11,8 g
Sol	<0,01 g

Sirovine za proizvodnju:

- Rižin napitak (Alpro, Belgija);
- Zobene pahuljice (Nutrigold, Hrvatska);
- Demineralizirana voda.

Reagensi:

- Otopina KCl (Kemika, Hrvatska);
- Pufer za kalibraciju elektrode pH-metra;
- Natrijeva lužina (0,1 M, Kemika, Hrvatska);
- 5 %-tna otopina kobaltovog sulfata ($\text{CoSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, Kemika, Hrvatska);
- Indikator fenolftalein (Kemika, Hrvatska);
- Otopina NaCl (Kemika, Hrvatska);
- Mikrobiološke podloge (Biolife, Italija): MRS agar – za određivanje laktobacila; MRS; agar pH 5,4, anaerobno – za određivanje bifidobakterija; M17 – za određivanje streptokoka; Tryptic glucose bile agar – ukupan broj bakterija; Violet red agar – broj enterobakterija; DRBC agar za određivanje kvasaca i plijesni;
- 0,1 M otopina AgNO_3 (Kemika, Hrvatska);
- Zasićena otopina indikatora, K_2CrO_4 (Lachner, Hrvatska);
- Kivete.

Kultura za fermentaciju:

- Danisco Vege 053 LYO 200 DCU;
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*;
- *Streptococcus thermophilus*;
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*;

- *Lactobacillus acidophilus*;
- *Bifidobacterium lactis*.

Pribor:

- Čašice za fermentaciju;
- Stakleni štapići;
- Staklene čaše;
- Staklene boce;
- Čepovi za boce;
- Aluminijska folija;
- Grubo i fino sito;
- Petrijeve zdjelice;
- Menzura;
- Staklene epruvete;
- Traka za suhu i mokru sterilizaciju;
- Boca štrcaljka;
- Staničevina;
- Erlenmayerove tikvice;
- Pipete;
- Bireta za lužinu od 50 mL (s podjelom na 0,1 ili na 0,05 mL);
- Bunsenov plamenik;
- Mikropipete od 1000 μ L i 100 μ L;
- Čepovi za epruvete;
- Sterilne tipse;
- Aluminijske posudice s ravnim dnom, visine 20 do 25 mm, promjera 50 do 75 mm, s poklopcima koji dobro prijanjaju i lako se uklanjaju;
- Eksikator;
- Porculanski lončići za žarenje;
- Hvataljka;
- Lijevak;
- Trbušasta pipeta od 25 mL;

Aparatura:

- Analitička vaga (AB104, Mettler Toledo, Švicarska);
- Brojač kolonija (BOECO Colony Counter CC-1, Njemačka);
- Vorteks mješalica (MS2 Minishaker, IKA, Njemačka);

- Vodena kupelj;
- Muffolna peć (LP-08, Instrumentaria, Zagreb);
- Tehnička vaga (KB 3600-2N, KERN&Sohn GmbH, Njemačka);
- pH metar (WTW-ProfiLine pH 3110, Xylem Analytics, Njemačka);
- Magnetska miješalica s grijačem (Tehnica Rotamix 550 MMH, Slovenija);
- Štapni mikser (Gorenje, HB 802 W, Slovenija);
- Sušionik (ST01/02, Instrumentaria, Zagreb);
- Kolorimetar (Colorimeter PCE-CSM 3, PCE instruments, Njemačka);
- Termometar;
- Termostat (3u1 Inko, Hrvatska);
- Autoklav (Inko, Hrvatska);
- Rotacijski reometar (Rheometric Scientific RM-180, Rheometric, Inc., Piscataway, SAD).

3.2. METODE RADA

3.2.1. Priprema zobenog napitka

Za pripremu fermentiranog zobenog napitka korištene su zobene pahuljice koje su dan prije namočene u vodi te čuvane u pokrivenoj posudi, na sobnoj temperaturi do idućeg dana. Nakon toga, u ocijeđene pahuljice dodana je voda u omjeru 4:100 (40 g pahuljica i 1000 mL vode). Sadržaj je homogeniziran štapnim mikserom, a zatim procijeđen kroz grubo, pa kroz fino sito kako bi se dobio napitak (slika 4). 1 L procijeđenog napitka je najprije pasteriziran na temperaturi od 73 °C tijekom 15 sekundi uz stalno miješanje, a zatim ohlađen na temperaturu fermentacije od 42 °C. Prije fermentacije izmjeren je pH napitka.

Nakon toga, naciepljivanje je provedeno dodatkom 0,0135 g starter kulture (Vege 053 LYO, 200 DCU, Danisco, IFF, Francuska) u 1 litru pripremljenog napitka prema uputama proizvođača. Sadržaj je dobro promiješan pomoću steriliziranog staklenog štapića, nakon čega je razlijevan u prethodno sterilizirane čašice za fermentaciju. Napunjene čašice bile su prekrivene aluminijskom folijom u sterilnim uvjetima rada te stavljene na fermentaciju na temperaturu od 42 °C. Tijek fermentacije praćen je mjerenjem pH vrijednosti uzoraka svakih sat vremena. Fermentacija je prekinuta hlađenjem u hladnjaku na 4 °C kada je postignuta vrijednost od oko 4,6 pH jedinica.

Analize uzoraka zobenog napitka provedene su 1., 5., 10. i 15. dana hladnog skladištenja. Prvo su određivane mikrobiološke analize, a zatim aktivna i titracijska kiselost, te boja i reološka svojstva. Prvog i zadnjeg dana dodatno su određivani svi mikrobiološki pokazatelji, uključujući prisutnost enterobakterija te udjel suhe tvari, pepela i soli (NaCl).



Slika 4. Postupak finog procjeđivanja zobenog napitka (vlastita fotografija)

3.2.2. Priprema rižinog napitka

Za pripremu fermentiranog rižinog napitka kao polazna sirovina korišten rižin napitak marke "Alpro" bez dodataka. Za provedbu fermentacije ovog napitka primijenjen je isti postupak kao i kod pripreme napitka od zobi te su provedene iste analize istim redoslijedom.

3.2.3. Analize napitaka

3.2.3.1. *Kiselost napitaka*

Aktivna kiselost jedan je od važnih parametara za procjenu kvalitete hrane kao i za kontrolu procesa fermentacije. Može se definirati kao količina kiselosti prirodno prisutnih sastojaka u uzorku hrane ili tekućine kao što je ovdje slučaj.

Postupak:

Mjerenje je provedeno primjenom kalibriranog pH metra, čija je elektroda prethodno bila uronjena u otopinu KCl-a. Elektroda je zatim isprana destiliranom vodom, posušena staničevinom, te uronjena u uzorak. Nakon što se pH vrijednost stabilizirala na zaslonu uređaja, izvršeno je očitavanje. Između svakog mjerenja, elektroda je morala biti ponovno isprana destiliranom vodom, a po završetku uporabe vraćena je u otopinu KCl-a (Božanić i sur., 2010).

Prvi korak kod određivanja udjela mliječne kiseline je titracija napitka s otopinom NaOH

određenog molariteta uz indikator fenolftalein kako bi se dobila titracijska kiselost koja se izražava u kiselinskim stupnjevima. Kiselinski stupanj odgovara broju mL NaOH određenog molariteta utrošenih za neutralizaciju 100 mL mlijeka, uz indikator fenolftalein. Metoda korištena u ovom eksperimentu je metoda po Soxhlet-Henkelu koja je službena titracijska metoda za određivanje stupnja kiselosti mlijeka ili mliječnih proizvoda u Republici Hrvatskoj (Božanić i sur., 2010). S obzirom kako se u ovom eksperimentu radilo s biljnim napitcima, a ne mlijekom, preračunavanjem iz kiselinskog stupnja [1] i [2] se dobila količina mliječne kiseline izražene u gramima.

Postupak:

Najprije je bilo potrebno pripremiti referentnu boju, koja označava točku do koje je potrebno titrirati natrijevom lužinom. Za pripremu referentne boje, u Erlenmayerovu tikvicu dodano je 20 mL uzorka napitka zajedno s 0,4 mL 5%-tne otopine kobaltovog sulfata ($\text{CoSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$). Za daljnju analizu, u drugu Erlenmayerovu tikvicu je dodano 20 mL uzorka, a zatim je pipetom dodan 1 mL indikatora fenolftaleina. Dobivenu smjesu se temeljito promiješalo i titriralo s 0,1 molarnom natrijevom lužinom sve do postizanja nježno ružičaste boje koja se održala stabilnom oko 1 minutu i predstavljala standardnu boju. Tijekom titracije je bilježen volumen utrošenog NaOH koji odgovara koncentraciji kiseline prisutne u uzorku (Božanić i sur., 2010).

Izračun kiselosti radi se prema formuli:

$$a \cdot 2 \cdot f = {}^{\circ}\text{SH} \quad [1]$$

gdje je a = mL 0,1 M NaOH utrošenih za neutralizaciju 20 mL mlijeka, f = faktor otopine natrijeve lužine (NaOH)= 0,1 molL⁻¹= 1

Za preračunavanje ${}^{\circ}\text{SH}$ u % mliječne kiseline, broj kiselinskih stupnjeva dijeli se sa 4 budući da se koncentracija mliječne kiseline izražava kao utrošak molarne lužine za neutralizaciju 100 mL mlijeka. Dobiveni rezultati se množe sa 0,09 jer 1 mL molarne lužine neutralizira 0,09 g mliječne kiseline (Božanić i sur., 2010).

$${}^{\circ}\text{SH} : 4 \cdot 0,09 = g \text{ mliječne kiseline} \quad [2]$$

gdje je ${}^{\circ}\text{SH}$ kiselinski stupanj po Soxhlet-Henkelu

3.2.3.2. Mikrobiološka analiza napitaka

Metoda korištena za određivanje broja bakterija i praćenje njihovog rasta je Kochova metoda koja predstavlja referentnu metodu za mikrobiološku analizu (Božanić i sur., 2010). Analiza je provedena na fermentiranim uzorcima napitka od zob i napitka od riže kroz 15 dana hladnog skladištenja, odnosno 1., 5., 10. i 15. dan, a analizirani mikroorganizmi bili su kvasci i plijesni te bakterije rodova *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* (*Streptococcus thermophilus*), *Lactobacillus* (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus acidophilus*) i *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium lactis*). Prvi i posljednji dan analize, određivala se kompletna mikrobiološka slika, dok ostalih dana analize (5. i 10. dan) nije određivan broj bakterijskih stanica roda *Enterobacteriaceae*.

Postupak:

Priprema fiziološke otopine

9 g NaCl je otopljeno u 1000 mL demineralizirane vode. Potom se otopina razdijelila u epruvete (slika 5) i sterilizirala u autoklavu (121 °C/20 minuta). Sterilne epruvete su se čuvale dobro zatvorene, na suhom i tamnom mjestu, sve do uporabe (Božanić i sur., 2010).



Slika 5. Epruvete s fiziološkom otopinom neposredno prije autoklaviranja (vlastita fotografija)

Priprema mikrobiološke podloge

Prema uputi proizvođača, odvagana je određena količina hranjive podloge koja se otopila u demineraliziranoj vodi. Prije zagrijavanja Erlenmayerove tikvice sa sadržajem na magnetskom mješaču, potrebno je temeljito promiješati kako bi se spriječilo da se sadržaj zalijepi za dno tikvice tijekom zagrijavanja. Zagrijavanje se provodilo sve dok se cijeli sadržaj nije otopio, a grlo tikvice se prekrilo aluminijskom folijom kako bi se osigurali sterilni uvjeti

rada (slika 6). Nakon što je sav sadržaj bio otopljen, prelio se u infuzijske boce koje su sterilizirane u autoklavu (121 °C/20 minuta) (Božanić i sur., 2010).



Slika 6. Zagrijavanje mikrobiološke podloge (vlastita fotografija)

Priprema decimalnog razrjeđenja

Uzorak napitka se prvo homogenizirao na Vorteks mješaču iz kojeg je sterilnom mikropipetom prenešen 1 mL uzorka u sterilnu epruvetu s 9 mL fiziološke otopine. Epruveta s nastalim razrjeđenjem je dobro homogenizirana na mješaču, nakon čega je iz nje također uzet 1 mL uzorka i prenesen u iduću sterilnu epruvetu s 9 mL fiziološke otopine. Na taj način postignuto je prvo razrjeđenje, a postupak se dalje ponavljao do željenog razrjeđenja (Božanić i sur., 2010).

Nacjepljivanje i inkubacija sterilnih Petrijevih ploča

Postupak je proveden tako što je 1 mL željenog decimalnog razrjeđenja prenesen na Petrijevu ploču. Tijekom nacjepljivanja poklopac Petrijeve ploče se lagano podigao tako da se mikropipeta, držeći je pod kutom od oko 45 °, može provući između poklopca i donjeg dijela Petrijeve ploče do sredine dna ploče. Vrh pipete ne smije dodirivati ni poklopac ni rub ploče prilikom nacjepljivanja u Petrijevu ploču. Na svaku ploču je napisana oznaka uzorka i decimalnog razrjeđenja (Božanić i sur., 2010).

Daljnji postupak nastavljen je zalijevanjem Petrijevih ploča najkasnije 15 minuta nakon pipetiranja razrjeđenja. U svaku ploču dodalo je se oko 25 mL hranjivog supstrata.

Supstrat se prethodno rastopio u mikrovalnoj pećnici te čuvao u vodenoj kupelji zagrijanoj na 50 °C, Iznimka je bila kod određivanja broja poraslih bakterija roda *Enterobacteriaceae*, gdje se na sterilne Petrijeve ploče s već prethodno razlivenom podlogom, nacieplilo 100 µL uzorka.

Sadržaj je bilo potrebno promiješati laganim kružnim pokretima ploče u oba smjera i ostaviti otprilike 15 minuta dok se sadržaj ne stegne (slika 7). Ploče sa poklopcem okrenutim prema dolje, u svrhu sprečavanja kondenzacije vode na podlozi, inkubirane su u termostatu pri temperaturi od 37 °C, dok je inkubacija kvasaca i plijesni provedena na sobnoj temperaturi (Božanić i sur., 2010).



Slika 7. Naciepljivanje Petrijevih ploča (vlastita fotografija)

Očitavanje rezultata

Postupak je proveden nakon 48 sati inkubacije pomoću brojača kolonija, brojanjem samo onih ploča na kojima je poraslo od 30 do 300 kolonija. Broj poraslih kolonija po mL (engl. Colony-forming Unit, CFU) izračunat je prema formuli:

$$\text{CFU mL}^{-1} = \frac{\text{broj kolonija}}{\text{naciepljen volumen}} \cdot \text{recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja} \quad [3]$$

gdje se *broj poraslih kolonija* odnosi na ukupan broj kolonija na ploči koja je bila unesena u

brojač kolonija. *Nacijepljen volumen* predstavlja volumen inokuluma koji je dodan na Petrijevu ploču u količini od 1 mL.

3.2.3.3. *Određivanje udjela ukupne suhe tvari u napitcima*

Određivanje ukupne suhe tvari predstavlja postupak ekstrakcije vlage iz uzorka kako bi se dobila masa svih ostalih tvari u uzorku. U poljoprivrednim i prehrambenim analizama, široko je prihvaćena metoda temeljena na isparavanju vode iz uzorka sušenjem u sušioniku pri konstantnoj temperaturi od 102 ± 2 °C do postizanja konstantne mase, što je ujedno referentna metoda za određivanje ukupne suhe tvari (Božanić i sur., 2010).

Postupak:

Metoda najprije zahtjeva pripremu posudica i poklopaca koji su bili zagrijani u sušioniku na temperaturi od 102 ± 2 °C tijekom 30 minuta. Nakon toga, posudica na koju je stavljen poklopac je prenesena u eksikator gdje se hladila do sobne temperature kako bi se mogla odvagati s točnošću od 0,1 mg. U posudice se odvagalo do 5 g uzorka za analizu s točnošću od 0,1 mg. Posudica s uzorkom i poklopcem pored nje je ponovno vraćena na sušenje u sušioniku tijekom jednog sata, a prije ponovnog vaganja, na posudicu je stavljen poklopac te je provedeno hlađenje u sušioniku tijekom 30 minuta. Postupak se ponavljao do postizanja konstantne mase (Božanić i sur., 2010).

Udjel suhe tvari računao se prema formuli:

$$\% \text{ suhe tvari} = \left(\text{zadnja odvaga} - \frac{\text{prazna posudica}}{\text{odvaga uzorka}} \right) \cdot 100 \quad [4]$$

3.2.3.4. *Određivanje udjela pepela u napitcima*

Udjel pepela je važan pokazatelj u prehrambenoj industriji jer pruža informacije o količini ukupnih mineralnih elemenata u hrani, što može biti korisno za formuliranje prehrambenih smjesa ili za procjenu nutritivne vrijednosti hrane. Udjel pepela odnosi se na količinu ukupnih mineralnih elemenata u uzorku, dobiven spaljivanjem uzorka i izražen kao ukupni udjel mineralnih elemenata (Tratnik i Božanić, 2012).

Postupak:

Porculanski lončići su najprije bili izloženi žarenju u Muffolnoj peći na 550 °C, nakon

čega je slijedilo hlađenje u eksikatoru i vaganje na analitičkoj vagi. Potom je u ohlađene lončice dodano 10 g uzorka za analizu. Lončići s izvaganim uzorkom premješteni su u sušionik radi potpunog sušenja, te su ponovno stavljeni u Muffolnu peć na žarenje pri temperaturi od 550 °C dok sadržaj ne bi poprimio bijelu boju. Zatim ih je bilo potrebno ohladiti u eksikatoru i izvagati te ponoviti žarenje do postizanja konstantne mase (Božanić i sur., 2010).

Postotak pepela u uzorku računao se prema formuli:

$$\% \text{ pepela} = \left(\frac{\text{zadnja odvaga} - \text{prazan lončić}}{\text{odvaga uzorka}} \right) \cdot 100 \quad [5]$$

3.2.3.5. *Određivanje udjela NaCl metodom po Mohru*

Metoda po Mohru karakteristična je za određivanje sadržaja kloridnih iona u tekućim uzorcima poput biljnih napitaka. Temelji se na titraciji uzorka srebrovim (I) nitratom (AgNO_3) uz korištenje kromatnog indikatora. Reakcijom srebrovog nitrata sa kloridima u uzorku nastaje bijeli talog srebrovog klorida (AgCl) (Novak, 2021). Iz dobivenog podatka o utrošenom volumenu otopine AgNO_3 za titraciju, može se izračunati maseni udjel NaCl u ispitivanom uzorku.

Postupak:

Izvagana su 2 g uzorka za analizu u čašu od 100 mL s točnošću $\pm 0,01$ g, a zatim su kvantitativno prenesena u odmjernu tikvicu od 100 mL. Tikvica s uzorkom je nadopunjena demineraliziranom vodom do oznake, dobro promiješana, zatvorena čepom i kao takva zagrijavana u proključaloj vodenoj kupelji tijekom 15 minuta od početka ključanja sadržaja tikvice. Za vrijeme zagrijavanja, bilo je potrebno povremeno podizati čep kako bi se spriječio podtlak.

Po završetku zagrijavanja, tikvica sa sadržajem ohlađena je na sobnu temperaturu, promiješana, nakon čega je sadržaj filtriran kroz filter papir. Prije titracije, filtratu je ispitana pH vrijednost koja mora biti oko 10 pH jedinica. U slučaju kiselog filtrata, bilo ga je potrebno neutralizirati otopinom NaOH.

Daljnji postupak je proveden tako što je otpipetirano 25 mL dobivenog filtrata u Erlenmeyerovu tikvicu, kojem je dodano 2-3 kapi indikatora K_2CrO_4 i titriran sa 0,1 M otopinom AgNO_3 do promjene boje u bakrenu.

Izračun:

$$m_{100}(\text{NaCl})(g) = 4 \cdot c(\text{AgNO}_3) \cdot V(\text{AgNO}_3) \cdot M(\text{NaCl}) \quad [6]$$

gdje $m_{100}(\text{NaCl})$ označava masu natrijevog klorida (NaCl) izraženu u gramima na 100 grama ukupne mase tvari ili otopine, $c(\text{AgNO}_3)$ je množinska koncentracija $\text{AgNO}_3 = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $V(\text{AgNO}_3)$ je utrošeni volumen AgNO_3 za titraciju, $M(\text{NaCl})$ je molarna masa $\text{NaCl} = 58,443 \text{ g mol}^{-1}$

$$w(\text{NaCl}) = \left[\frac{m_{100}(\text{NaCl})}{m(\text{uzorka})} \right] \cdot 100 \quad [7]$$

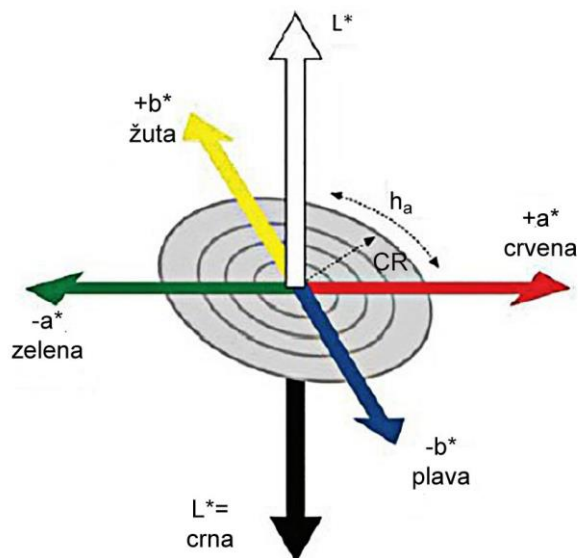
gdje $w(\text{NaCl})$ označava maseni udjel natrijevog klorida (NaCl) u uzorku, $m(\text{uzorka})$ označava izvaganu masu uzorka = 2 g

3.2.3.6. Određivanje boje napitaka

Postupak određivanja boje u napitku od zob i napitku od riže proveden je pomoću kolorimetra. To je instrument koji omogućuje precizno mjerenje boje na temelju spektralne refleksije ili apsorpcije svjetlosti od strane uzorka. Kolorimetri omogućuju mjerenje boje pomoću standardiziranih sustava boja poput primjerice CIE L^* a^* b^* sustava (slika 8), koji je definiran L^* , a^* i b^* vrijednostima. CIE sustav mjerenja boje pretvara refleksiju ili spektar prijenosa objekta u trodimenzionalni prostor boja koristeći spektralnu distribuciju snage osvjetljenja i funkcije podudaranja boja standardnih promatrača (Macdougall, 2010).

Postupak:

Prije svakog mjerenja, bilo je potrebno kalibrirati kolorimetar. Određena količina uzorka za analizu dodana je u kivetu do oznake, koja je zatim postavljena na predviđeno mjesto na uređaju. Na zaslonu uređaja očitane su vrijednosti L^* , a^* i b^* .



Slika 8. CIE L^* a^* b^* prostor boja (Mihoci, 2015)

3.2.3.7. *Određivanje reoloških svojstava napitaka*

Reološka svojstva poput napona smicanja (τ) u Pa i prividne viskoznosti (μ) u Pas pri brzinama smicanja (D) od 610, 780, 950, 1120 i 1290 s^{-1} izmjerena su primjenom rotacijskog reometra. Uzorak je dodan u vanjski plašt uređaja pomoću čašice. Prilikom mjerenja bilo je važno da je cilindrično vreteno bilo potopljeno u uzorak, koji je umetnut u vanjski plašt.

Temeljem prikupljenih podataka o brzini i naponu smicanja, izračunati su reološki parametri (koeficijent konzistencije i indeks tečenja) korištenjem linearne regresije. Koeficijent konzistencije k (mPas) izračunava se kao antilogaritamska vrijednost konstante linearne regresije napona smicanja i brzine smicanja, dok indeks tečenja odgovara koeficijentu linearne regresije (Batur i sur., 2010).

Zatim su u Excelu, linearnom regresijom iz odnosa logaritama brzine i napona smicanja, određeni parametri: koeficijent konzistencije (mPas), indeks tečenja i koeficijent regresije. Indeks tečenja je broj uz x u dobivenoj jednadžbi, a koeficijent konzistencije je antilogaritam drugog člana jednadžbe. R^2 je koeficijent regresije i predstavlja točnost metode. Prividna viskoznost je unesena u završne tablice (tablica 16 i 17) pri brzini od 1290 okretaja u minuti.

3.3. OBRADA PODATAKA

Svi rezultati istraživanja su obrađeni korištenjem Microsoft Excel 2010 programa. Prikazani su kao srednje vrijednosti za dvije serije uzoraka (fermentirani napitak od zobi i fermentirani napitak od riže), uz pripadajuće standardne devijacije, što omogućuje bolje razumijevanje varijabilnosti rezultata.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom poglavlju prikazani su rezultati eksperimentalnog istraživanja čiji je cilj bio praćenje tijeka fermentacije napitaka od zob i riže te rasta i aktivnosti bakterija mliječne kiseline. Osim samog procesa fermentacije, praćeni su rast i preživljavanje probiotičkih bakterija tijekom 15 dana hladnog skladištenja pri 4 °C fermentiranih biljnih napitaka. Tijekom tog razdoblja, odnosno 1., 5., 10. i 15. dana, uzorcima su određivana fizikalno-kemijska (pH vrijednost, % mliječne kiseline, suha tvar, pepeo, količina soli i boja), mikrobiološka i reološka svojstva. Svaki eksperiment je ponovljen dva puta kako bi se osigurala pouzdanost rezultata, nakon čega su izračunate srednje vrijednosti i standardne devijacije.

Dobiveni rezultati su doprinijeli razumijevanju fermentacijskih procesa biljnih napitaka te razmatranju mogućnosti primjene probiotičkih kultura u njihovoj proizvodnji. Tablicom 8 prikazana je prosječna duljina fermentacije napitaka, dok su pH vrijednosti uzorka napitka od zob i tijekom fermentacije na 42 °C prikazane u tablici 9, odnosno u tablici 10 za fermentirani uzorak napitka od riže. Tablica 11 prikazuje prosječne vrijednosti mikrobioloških analiza kod oba fermentirana napitka po danima hladnog skladištenja.

Prosječne pH vrijednosti i mliječne kiseline uzoraka oba napitka pratili su se radi ocjene kvalitete i stabilnosti tijekom fermentacije i skladištenja, te za dobivanje informacija o potencijalnoj primjeni i njihovoj komercijalnoj vrijednosti. Ove vrijednosti su prikazane po danima hladnog skladištenja u tablici 12. Također, provedeno je određivanje udjela suhe tvari i pepela kod oba fermentirana napitka prvi i posljednji dan (15. dan) hladnog skladištenja, čiji su rezultati prikazani u tablici 13. Nadalje, tablica 14 prikazuje prosječne vrijednosti udjela natrijevog klorida uzoraka od oba fermentirana napitka prvi i posljednji dan (15. dan) hladnog skladištenja.

U svrhu praćenja promjena u sastavu i stabilnosti proizvoda, fermentiranim napitcima se kroz dane čuvanja određivala boja i parametri boje prema CIE L* a* b* sustavu, što je prikazano u tablici 15.

Odnos između logaritama brzine i napona smicanja kod fermentiranog napitka od zob i grafički je prikazan kako slijedi: slika 9 za 1., slika 11 za 5., slika 13 za 10. i slika 15 za 15. dan hladnog skladištenja. Taj isti odnos je grafički prikazan i za uzorak fermentiranog napitka od riže: slika 10 za 1., slika 12 za 5., slika 14 za 10. i slika 16 za 15. dan hladnog skladištenja. Pomoću tih grafova linearnom regresijom određeni su reološki parametri: prividna viskoznost, koeficijent konzistencije, indeks tečenja i koeficijent regresije, koji su prikazani u tablici 16 za fermentirani napitak od zob, odnosno tablici 17 za fermentirani napitak od riže.

4.1. TRAJANJE FERMENTACIJE

Prosječna duljina fermentacije oba napitka prikazana je u tablici 8. Ponavljanje fermentacije provedeno je kod oba napitka (tablica 9 i tablica 10), te je vidljiva razlika u trajanju završetka fermentacije. Prosječna početna pH vrijednost napitka od zobi je iznosila 7,39 (tablica 9), a prosječna duljina fermentacije iznosila je 5 sati (tablica 8). Kod napitka od riže, prosječno vrijeme završetka fermentacije zabilježeno je također nakon 5 sati (tablica 8), a prosječna početna pH vrijednost iznosila je 6,95 pH jedinica (tablica 10).

Tablica 8. Prikaz prosječne duljine trajanja fermentacije napitaka

Uzorak	Napitak od zobi	Napitak od riže
Trajanje (h)	5	5

Tablica 9. pH vrijednosti tijekom fermentacije zobenog napitka pri 42 °C

1. pokus		2. pokus	
Vrijeme (h)	pH	Vrijeme (h)	pH
0	7,53	0	7,25
1	7,42	1	7,08
2	7,10	2	6,42
3	6,48	3	5,92
4	4,25	4	5,81
5	/	5	5,91
6	/	6	4,59

Tablica 10. pH vrijednosti tijekom fermentacije rižinog napitka pri 42 °C

1. pokus		2. pokus	
Vrijeme (h)	pH	Vrijeme (h)	pH
0	7,01	0	6,88
1	6,95	1	6,85
2	6,64	2	6,50
3	6,51	3	6,36
4	4,56	4	6,39
5	/	5	6,36
6	/	6	4,82

Zapažena je niža početna pH vrijednost rižinog napitka u odnosu na zobeni napitak. Slični rezultati postignuti su u istraživanju Križanac (2021), gdje je zobeni napitak s dodatkom rogača imao nižu početnu pH vrijednost (6,41) u usporedbi sa zobenim napitkom bez dodataka (6,78), što je rezultiralo duljim trajanjem fermentacije jer je veća koncentracija šećera djelovala inhibirajuće na rast kulture.

Prosječna duljina fermentacije kod napitka od zobi i napitka od riže spada u vremenski prihvatljiv raspon fermentacije (5-6 sati), što potvrđuje istraživanje gdje je tijekom fermentacije zobenog napitka zadane formulacije, naciepljenog istom kulturom, trajao 5 sati (Novak, 2021). Grasso i sur. (2020) navode slične raspone pH vrijednosti fermentiranih biljnih napitaka (3,99-4,56).

Dok se u ovom radu istraživao tijek fermentacije napitaka bez ikakvih dodataka, Šifner (2021) u svom istraživanju optimizacije proizvodnje zobenog napitka navodi kako dodatak zgušnjivača i poboljšivača uvelike utječe na bržu fermentaciju.

S druge strane, postoji nekoliko primjera duže fermentacije biljnih napitaka od zobi i riže, a jedan od njih je trajao 12 sati kako bi se pH spustio od 6,45 na 4,23 (Luana i sur. 2014). Autori Kütt i sur. (2023) su u svom radu pokazali je da je proizvod sličan kefiru s pH manjim od 4,2 dobiven nakon 12 sati i da je *S. thermophilus* bila dominantna vrsta tijekom cijele fermentacije.

Iako rižin napitak ima nižu početnu pH vrijednost, prosječna duljina fermentacije ostaje ista kao kod zobenog napitka. Ovo može ukazivati na to da početni sastav napitka, iako važan, nije jedini faktor koji određuje trajanje fermentacije, već da i druge varijable kao što su vrsta i aktivnost korištenih kultura igraju značajnu ulogu.

4.2. MIKOBIOLOŠKA ANALIZA NAPITAKA

Mikrobiološka analiza fermentiranih napitaka je vrlo važna jer pruža uvid u aktivnost prisutnih mikroorganizama u proizvodu te informacije o njihovoj prisutnosti, što je važno za osiguranje sigurnosti i kvalitete proizvoda, ali i broju živih probiotičkih bakterija tijekom čuvanja proizvoda.

U ovom slučaju, mikrobiološka analiza fermentiranih napitaka od zobi i riže skladištenih u hladnjaku na temperaturi od 4 °C obuhvaćala je odabir odgovarajućih hranjivih podloga za rast mikroorganizama te indirektno brojanje kolonija koje su narasle iz uzoraka fermentiranih napitaka. Analizirani su različiti mikroorganizmi, uključujući kvasce, plijesni, koliformne bakterije (*Enterobacteriaceae*), ukupan broj mikroorganizama, streptokoke, laktobacile i bifidobakterije.

Rezultati mikrobiološke analize su prikazani u tablici 11, izraženi kao log (CFU mL⁻¹) i obuhvaćaju broj mikroorganizama izraženih kroz različite dane skladištenja fermentiranih napitaka, točnije 1., 5., 10. i 15. dan. Ovi rezultati pružaju informacije o dinamici rasta i smanjenja različitih mikroorganizama tijekom skladištenja, što je od ključne važnosti za procjenu stabilnosti proizvoda i njegovu sigurnost za konzumaciju.

Tablica 11. Prosječne vrijednosti (log CFU mL⁻¹) parametara mikrobioloških analiza uzoraka zobenog i rižinog napitka

log CFU mL ⁻¹				
Dani čuvanja	1.	5.	10.	15.
Kvasci i plijesni				
Zobeni napitak	1,01±1,43	1,43±2,02	1,14±1,62	0,0±0,0
Rižin napitak	0,00±0,0	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Enterobakterije				
Zobeni napitak	0,00±0,00	/	/	0,00±0,00
Rižin napitak	0,00±0,00	/	/	0,00±0,00
Ukupan broj				
Zobeni napitak	7,31±0,37	7,24±0,07	7,36±0,61	7,09±0,14
Rižin napitak	7,85±0,02	7,37±0,69	7,57±0,21	6,17±0,24

Tablica 11. Prosječne vrijednosti ($\log \text{CFU mL}^{-1}$) parametara mikrobioloških analiza uzoraka zobenog i rižinog napitka – nastavak

Streptokoki				
Zobeni napitak	6,57±0,35	6,48±0,02	6,05±0,33	5,90±0,25
Rižin napitak	7,54±0,13	7,00±0,72	6,05±1,02	6,33±0,69
Laktobacili				
Zobeni napitak	7,05±0,26	7,36±0,06	7,15±0,10	7,14±0,19
Rižin napitak	7,90±0,06	7,50±0,03	7,46±0,09	7,51±0,20
Bifidobakterije				
Zobeni napitak	7,33±0,32	7,30±0,07	7,00±0,35	7,15±0,13
Rižin napitak	7,70±0,15	7,40±0,36	6,43±1,03	7,10±0,33

Analizom uzoraka kod oba fermentirana napitka, uočena je izuzetno niska brojnost kvasaca i plijesni kod rižinog napitka tijekom cijelog razdoblja čuvanja. Počevši od 1. dana gdje nije bilo poraslih kolonija kvasaca i plijesni te do kraja perioda čuvanja nije bilo poraslih kolonija. Za razliku od toga, u zobenom napitku nakon prvog dana je naraslo 1,01 $\log \text{CFU mL}^{-1}$, a nakon petog dana čuvanja 1,43 $\log \text{CFU mL}^{-1}$. Desetog i petnaestog dana čuvanja nije bilo poraslih kolonija kvasaca i plijesni.

Rezultati za enterobakterije pokazuju potpunu odsutnost ovih bakterija u oba fermentirana napitka tijekom cijelog razdoblja čuvanja. Odsutnost enterobakterija ukazuje na visoku razinu higijenskih standarda tijekom proizvodnje i skladištenja oba napitka s obzirom da njihova prisutnost najčešće ukazuje na nehigijenske uvjete i nedostatke pri proizvodnji (Božanić i sur, 2010). U istraživanju, gdje su također fermentirali zobeni napitak, Gupta i sur. (2010) su uočili da tijekom 21 dana skladištenja njihovog napitka nije bilo prisutnosti enterobakterija. Kasnije, Gupta i Bajaj (2017) su u fermentiranom napitku od zobenog brašna primijetili prisutnost kvasaca već prvog tjedna skladištenja, s daljnjim povećanjem nakon 4 tjedna na sobnoj temperaturi. Također, nisu otkrili prisutnost enterobakterija, što su pripisali kiselim uvjetima koji su nepovoljni za njihov rast i razvoj.

U analizi ukupnog broja mikroorganizama primijećene su blage varijacije tijekom razdoblja skladištenja za oba fermentirana napitka. Kod zobenog napitka, primijećena je relativno stabilna razina ukupnog broja mikroorganizama tijekom 15 dana skladištenja, s minimalnim fluktuacijama od 7,09 do 7,36 $\log \text{CFU mL}^{-1}$. S druge strane, kod rižinog napitka zabilježene su veće varijacije, posebno u kasnijim danima skladištenja. Ukupan broj

mikroorganizama iznosio je 7,85 log CFU mL⁻¹ na početku, a smanjivao se na 6,17 log CFU mL⁻¹ do kraja 15. dana. Smanjenje ukupnog broja mikroorganizama tijekom hladnog skladištenja može se povezati s niskom temperaturom skladištenja jer se na taj način inhibira daljnji rast mikroorganizama (Tratnik i Božanić, 2012). Također, konkurencija samih mikroorganizama tijekom skladištenja ima važnu ulogu, budući da su kod ovih napitaka dodane starter kulture koje također imaju mogućnost inhibiranja rasta neželjenih mikroorganizama, što je potvrđeno u radu (Novak, 2021) gdje je uspoređivana mikrobiološka stabilnost fermentiranih i nefermentiranih napitaka.

Kod zobenog napitka, streptokoki su pokazali blago smanjenje tijekom 15 dana skladištenja, s koncentracijom koja se kretala od 6,57 do 5,90 log CFU mL⁻¹. S druge strane, kod rižinog napitka uočena je veća varijabilnost u količini streptokoka tijekom razdoblja skladištenja, s koncentracijom koja je varirala 7,54 (1. dan) do 6,33 (15. dan) log CFU mL⁻¹. Ovo može ukazivati na različite reakcije, odnosno prilagodbe streptokoka na sastav i uvjete skladištenja između zobenog i rižinog napitka.

Koncentracija bifidobakterija kod zobenog napitka ostaje relativno stabilna tijekom prvih 10 dana skladištenja, s minimalnim fluktuacijama u rasponu od 7,00 do 7,33 log CFU mL⁻¹. Međutim, nakon 15 dana skladištenja, zabilježen je blagi porast koncentracije bifidobakterija na 7,15 log CFU mL⁻¹. Kod rižinog napitka, fluktuacije su nešto veće i variraju od 6,43 do 7,70 log CFU mL⁻¹. Navedene fluktuacije mogu biti rezultat različitih čimbenika, uključujući promjene u uvjetima skladištenja ili interakcije bifidobakterija s drugim mikroorganizmima prisutnim u napitku. Slični rezultati uočeni su u radu Cichońska i sur. (2022) gdje je nakon fermentacije najveći broj živih mikroorganizama roda *Lactobacillus* sp. (7,42–8,23 log CFU mL⁻¹) i *S. thermophilus* (8,01–8,65 log CFU mL⁻¹). U većini tih testiranih uzoraka primijećeno je značajno smanjenje živih mikroorganizama nakon 14 dana skladištenja. Izraz "probiotik" trebao bi se koristiti za opisivanje mikroorganizama samo kada su zadovoljeni određeni kriteriji. Ključni aspekti definicije probiotika uključuju to da probiotik mora biti živ i u učinkovitoj dozi tijekom roka valjanosti proizvoda, znanstveno potkrijepljen s obzirom na njegovu zdravstvenu dobrobit kod ciljnog domaćina, taksonomski definiran i siguran za određenu uporabu (Kojundžić, 2020). Minimalni broj održivih probiotičkih stanica u proizvodu trebao bi biti u rasponu od 6-7 log CFU mL⁻¹ kako bi se uočili povoljni učinci (Paulyne Tolentino Anselmo i sur., 2024). Stoga, analizirani napitci u ovom radu mogu se smatrati probiotičkim proizvodom tijekom cijelog razdoblja skladištenja.

4.3. KISELOST NAPITAKA

U ovom poglavlju prikazani su i raspravljani rezultati aktivne kiselosti, koja se izražava kao negativni logaritam koncentracije vodikovih iona (Tratnik i Božanić, 2012), odnosno količina slobodnih vodikovih iona prisutnih u jedinici volumena. Ove analize provedene su na fermentiranim napitcima od zobi i riže tijekom 15 dana hladnog skladištenja, ali i tijekom njihove fermentacije do postizanja pH vrijednosti od 4,6, što predstavlja završetak fermentacije.

U tablici 12 prikazane su vrijednosti pH i udjela mliječne kiseline u g 100 g⁻¹ za fermentirani napitak od zobi i fermentirani napitak od riže (Alpro) tijekom 15 dana skladištenja pri temperaturi od 4 °C.

Tablica 12. Vrijednosti pH i mliječne kiseline fermentiranih napitka od zobi i riže tijekom 15 dana hladnog skladištenja

Napitak od zobi			Napitak od riže	
Dani čuvanja	pH	Mliječna kiselina (g 100 g ⁻¹)	pH	Mliječna kiselina (g 100 g ⁻¹)
1	4,94±0,9	0,0383±0,0	4,66 ±0,2	0,1305±0,0
5	5,06±1,1	0,0743±0,1	4,70±0,2	0,1035±0,0
10	4,89±0,8	0,0338±0,0	4,78±0,1	0,1598±0,0
15	5,06±0,2	0,0203±0,0	4,79±0,1	0,1440±0,0

Napitak od zobi pokazuje blage fluktuacije u pH vrijednosti tijekom perioda skladištenja, dok se koncentracija mliječne kiseline smanjuje s vremenom skladištenja. Suprotno tome, napitak od riže ima varijabilnije vrijednosti pH i koncentracije mliječne kiseline koje se postepeno povećavaju tijekom perioda skladištenja. Ovaj trend povećanja te zatim smanjenja pH vrijednosti kod napitka od zobi može se objasniti stabilizacijom nakon početne faze fermentacije koja dovodi do porasta pH vrijednosti (5. dan), ali zbog utjecaja niske temperature dolazi do pada pH vrijednosti (10.dan). Na kraju razdoblja (15. dan), pH vrijednost može pokazivati stabilnost ili blagu promjenu, što može biti rezultat ravnoteže između proizvodnje kiseline i neutralizacije tijekom procesa skladištenja.

Slični rezultati uočeni su u radu Gupta i sur. (2010) gdje je pH iznosio oko 4,5 bez većih fluktuacija tijekom 21 dana skladištenja. Dodatno, Pandey (2021) je u svom istraživanju na fermentiranom rižinom napitku zabilježila smanjenje pH vrijednosti od oko 0,79 % (s 4,45 na 3,68) tijekom razdoblja skladištenja od 10 dana, dok se kiselost kretala između 0,23 % i 0,41 %. Ukupno povećanje kiselosti iznosilo je približno 0,18 %. Kako je pH opadao, kiselost se

povećavala tijekom prvih pet dana, nakon čega je počela opadati.

4.4. UDJEL SUHE TVARI I PEPELA U NAPITCIMA

Suha tvar, odnosno ostatak nakon izdvajanja vode postupkom sušenja na 102 ± 2 °C, određivan je prvi i posljednji dan hladnog skladištenja napitaka. Rezultati tablice 13 pokazuju minimalne promjene u postotku suhe tvari tijekom 15 dana skladištenja. Kod napitka od zobi uočena je blaga promjena udjela suhe tvari između 1. i 15. dana, odnosno blago povećanje suhe tvari s 2,96 % na 2,98 %. Kod rižinog napitka također je zabilježeno blago povećanje suhe tvari s 10,53 % na 10,57 %.

Tablica 13. Prikaz prosječnih vrijednosti udjela suhe tvari i pepela fermentiranih napitka od zobi i riže prvi i posljednji dan (15. dan) hladnog skladištenja

Fermentirani napitak od zobi			Fermentirani napitak od riže	
Dani čuvanja	Suha tvar (%)	Pepeo (%)	Suha tvar (%)	Pepeo (%)
1	2,96±1,8	0,15±0,0	10,53 ±0,0	0,47 ±0,0
15	2,98±1,6	0,13±0,0	10,57±0,0	0,56±0,1

Razlika u postotku suhe tvari ova dva napitka je posljedica nekoliko čimbenika. Rižin napitak je u početku imao veću količinu suhe tvari u odnosu na zobeni napitak, pa stoga i fermentirani ima veći udjel suhe tvari. Industrijske metode ekstrakcije mogu biti učinkovitije u izoliranju suhe tvari iz riže u usporedbi s domaćim metodama pripreme zobenog napitka, a metode filtracije i homogenizacije doprinose gušćoj teksturi rižinog napitka, što može povećati udjel suhe tvari.

Tijekom skladištenja zobenog napitka na temperaturama od 4 °C i 20 °C, postignuti su slični rezultati udjela suhe tvari od 2,70 % i 2,53 %. Nakon 28 dana skladištenja, primijećeno je blago smanjenje udjela suhe tvari na 2,32 % i 1,57% (Šifner, 2021). U istraživanju Pandey (2021), sadržaj vlage u fermentiranom rižinom napitku kretao se između 70,40 % i 70,18 % tijekom 10 dana skladištenja, pri čemu nije zabilježena značajna razlika između početnog i krajnjeg sadržaja vlage.

S druge strane, Novak (2021) u svom istraživanju uspoređuje fermentirane i nefermentirane zobene napitke te navodi kako fermentirani napitci sadrže značajno veći udjel suhe tvari (oko 8 %) u usporedbi s običnim nefermentiranim napicima (oko 2 %). Ova razlika je očekivana s obzirom na dodatne sastojke poput rogača u prahu, brašna sjemenki rogača, saharoze i vanilina koji se koriste u fermentiranim napicima, dok su u nefermentirane

napitke uključene samo suhe tvari zobenih pahuljica.

Pepeo, dobiven potpunim spaljivanjem uzoraka na temperaturi 550 °C, predstavlja udjel mineralnih elemenata. Kod napitka od zobi primijećeno je smanjenje pepela s 0,15 % na 0,13 %, što ukazuje na malu redukciju mineralnih elemenata tijekom skladištenja. Kod napitka od riže došlo je do povećanja udjela s 0,47 % na 0,56 %. Aydar i sur. (2020) navode u svom radu da je u zobenom napitku pepeo prisutan u udjelu od 0,48 %.

Udjel pepela (Novak, 2021) se kod nefermentiranih zobenih napitaka kreće između 0,04 i 0,08 %, dok je kod fermentiranih taj udjel između 0,10 i 0,12 %. Prema Pandey (2021), prosječni sadržaj pepela u fermentiranom rižinom napitku iznosio je 0,37-0,42 %, pri čemu također nije zabilježena značajna razlika između početnog i konačnog sadržaja pepela.

4.5. UDJEL SOLI U NAPITCIMA

U tablici 14 prikazani su rezultati eksperimentalnog određivanja udjela soli u fermentiranom zobenom i rižinom napitku prvog i posljednjeg dana hladnog skladištenja. Eksperimenti su provedeni u skladu s metodologijama opisanima u prethodnim poglavljima, koristeći titrimetrijsku metodu po Mohru.

Tablica 14. Prikaz prosječnih vrijednosti udjela natrijevog klorida fermentiranih napitka od zobi i riže prvi i posljednji dan (15. dan) hladnog skladištenja

Fermentirani napitak od zobi		Fermentirani napitak od riže
Dani čuvanja	Udjel soli (%)	Udjel soli (%)
1	0,12±0,0	0,20±0,0
15	0,17±0,0	0,23±0,0

Analizom rezultata u tablici 14, uočeno je da fermentirani rižin napitak ima veći početni udjel soli ($0,20 \pm 0,0$ %) u usporedbi s fermentiranim zobenim napitkom ($0,12 \pm 0,0$ %). Međutim, relativno povećanje udjela soli do posljednjeg dana je veće kod zobenog napitka (povećanje od 0,05 %) u usporedbi s rižinim napitkom (povećanje od 0,03 %). Ovi rezultati naglašavaju važnost praćenja promjena u sastavu fermentiranih napitaka tijekom čuvanja, što može utjecati na nutritivnu vrijednost i okus proizvoda. Nadalje, rezultati sugeriraju da, unatoč početno višem udjelu soli, fermentirani rižin napitak ima manje promjene tijekom čuvanja, što može biti prednost za stabilnost proizvoda.

Kod određivanja udjela mineralnih elemenata u rižinom napitku, nakon 10 dana skladištenja, mineralni sadržaj se nije značajno mijenjao između početnih i konačnih

vrijednosti te je iznosio 10,12 mg 100 g⁻¹ kalcija, 9,38 mg 100 g⁻¹ željeza, 7,49 mg 100 g⁻¹ natrija i 7,88 mg 100 g⁻¹ magnezija (Pandey, 2021). Rižin napitak Alpro "Rice Original" koji je analiziran u ovom diplomskom radu sadrži 120 mg kalcija na 100 g. Ova usporedba ističe da je komercijalni "Alpro" proizvod obogaćen kako bi pružio znatno veći sadržaj kalcija, vjerojatno s ciljem poboljšanja nutritivne vrijednosti za potrošače.

Nešto veće vrijednosti udjela soli zapažene su u radu gdje rezultati pokazuju da je u fermentiranom zobenom napitku udjel soli viši zbog dodatka natrijevog klorida kao poboljšivača okusa u udjelu od 0,15 %. Tijekom 28 dana čuvanja nije došlo do značajne promjene udjela soli. U zobenom napitku, udjel soli od 0,89 % očuvao se tijekom četiri tjedna, bilo da je čuvan u hladnjaku ili na sobnoj temperaturi. U fermentiranom *natur* desertu, udjel soli ostao je između 1,5 % i 2,3 %. Zaključak je da zobeni napitak ima neznatan udjel soli, manji od 1 %, ako se sol ne dodaje (Šifner 2021).

Očito je da su izmjerene vrijednosti soli u ovom diplomskom radu za fermentirani rižin napitak veće od deklariranih 0,09 % soli u Alpro "Rice Original" napitku što sugerira da proces fermentacije može utjecati na povećanje udjela soli.

4.6. ODREĐIVANJE BOJE NAPITAKA

Određivanje boje fermentiranih napitaka od zobi i riže važno je radi osiguranja kvalitete, sigurnosti i prihvaćenosti proizvoda na tržištu. Boja također može biti pokazatelj stupnja i uspjeha fermentacije. Različiti mikroorganizmi i njihova aktivnost mogu proizvesti različite pigmente ili utjecati na prirodne pigmente prisutne u zobi i riži. CIE L* a* b* sustav je kolorimetrijski sustav, definiran od Međunarodne komisije za rasvjetu (CIE, franc. Commission Internationale de l'Éclairage), koji koristi tri parametra za opisivanje boje.

L* je funkcija svjetline koja daje skalu neutralne boje od crne do bijele (pri čemu niže vrijednosti označavaju tamnije boje, a više vrijednosti svjetlije boje ispitivanog uzorka). Parametar a* predstavlja koordinatu crvene (pozitivna vrijednost)-zelene (negativna vrijednost), dok parametar b* predstavlja koordinatu žute (pozitivna vrijednost) – plave (negativna vrijednost) boje (Mihoci, 2015). Što je veća pozitivna vrijednost parametra b*, to ukazuje na izraženost žutog dijela spektra (McGuire, 1992.). Rezultati ispitivanja boje prikazani su u tablici 15.

Tablica 15. Vrijednosti parametara boje fermentiranih napitka od zobi i od riže tijekom 15 dana hladnog skladištenja

Dani čuvanja	Fermentirani napitak od zobi			Fermentirani napitak od riže		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
1	42,03±0,3	-0,39±0,1	1,40±0,1	62,82±1,2	-0,80±0,0	1,64±0,4
5	44,72±1,3	-0,63±0,1	1,93±0,6	62,88±0,8	-0,85±0,0	1,94±0,1
10	44,87±0,8	-0,65±0,1	2,30±0,3	59,87±3,8	-0,84±0,1	1,78±0,5
15	47,15±1,2	-0,73±0,0	2,80±0,5	61,67±2,1	-0,89±0,1	2,32±0,4

Na početku ispitivanja (1. dan), napitak od zobi je relativno taman ($L^* = 42,03$). Boja ima blagu zelenu komponentu ($a^* = -0,39$) i blagu žutu komponentu ($b^* = 1,40$). Nakon 5 dana, napitak postaje svjetliji ($L^* = 44,72$). Zelena komponenta je nešto izraženija ($a^* = -0,63$), a žuta komponenta postaje također izraženija ($b^* = 1,93$). Desetog dana, napitak nastavlja postajati svjetliji ($L^* = 44,87$). Zelena komponenta je stabilna ($a^* = -0,65$), dok žuta komponenta postaje još izraženija ($b^* = 2,30$). Na kraju 15 dana, napitak je najsvjetliji ($L^* = 47,15$). Zelena komponenta je još izraženija ($a^* = -0,73$), a žuta komponenta je najizraženija ($b^* = 2,80$).

S druge strane, napitak od riže je prilično svijetle boje na početku ($L^* = 62,82$). Boja ima blagu zelenu komponentu ($a^* = -0,80$) i blagu žutu komponentu ($b^* = 1,64$). Nakon 5 dana, napitak od riže ostaje vrlo svijetao ($L^* = 62,88$). Zelena komponenta postaje nešto izraženija ($a^* = -0,85$), a žuta komponenta postaje također izraženija ($b^* = 1,94$). Desetog dana, napitak od riže postaje nešto tamniji ($L^* = 59,87$). Zelena komponenta je stabilna ($a^* = -0,84$), dok žuta komponenta malo opada ($b^* = 1,78$). Na kraju analize (15. dan), napitak od riže postaje nešto svjetliji nego deseti dan ($L^* = 61,67$). Zelena komponenta je nešto izraženija ($a^* = -0,89$), a žuta komponenta je najizraženija ($b^* = 2,32$) (tablica 15).

Usporedbom rezultata ova dva napitka, vidljivo je kako je napitak od riže bio svjetliji od zobenog napitka tijekom cijelog perioda hladnog skladištenja. Dodatno, imao je stabilno niže vrijednosti a^* , što ukazuje na izraženiju zelenu komponentu u usporedbi s napitkom od zobi. Oba napitka pokazivala su porast b^* vrijednosti, no napitak od zobi ipak ima veći porast u žutim tonovima kroz vrijeme.

Pandey (2021) je u svom radu na rižinom napitku tijekom 10 dana skladištenja zaključila kako se boja napitka značajno mijenjala tijekom fermentacije i skladištenja. Crvenilo (a^* vrijednost) napitka je bilo najizraženije te ono obično raste nakon fermentacije, što je potvrđeno visokim vrijednostima crvenila u uzorku. Svjetlina je (L^* vrijednost) također bila

visoka, ali se tijekom skladištenja smanjila za 2,45 %. Žuti ton (b^* vrijednost) je bio vrlo nizak i dodatno se smanjio nakon fermentacije. Tamna boja (niske vrijednosti L^*) je pokazala porast od 3 % tijekom skladištenja. Statistički značajne razlike primijećene su u svjetlini, crvenilu i tamnoći, što ukazuje na značajan utjecaj fermentacije i skladištenja na ove parametre boje napitka.

Kütt i suradnici (2023) su u svom istraživanju utvrdili kako proizvodnja organskih kiselina i smanjenje pH vrijednosti uzrokuju posvjetljivanje boje fermentiranog proizvoda zbog utjecaja na fenole. Ovo se može uočiti u usporedbi s nefermentiranim napitkom od zobí. To je još jednom potvrđeno u ovom diplomskom radu.

4.7. REOLOŠKA SVOJSTVA NAPITAKA

Reološka svojstva ispitivanih napitaka određena su pomoću rotacijskog reometra. Reometar je mjerio napon smicanja i prividnu viskoznost pri brzinama od 610, 780, 950, 1120 i 1290 okretaja u minuti, pri temperaturi uzorka oko 20 °C (pri nižim brzinama reometar nije bilježio nikakve vrijednosti). Viskoznost je fizikalna veličina koja opisuje otpor tekućine prema tečenju. Međumolekularne sile uzrokuju privlačenje molekula tekućine, čime se opiru smicanju susjednih slojeva. Što je tekućina pokretljivija, to je manje viskozna i ima nižu vrijednost μ (Šifner, 2021).

Rezultati određivanja reoloških svojstava prikazani su na slikama 9-16, te u tablicama 16 i 17. Na temelju oblika krivulja koje prikazuju ovisnost napona o brzini smicanja te izračunatih vrijednosti indeksa tečenja ($n < 1$), jasno je da analizirani napitci pripadaju ne-newtonskim pseudoplastičnim tekućinama. Njihova reološka svojstva određena su koeficijentom konzistencije i prividnom viskoznošću pri brzini smicanja od 1290 okretaja u minuti.

Tablica 16. Reološki parametri fermentiranog napitka od zobí tijekom 15 dana hladnog skladištenja

Dani čuvanja	Napitak od zobí			
	<i>Prividna viskoznost/mPas</i>	<i>Koeficijent konzistencije/mPas</i>	<i>Indeks tečenja, n</i>	<i>Koeficijent regresije, R²</i>
1	6,0	3,2099	0,1023	0,9979
5	6,0	3,0311	0,1079	0,9953
10	6,0	3,1059	0,1038	0,9980
15	6,0	2,8820	0,1079	0,9956

Tablica 17. Reološki parametri fermentiranog napitka od riže tijekom 15 dana hladnog skladištenja

Dani čuvanja	Napitak od riže			
	<i>Prividna viskoznost/mPas</i>	<i>Koeficijent konzistencije/mPas</i>	<i>Indeks tečenja, n</i>	<i>Koeficijent regresije, R²</i>
1	7,5	3,2734	0,0963	0,9879
5	7,0	3,2546	0,0962	0,9863
10	7,0	3,0158	0,1047	0,9731
15	7,0	3,1456	0,0998	0,9904

Kod fermentiranog napitka od zobi prividna viskoznost ostaje konstantna tijekom svih dana čuvanja (6,0 mPas) (tablica 16), što ukazuje na stabilnost viskoznosti napitka tijekom vremena, što je iznimno važno za konzistentnost proizvoda. Vrijednosti koeficijenta konzistencije blago variraju, ali nema značajnog trenda povećanja ili smanjenja. Na početku (1. dan) iznosi 3,2099 mPas, dok se na 15. dan smanjuje na 2,8820 mPas. Ovo blago smanjenje može biti povezano s promjenama u sastavu napitka tijekom fermentacije, poput razgradnje određenih komponenti koje utječu na konzistenciju. S obzirom kako vrijednosti indeksa tečenja ostaju vrlo niske (oko 0,1) tijekom svih dana čuvanja, napitak ima pseudoplastična svojstva. Viskoznost ne-newtonskih tekućina naziva se još i prividna viskoznost, a razlog tomu je što je kod svake smične brzine različita (Škegro, 2022).

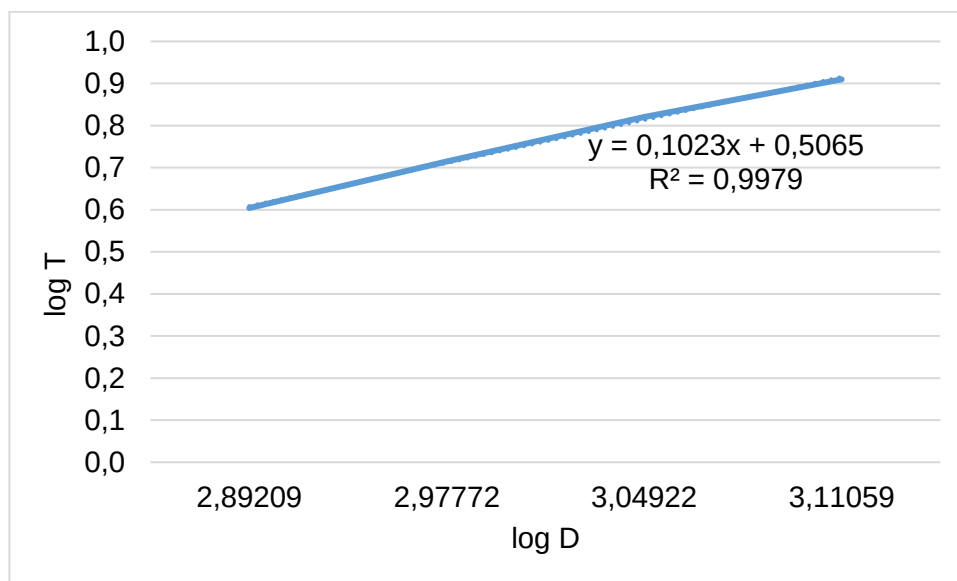
Oba napitka pokazuju relativno stabilne vrijednosti prividne viskoznosti tijekom vremena, ali rižin napitak ima nešto više vrijednosti nego zobeni napitak što ukazuje na različite teksture ovih napitaka (tablice 16 i 17). Nadalje, i zobeni i rižin napitak imaju stabilne vrijednosti koeficijenta konzistencije tijekom vremena, s manjim fluktuacijama. Međutim, vrijednosti koeficijenta konzistencije su nešto više kod rižinog napitka.

Obje tekućine pokazuju pseudoplastično ponašanje s niskim indeksom tečenja (oko 0,1) te kod ovih sustava smično naprezanje puno brže raste pri nižim brzinama smicanja. Prisutnost visokomolekularnih tvari u otopini ili dispergiranih čvrstih čestica u tekućoj fazi povezuje se s ponašanjem ovog tipa ne-newtonskih tekućina. Primjeri ovih tekućina uključuju kondenzirano mlijeko, pire od jabuke i pire od banane (Vranić, 2009).

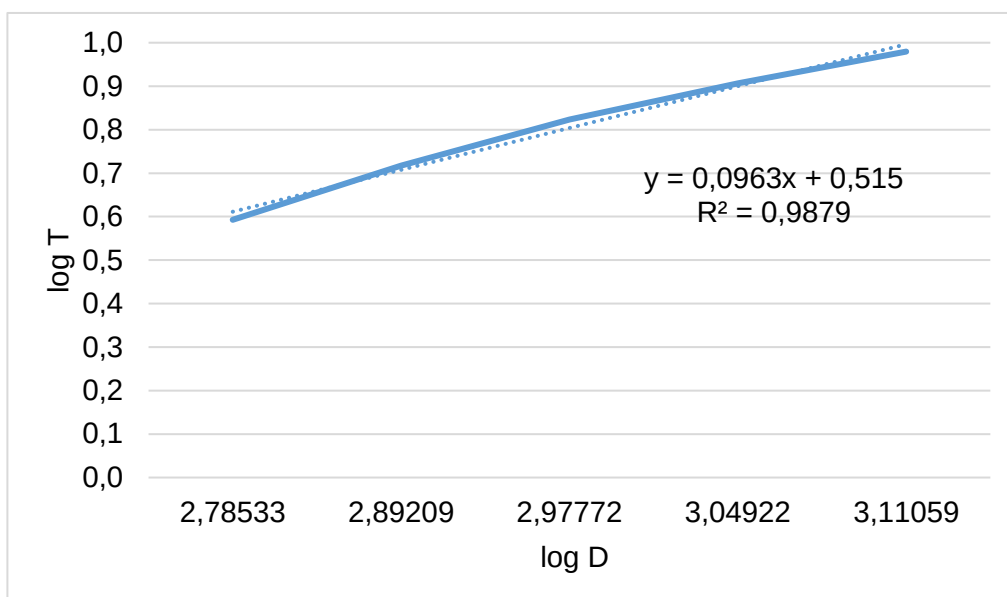
Visoke vrijednosti koeficijenta regresije za oba napitka sugeriraju da su eksperimentalni podaci dobro povezani s teorijskim modelom. Više autora uočilo je pseudoplastično ponašanje analiziranih tekućina u svojim radovima s obzirom na dobivenu vrijednost indeksa tečenja manju od 1. Neki od njih su Bernat i suradnici (2014) koji su uspoređivali fermentirane i nefermentirane napitke od zobi. U radu Križanac (2021) gdje su se uspoređivali zobeni napitci različitih formulacija također su utvrđene vrijednosti indeksa

tečenja niže od 1, a iznimka je bio nefermentirani zobeni napitak zadnji (28. dan) čuvanja koji je pokazao dilatantno ponašanje ($n > 1$).

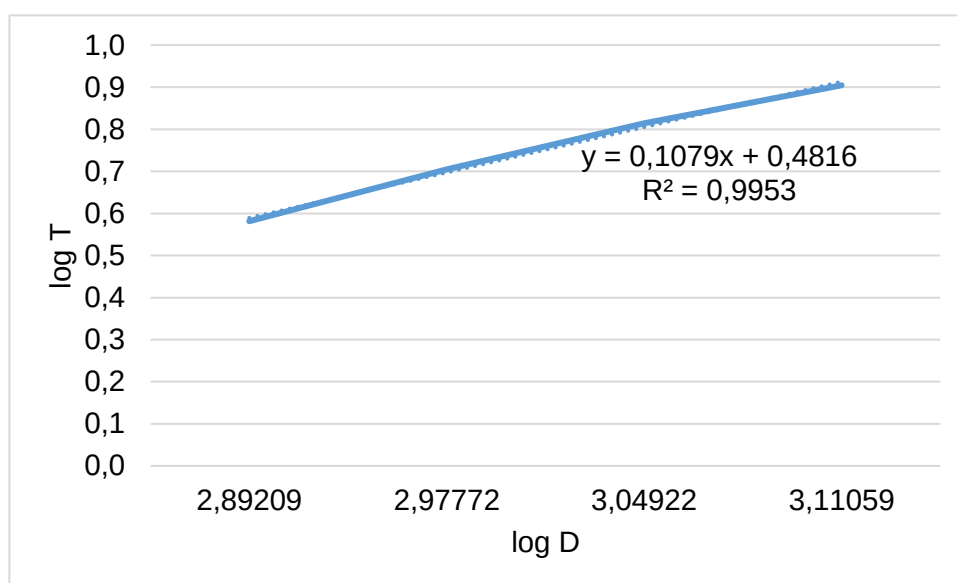
Prema radu Šifner (2021) kod kojeg su uspoređivani uzorci zobenog napitka čuvanog na sobnoj i temperaturi hladnjaka te fermentiranog napitka skladištenog na temperaturi hladnjaka, zajedničko svim analiziranim uzorcima i svim danima čuvanja bilo je smanjenje viskoznosti s povećanjem brzine, pri čemu se nagli pad postigao prvotnim porastom brzine, od 100 do 270 s⁻¹.



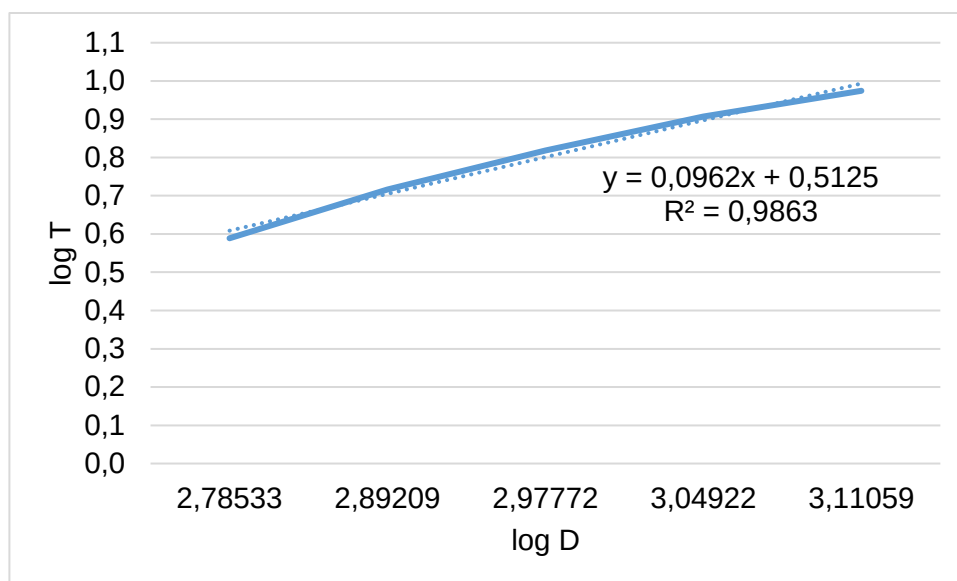
Slika 9. Grafički prikaz odnosa između log napona i log brzine smicanja kod uzorka zobi prvi dan



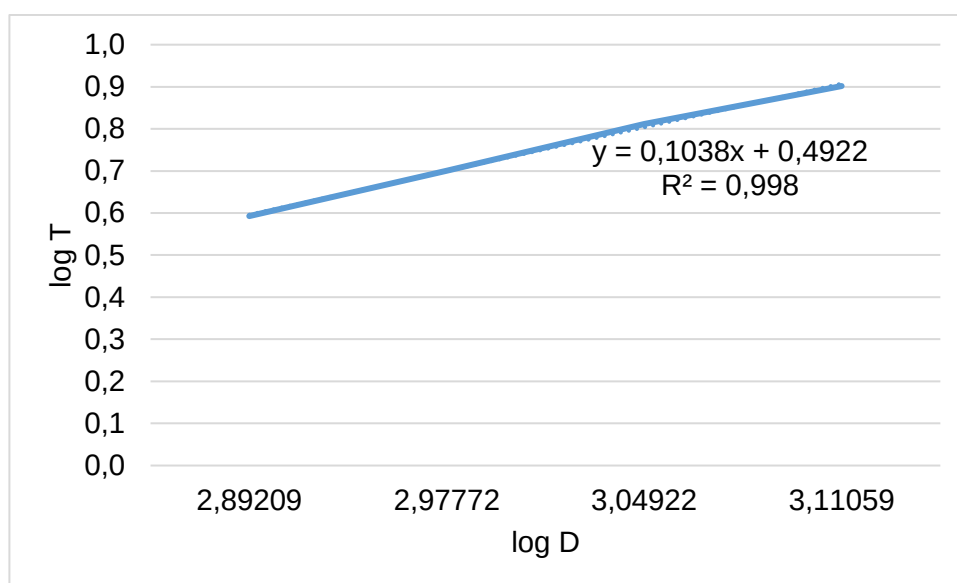
Slika 10. Grafički prikaz odnosa između log napona i log brzine smicanja kod uzorka riže prvi dan



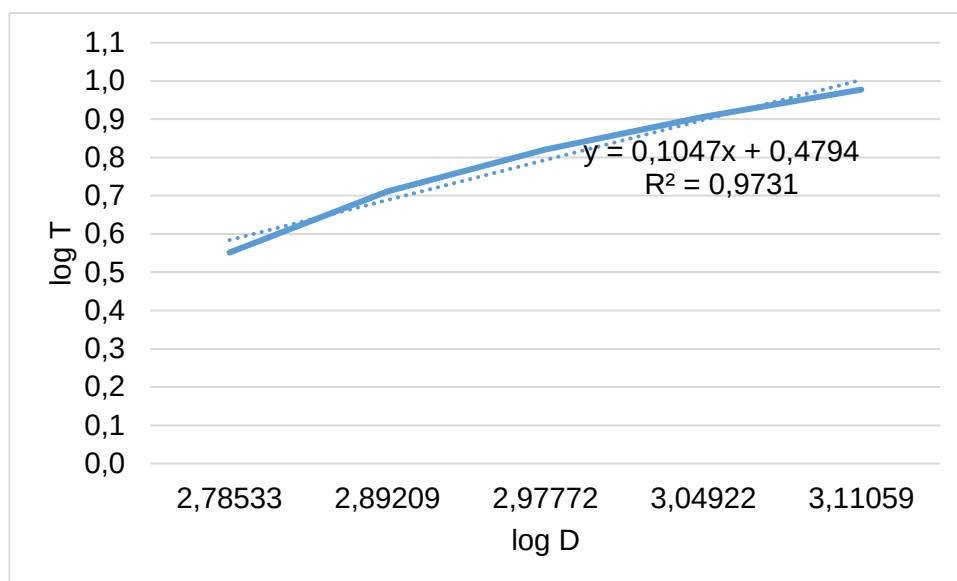
Slika 11. Grafički prikaz odnosa između log napona i log brzine smicanja kod uzorka zobi peti dan



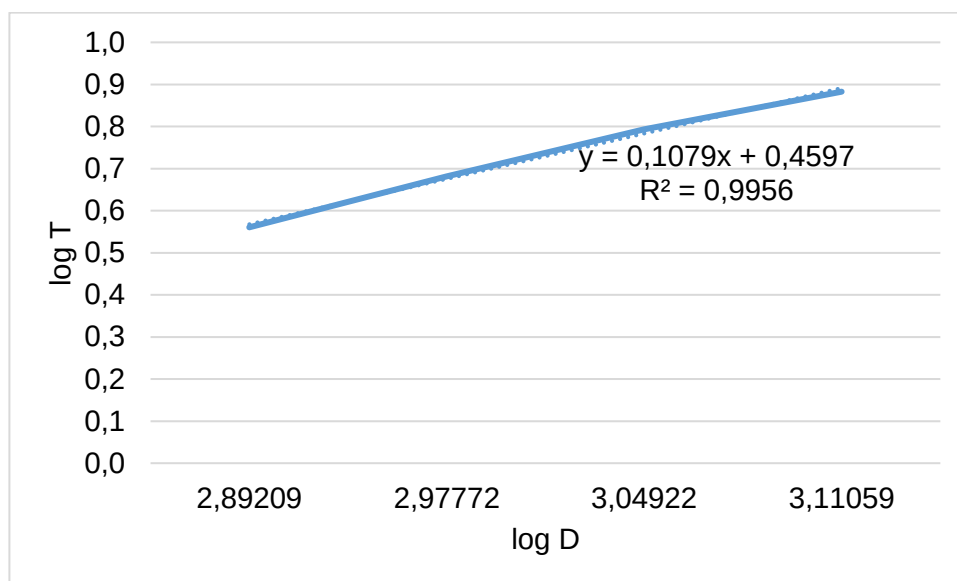
Slika 12. Grafički prikaz odnosa između log napona i log brzine smicanja kod uzorka riže peti dan



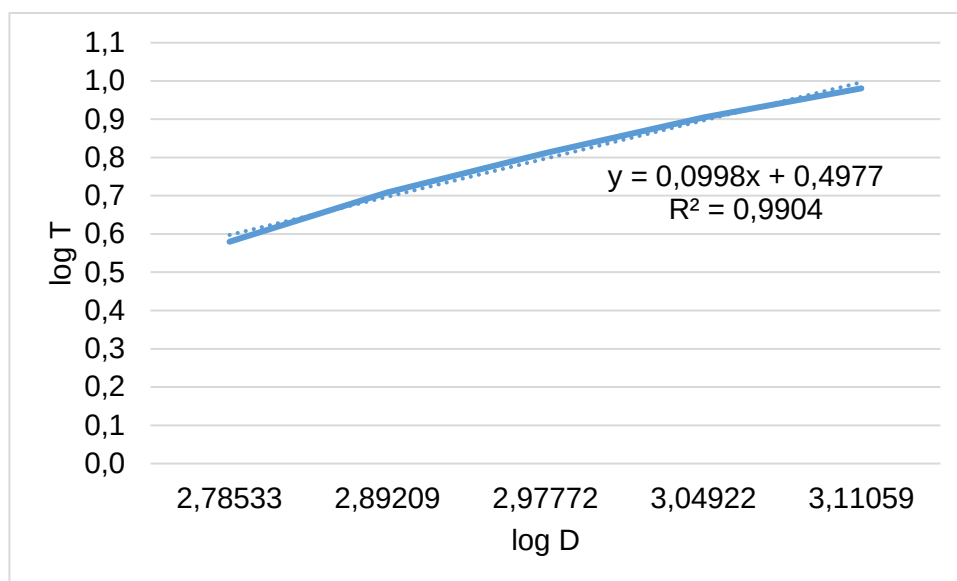
Slika 13. Grafički prikaz odnosa između log napona i log brzine smicanja kod uzorka zobi deseti dan



Slika 14. Grafički prikaz odnosa između log napona i log brzine smicanja kod uzorka riže deseti dan



Slika 15. Grafički prikaz odnosa između log napona i log brzine smicanja kod uzorka zobi petnaesti dan



Slika 16. Grafički prikaz odnosa između log napona i log brzine smicanja kod uzorka riže petnaesti dan

5. ZAKLJUČCI

1. Prosječno vrijeme fermentacije od 5 sati za oba napitka spada u vremenski prihvatljiv raspon fermentacije, neovisno o početnom sastavu. To ukazuje da je osim početnog sastava, važno uzeti u obzir i druge varijable, poput vrste i aktivnosti korištenih kultura, koje značajno utječu na trajanje fermentacije.
2. Mikrobiološka analiza pokazuje malu količinu kvasaca i plijesni te odsutnost enterobakterija tijekom hladnog skladištenja, što potvrđuje visoke higijenske standarde i sigurnost napitaka. Stabilnost mikroorganizama osigurana je pasterizacijom i niskom temperaturom skladištenja. Broj probiotičkih bakterija (laktobacila i bifidobakterija) bio je konstantan, prelazeći $7 \log \text{ CFU ml}^{-1}$. Oba napitka održavala su zadovoljavajuću razinu probiotičkog minimuma tijekom cijelog perioda čuvanja.
3. Tijekom 15 dana skladištenja, analiza fermentiranih napitaka od zobi i riže pokazuje različite trendove u pH vrijednostima i koncentraciji mliječne kiseline. Iako napitak od zobi pokazuje blage fluktuacije pH vrijednosti i smanjenje koncentracije mliječne kiseline, napitak od riže ima varijabilnije pH vrijednosti i povećanje koncentracije mliječne kiseline tijekom skladištenja.
4. Analiza udjela suhe tvari i pepela tijekom 15 dana skladištenja pokazuje minimalne promjene, što ukazuje na stabilnost ovih parametara u fermentiranim napicima od zobi i riže. Blago povećanje suhe tvari u oba napitka te smanjenje pepela u zobenom napitku i povećanje pepela u rižinom napitku mogu se pripisati različitim metodama proizvodnje industrijskih proizvoda poput rižinog "Alpro" napitka.
5. Analiza udjela soli u fermentiranim napitcima od zobi i riže tijekom 15 dana hladnog skladištenja pokazala je da fermentirani rižin napitak ima viši početni udjel soli u usporedbi sa zobenim napitkom, no relativno povećanje udjela soli je veće kod zobenog napitka. Komercijalni Alpro rižin napitak sadrži značajno veći udjel kalcija, što poboljšava nutritivnu vrijednost, dok rezultati sugeriraju da proces fermentacije može utjecati na povećanje udjela soli u proizvodima.
6. Boja napitaka mijenjala se tijekom skladištenja, pri čemu je rižin napitak bio konstantno svjetliji od zobenog, s izraženijom zelenom komponentom.
7. Reološka svojstva fermentiranih napitaka od zobi i riže pokazuju da su ovi napitci newtonske pseudoplastične tekućine s niskim indeksom tečenja. Prividna viskoznost ostaje relativno stabilna tijekom vremena skladištenja. Iako su vrijednosti koeficijenta konzistencije varirale, nije bilo značajnog trenda povećanja ili smanjenja. Rižin napitak pokazuje nešto veću prividnu viskoznost i koeficijent konzistencije u usporedbi sa zobenim napitkom, što sugerira na različite teksture ovih napitaka.

6. LITERATURA

Anselmo PT, Sabino BC, Rosolém CP, Simoni M, Silva JR, Guergoletto KB i sur. (2024) Açai flan, a functional food with *Lactocaseibacillus rhamnosus* HN001 Probiotic: Physicochemical characteristics, probiotic survival, sensory acceptance and consumer perception. *Food technol biotechnol* **62**, 72–77. <https://doi.org/10.17113/ftb.62.01.24.8208>

Aydar EF, Tutuncu S, Ozcelik B (2020) Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *J Funct Foods* **70**, 103975. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103975>

Batur V, Lelas V, Režek Jambrak A, Herceg Z, Badanjak M (2010) Utjecaj ultrazvuka visoke snage na reološka svojstva i svojstva pjenjenja modelnih sladolednih smjesa. *Mljekarstvo* **60**, 10–18. <https://hrcak.srce.hr/49405>

Bernat. N, Cháfer M, González-Martínez C, Rodríguez-García J, Chiralt A (2014) Optimisation of oat *milk* formulation to obtain fermented derivatives by using probiotic *Lactobacillus reuteri* microorganisms. *Food Sci Technol Int* **21**, 145-157. <https://doi.org/10.1177/1082013213518936>

Blažević I (2022) Nutritivni značaj biljnih napitaka (završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Boczkowska M, Podyma W, Łapiński B (2016) Oat. U: Singh M, Upadhyaya HD (ured.) Genetic and genomic resources for grain cereals improvement, 1. izd., Academic Press, San Diego, str. 159–225.

Božanić R, Jeličić I, Bilušić T (2010) Analiza mlijeka i mliječnih proizvoda, 1. izd., *Plejada*, Zagreb

Božanić R, Rogelj I, Tratnik Lj (2002) Fermentacija i čuvanje probiotičkog jogurta od kozjeg mlijeka. *Mljekarstvo* **52**, 93-111. <https://hrcak.srce.hr/1696>

Bubnić A (2023) Biljni napitci alternativa mlijeku (završni rad), Veleučilište u Karlovcu,

Karlovac.

Cichońska P, Ziarno M (2021) Legumes and legume-based beverages fermented with lactic acid bacteria as a potential carrier of probiotics and prebiotics. *Microorganisms* **10**, 91. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010091>

Cichońska P, Ziębicka A, Ziarno M (2022) Properties of rice-based beverages fermented with lactic acid bacteria and *Propionibacterium*. *Molecules* **27**, 2558. <https://doi.org/10.3390/molecules27082558>

Coda R, Montemurro M, Rizzello CG (2017) Yogurt-like beverages made with cereals. U: Shah NP (ured.) Yogurt in health and disease prevention, 1. izd., Academic Press, London/San Diego, str. 183-201.

Dan T, Ren WY, Liu Y, Tian JL, Chen HY, Li T i sur. (2019) Volatile flavor compounds profile and fermentation characteristics of milk fermented by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Front Microbiol* **10**, 2183. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02183>

Delcour JA, Hoskeney RC (2010) Principles of cereal science and technology, 3. izd., AACC International, St.Paul.

Dubovečak M (2022) Preferencija potrošača komercijalno dostupnih alternativa mlijeku s obzirom na funkcionalna i senzorska svojstva (završni rad), Sveučilište Sjever, Koprivnica.

El-Batawy O, Gohari S, Mahdy S (2019) Development of functional fermented oat milk by using probiotic strains and whey protein. *Int J Dairy Sci* **14**, 21-28. <https://doi.org/10.3923/ijds.2019.21.28>

Fornažar M (2017) Riža - prehrambeni i egzistencijalni proizvod (završni rad), Fakultet ekonomije i turizma "Dr. Mijo Mirković", Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Pula.

Garris AJ, Tai TH, Coburn J, Kresovich S, McCouch S (2005) Genetic Structure and Diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* **169**, 1631–1638. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.035642>

Gibbs Russell GE, Watson L, Koekemoer M, Smook L, Barker NP, Anderson HM i sur.

(1990) Grasses of southern Africa: An identification manual with keys, descriptions, distributions, classification and automated identification and information retrieval from computerized data. Memoirs of the botanical survey of South Africa, izd. 58., National Botanic Gardens/Botanical Research Institute, Pretoria, str. 437.

Glavak B (2021) Nutritivni sastav i prehrambene tvrdnje odabranih biljnih napitaka na hrvatskom tržištu (diplomski rad), Fakultet zdravstvenih studija, Sveučilište u Rijeci, Rijeka.

Grasso N, Alonso-Miravalles L, O'Mahony JA (2020) Composition, physicochemical and sensorial properties of commercial plant-based yogurts. *Foods* **9**, 252. <https://doi.org/10.3390/foods9030252>

Gupta M, Bajaj BK (2017) Development of fermented oat flour beverage as a potential probiotic vehicle. *Food Biosci* **20**, 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.08.007>

Gupta S, Cox S, Abu-Ghannam N (2010) Process optimization for the development of a functional beverage based on lactic fermentation of oats. *Biochem Eng J* **52**, 199-204. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2010.08.008>

Hojdak I, Braegger C, Bronsky J, Campoy C, Colomb V, Decsi T i sur. (2015) Arsenic in Rice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **60**, 142–145. <https://doi.org/10.1097/mpg.0000000000000502>

Khan M, Singh K, Pandey S (2021) Quality aspects of rice based fermented beverage. *Biomed J Sci & Tech Res* **34**, 27096-27104. <https://doi.org/10.26717/bjstr.2021.34.005609>

Khanna P (2016) Oats: Understanding the science. *Int J Food Sci Nutr* **1**, 1-10.

Klose C, Arendt EK (2012) Protein in oats; Their synthesis and changes during germination: A review. *Crc Cr Rev Food Sci* **52**, 629-639. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.504902>

Kojundžić M (2020) Regulatorni zahtjevi za probiotike (diplomski rad), Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu, Split.

Križanac V (2021) Optimiranje proizvodnje zobnog napitka iz zrna zobi te proizvodnja fermentiranog proizvoda (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u

Zagrebu, Zagreb.

Kütt ML, Orgusaar K, Stulova I, Priidik R, Pismennõi D, Vaikma H i sur. (2023) Starter culture growth dynamics and sensory properties of fermented oat drink. *Heliyon* **9**, e15627. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15627>

Lamothe M, Rivero Mendoza D, Dahl WJ (2020) Plant-Based Milks: Rice. *Food Sci Hum Nutr* **50**, 1-4. <https://doi.org/10.32473/edis-fs412-2020>

Lankaputhra WEV, Shah NP, Britz ML (1996) Survival of bifidobacteria during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. *Milchwissenschaft* **51**, 65-69. <http://hdl.handle.net/10722/144370>

Luana N, Rossana C, Curiel JA, Kaisa P, Marco G, Rizzelo CG (2014) Manufacture and characterization of a yogurt-like beverage made with oat flakes fermented by selected lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* **185**, 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.05.004>

Macdougall DB (2010) Colour measurement of food: principles and practice. U: Gulrajani ML (ured.) Colour Measurement, 1. izd., Woodhead Publishing, Cambridge, str. 312–342.

Mihoci M (2015) Osvrti: Spektrofotometrijsko određivanje boje. *Kem Ind* **64**, 683–685

Mustapić K (2022) Optimiranje fermentacije kokosovog napitka te određivanje fizikalno – kemijskih i senzorskih svojstava (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Novak M (2021) Razvoj recepture i karakterizacija običnog i fermentiranog zobnog napitka (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Novokmet G (2020) Ispitivanje navika konzumacije zobi i utjecaja vrste masnoća na kvalitetu zobnog keksa škotskog tipa (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Paul AA, Kumar S, Kumar V, Sharma R (2019) Milk Analog: Plant based alternatives to conventional milk, production, potential and health concerns. *Crit Rev Food Sci Nutr* **60**,

3005-3023. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1674243>

Petrovicky B (2016) Primjena starter kultura u prehrambenoj industriji (završni rad), Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek.

Radmanić L (2014) Mikroflora i zdravlje (završni rad), Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Rasane P, Jha A, Sabikhi L, Kumar A, Unnikrishnan VS (2013) Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods – a review. *J Food Sci Technol* **52**, 662-675. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1072-1>

Rosentrater KA, Evers AD (2018) Chemical components and nutrition. U: Rosentrater KA, Evers AD (ured.) Kent's Tehnology of Cereals, 5. izd., Woodhead Publishing, Cambridge, str. 267-368.

Shah NP (2017) Yogurt in health and disease prevention, 1. izd., Academic Press, London/San Diego, str. 183-201.

Shah NP, Lankaputhra WEV, Britz ML, Kyle WSA (1995) Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in comercial yoghurt during refrigerated storage. *Int Dairy J* **5**, 515-521. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00028-2](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00028-2)

Shao Y, Hu Z, Yu Y, Mou R, Zhu Z, Beta T (2018) Phenolic acids, anthocyanins, proanthocyanidins, antioxidant activity, minerals and their correlations in non-pigmented, red, and black rice. *Food Chem* **239**, 733–741. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.009>

Silva ARA, Silva MMN, Ribeiro BD (2020) Health issues and technological aspects of plant-based alternative milk. *Food Res Int* **131**, 108972. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108972>

Singh R, De S, Belkheir A (2013) *Avena sativa* (oat), a potential nutraceutical and therapeutic agent: An overview. *Crit Rev Food Sci Nutr* **53**, 126–144. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.526725>

Smith CW, Dilday RH (2002) Rice: origin, history, technology, and production, Wiley series in crop science, Wiley, New Jersey.

Subota N (2016) Mogućnosti obrade riže u prehrambenoj industriji (završni rad), Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek.

Šifner M (2021) Optimiranje proizvodnje i fermentacije zobenog napitka (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Škegro M (2022) Utjecaj visokoga hidrostatskoga tlaka na kakvoću funkcionalnih napitaka i primjena kemometrije u procjeni njihove kakvoće (disertacija), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Tratnik Lj, Božanić R (2012) Mlijeko i mliječni proizvodi, 1. izd., Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, str. 510.

USDA (2021) Food datacentral-The original oat milk. USDA-United States Department of Agriculture, <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/fooddetails/719016/nutrients>. Pristupljeno 30. svibnja 2024.

USDA (2021) Food datacentral-Beverages, rice milk, unsweetened. United States Department of Agriculture, <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/fooddetails/171942/nutrients> Pristupljeno 31. svibnja 2024.

Vitali Čepo D, Prusac M, Velkovski Škopić O, Tatarević A (2020) Preporuke o primjeni probiotika u ljekarničkoj praksi. *Medicus* **29**, 115–134. <https://hrcak.srce.hr/232207>

Vranić I (2009) Reološka i senzorska svojstva kisele sirutke s dodatcima (diplomski rad), Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek.

Vrhovec L (2021) Usporedba mlijeka s biljnim alternativama, (završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Vukšić K, Maleš Ž, Verbanac D (2020) Nutritivna i ljekovita svojstva zobí (*Avena sativa* L.) s posebnim osvrtom na njene β -glukane. *Farm glas* **76**, 281–294. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:642325>

Weiss N, Schillinger U, Kandler O (1983) *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus leichmannii* and *Lactobacillus bulgaricus*, subjective synonyms of *Lactobacillus delbrueckii*, and description of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* comb. nov. and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* comb. nov. *Syst Appl Microbiol* **4**, 552–557. [https://doi.org/10.1016/s0723-2020\(83\)80012-5](https://doi.org/10.1016/s0723-2020(83)80012-5)

Zadravec L (2019) Riža kao temelj japanskog društvenog života (završni rad), Filozofski fakultet u Puli, Sveučilište Jurja Dobrile u Puli, Pula.

Zrinjan A (2018) Utjecaj dodatka soka višnje na sastav i svojstva napitka od lista masline (završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Zwer PK (2004) Oats. U: Wrigley C, Corke H, Walker CE (ured.) *Encyclopedia of grain science*, 1.izd., Academic Press, Cambridge/Massachusetts, str. 365-375.

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Sara Gabelić

Vlastoručni potpis