Utjecaj sirovinskoga sastava na glikemijski indeks keksa kao funkcionalne namirnice

Vujić, Lovorka

Doctoral thesis / Disertacija

2013

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:400100

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI



Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Lovorka Vujić

UTJECAJ SIROVINSKOGA SASTAVA NA GLIKEMIJSKI INDEKS KEKSA KAO FUNKCIONALNE NAMIRNICE

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2013.



University of Zagreb

FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

Lovorka Vujić

EFFECT OF RAW MATERIAL COMPOSITION ON GLYCAEMIC INDEX OF BISCUIT AS A FUNCTIONAL FOOD

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2013.



Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Lovorka Vujić

UTJECAJ SIROVINSKOGA SASTAVA NA GLIKEMIJSKI INDEKS KEKSA KAO FUNKCIONALNE NAMIRNICE

DOKTORSKI RAD

Mentor: Prof. dr. sc. Irena Vedrina Dragojević

Zagreb, 2013.



University of Zagreb

FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

Lovorka Vujić

EFFECT OF RAW MATERIAL COMPOSITION ON GLYCAEMIC INDEX OF BISCUIT AS A FUNCTIONAL FOOD

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Prof. dr. sc. Irena Vedrina Dragojević

Zagreb, 2013.

Mojoj obitelji

Rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva, polje farmacija, grana medicinska biokemija.

Rad je izrađen na Zavodu za kemiju prehrane Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i manjim dijelom u Odjelu tehnologijskog razvoja, Kraš d.d., u sklopu doktorskog studija „Farmaceutsko-biokemijske znanosti“ Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, te u sklopu projekta „Funkcionalna hrana – dijetetski proizvodi na bazi žitarica“ Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa (006-1130475-0159).

Zahvaljujem svojim mentoricama, prof. dr. sc. Blaženki Šebečić (u mirovini) i prof. dr. sc Ireni Vedrina Dragojević na velikoj pomoći, savjetima i podršci tijekom izrade doktorskog rada.

Posebno se zahvaljujem na velikoj pomoći i suradnji doc. dr. sc. Dubravki Vitali Čepo i Gordani Blažinić na tehničkoj i moralnoj podršci.

Hvala mr. sc. Oliveri Marić i Mireli Kostreš, dipl. ing., kao i ostalim članovima Odjela tehnologijskog razvoja, Kraš d.d., Hrvatska.

Hvala mojim najdražima.

SAŽETAK

Obzirom na porast svjesnosti o preventivnoj i protektivnoj ulozi prehrane kod mnogih oboljenja, u okviru ovog rada istraživane su mogućnosti razvoja keksa nižeg glikemijskog indeksa kao funkcionalnog proizvoda na bazi žitarica. Istraživanja su provedena na šesnaest vrsta laboratorijski pripremljenih keksa u kojima je suplementiran određeni udio bijelog pšeničnog brašna s integralnim žitaricama (zobeno i ječmeno brašno), integralnim pseudožitaricama (brašno heljde i amaranta), leguminozama (brašno rogača i soje) ili čistim prehrambenim vlaknima (zobena i jabučna vlakna). Preliminarna istraživanja bila su temelj za odabir najoptimalnijih receptura u koje je dodatno još uveden i inulin. Makronutritivne komponente (proteini, lipidi, dostupni ugljikohidrati, prehrambena vlakna) određene su standardnim analitičkim metodama, a *in vitro* probavljivost škroba kontroliranom enzimskom simulacijom gastrointestinalne digestije. U svrhu određivanja tehnološkog utjecaja (pečenja) na promatrane parametre, istraživanja su provedena i u uzorcima poluproizvoda (tijesta). Svim uzorcima keksa procijenjene su organoleptičke karakteristike iskazane ponderiranim bodovima. Glikemijski indeks (GI) završnih uzoraka keksa određen je sa zdravim dobrovoljcima oba spola i različite dobi.

Rezultati kemijskih analiza pokazali su da je supstituiranjem integralnih žitarica, pseudožitarica i leguminoza moguće dobiti keks bolje makronutritivne kvalitete i protektivnih svojstava. Uvođenje čistih zobenih i jabučnih vlakana rezultiralo je povećanom protektivnom, ali smanjenom nutritivnom kvalitetom keksa, osobito obzirom na proteinsku komponentu. Očito je da čista prehrambena vlakna nisu sirovina izbora za kreiranje funkcionalnog keksa dobrih nutitivnih karakteristika. Smanjenjem udjela izomalta i lipidne komponente, te uvođenjem inulina smanjena je ukupna energijska vrijednost za 11.5%, te postignut gotovo optimalno uravnotežen izvor energije od pojedinih makronutrijenata. Uvođenje pseudožitarica i leguminoza rezultiralo je značajnim padom brzo dostupne glukoze (9.62-47.55%) i brzo probavljivog škroba (9.77-50.39%). Značajan porast udjela rezistentnog škroba postignut je uvođenjem pseudožitarica (43.32-55.94%). Utvrđeno je da pečenje značajno povećava probavljivost škroba i udio brzo dostupne glukoze. Provedene modifikacije rezultirale su povećanjem ukupne organoleptičke prihvatljivosti, u odnosu na referentni uzorak, kod svih istraživanih keksa osim uzorka s dodatkom brašna soje. Analiza rezultata pokazuje da niti jedan od istraživanih keksa nema visok glikemijski indeks. Referentni uzorak, uzorak s dodatkom šećera, te uzorci s heljdom i bez inulina imaju srednji GI (58.7-66.9), a s brašnom amaranta, soje ili rogača imaju nizak GI (44.9-52.5). Utvrđena je vrlo dobra korelacija između rezultata dobivenih *in vitro* metodom i vrijednosti GI koja ukazuje da je kreiranje keksa s nižim stupnjem probavljivosti škroba dobar pristup u snižavanju glikemijskog indeksa keksa, a time i povećanja njegovih funkcionalnih svojstava. Kao rezultat ovog istraživanja može se zaključiti da je uvođenjem odabranih sirovina moguće poboljšati nutritivni sastav, sniziti kalorijsku (energijsku) vrijednost, te sniziti glikemijski indeks, odnosno poboljšati funkcionalna svojstva keksa uz istodobno održavanje zadovoljavajućih organoleptičkih svojstava.

Ključne riječi: funkcionalna hrana, keks, integralne sirovine, prehrambena vlakna, *in vitro* probavljivi škrob, glikemijski indeks

SUMMARY

Considering the increasing awareness of preventive and protective role of diet in many diseases, in the framework of this work, the possibilities of developing biscuits with lower glycaemic index as functional cereal-based products were investigated. Sixteen types of laboratory prepared biscuits were investigated, where a certain proportion of white wheat flour in the recipe was substituted with whole grain cereals (oat- and barley flour), whole grain pseudocereals (buckwheat- and amaranth flour), legumes (soy- and carob flour) or pure fibre (oat- and apple fibre). Preliminary investigations were the basis for selecting the most optimal formulation that was additionally supplemented with inulin. Macronutritive components (proteins, lipids, available carbohydrates, dietary fibre) were determined by standard methods of analysis, and *in vitro* digestibility of starch was determined by controlled enzymatic simulation of gastrointestinal digestion. To determine the impact of technological process (baking) on the observed parameters, investigations have been conducted in dough as well. All biscuits were conducted to organoleptic analysis and obtained results were presented by the weighted score. The glycaemic index (GI) of the final samples of biscuits was determined with healthy volunteers of both sexes and different ages. Results of the chemical analysis showed that by substitution of whole grain cereals, pseudocereals and legumes, it is possible to achieve a better macronutritive quality and protective characteristics of biscuit. Introducing pure oat and apple fibre resulted in increased protective, but decreased nutritional quality of biscuits, especially regarding protein component. It is obvious that pure dietary fibre are not raw materials of choice for creating functional biscuits with good nutritive characteristics. Reduction of isomalt content and lipid component and the introduction of inulin reduced the total energy value for 11.5%, and resulting in formulation with nearly optimally balanced energy source of each macronutrient. Introducing pseudocereals and legumes resulted in a significant decline of rapidly available glucose (9.62-47.55%), and rapidly digestible starch (9.77-50.39%). Significant increase of resistant starch content was achieved by pseudocereals implementation (43.32-55.94%). It was found that baking significantly increased the digestibility of starch and rapidly available glucose. Performed modifications resulted in an increase of overall organoleptic acceptability in all investigated samples, compared to the reference sample, except in biscuit supplemented with soy flour. The results show that none of the investigated biscuits had high glycaemic index. Reference sample, a sample with added sugar, and samples with buckwheat and without inulin had medium GI (58.7-66.9), while samples with amaranth-, soy- or carob flour had a low GI (44.9-52.5). A very good correlation between the results obtained by *in vitro* method and obtained GI values was determined indicating that the formulation of biscuits with lower starch digestibility represents good approach in lowering glycemic index of biscuits, and increasing its functional properties. As a result of this investigation it can be concluded that the introduction of selected raw materials to standard biscuit recipe can improve the nutritive composition, lower caloric (energy) value, lower the glycaemic index, and respectively improve the functional properties of biscuits while maintaining satisfactory organoleptic properties.

Keywords: functional food, biscuit, whole grain raw material, dietary fibre, *in vitro* digestible starch, glycaemic index

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U TEKSTU

AACC	The American Assotiation of Cereal Chemists
AOAC	AOAC International (Assotiation of Analytical Communities)
AUC	površina ispod krivulje (*area under curve)*
CODEX	Codex Alimentarius Commission – program FAO i WHO za prehrambene standarde, smjernice i vezanu problematiku
FAO	Food and Agriculture Organisation (of the United Nations)
FDA	The U.S. Food and Drug Administration
FG	slobodna glukoza (*free glucose*)
GI	glikemijski indeks (*glycaemic index*)
HDL	lipoprotein visoke gustoće (*high-density lipoprotein*)
IOM	Institute of medicine (of the National Academies)
LDL	lipoprotein niske gustoće (*low-density lipoprotein*)
RAG	brzo dostupna glukoza (*rapidly available glucose*)
RDA	preporučene dnevne količine (*recommended dietary allowances)*
RDS	brzo probavljivi škrob (*rapidly digestible starch*)
RS	rezistentni škrob (*resistant starch*)
SDS	sporo probavljivi škrob (*slowly digestible starch*)
TS	ukupni škrob (*total starch*)
WHO	World Health Organization

SADRŽAJ

1. UVOD ……1
1.1. FUNKCIONALNA HRANA U PROMOCIJI ZDRAVLJA……2
1.2. KEKS KAO FUNKCIONALNA HRANA ……4
1.2.1. Pšenica ……5
1.2.2. Zob ……5
1.2.3. Ječam ……6
1.2.4. Heljda ……7
1.2.5. Amarant ……8
1.2.6. Soja ……9
1.2.7. Rogač ……10
1.3. UGLJIKOHIDRATI U HRANI ……11
1.3.1. Škrob ……14
1.3.1.1. Struktura škroba ……14
1.3.1.2. Funkcionalne karakteristike škroba ……16
1.3.1.3. Enzimatska razgradnja škroba ……17
1.3.1.4. Nutritivno značajne frakcije škroba ……17
1.3.2. Neškrobni polisaharidi ……19
1.3.3. Inulin ……20
1.3.4. Izomalt ……21
1.3.5. Podjela ugljikohidrata temeljena na fiziologiji ……21
1.3.6. Prehrambena vlakna ……22
1.3.6.1. Definicija prehrambenih vlakana ……22
1.3.6.2. Struktura prehrambenih vlakana ……23
1.3.6.3. Protektivna važnost prehrambenih vlakana ……25
1.4. GLIKEMIJSKI INDEKS ……28
1.4.1. Definicija glikemijskog indeksa i mehanizam djelovanja ……28
1.4.2. Učinci prehrane s niskim GI ……29
2. OBRAZLOŽENJE TEME ……32
3. EKSPERIMENTALNI DIO ……35
3.1. MATERIJALI ……36
3.1.1. Uzorci ……36
3.1.2. Instrumenti i uređaji ……40
3.1.3. Reagensi ……41
3.1.4. Puferi ……42
3.1.5. Programski paketi ……43
3.2. METODE ……44
3.2.1. Određivanje proteina ……44

3.2.1.1. Određivanje ukupnih proteina ……..44
3.2.1.2. Određivanje probavljivosti proteina ……44
3.2.2. Određivanje masti ……..……..45
3.2.3. Određivanje pepela ……..……45
3.2.4. Određivanje vlage ……..…….46
3.2.5. Određivanje prehrambenih vlakana ……46
3.2.6. Određivanje dostupnih ugljikohidrata ……..…..…48
3.2.7. Određivanje *in vitro* probavljivosti škroba ……..….48
3.2.8. Određivanje glikemijskog indeksa ……..…..…..52
3.2.9. Organoleptička ispitivanja ……..……..…54
3.2.10. Statistička obrada podataka ……..……56
4. REZULTATI ……..……..…57
4.1. REZULTATI PRELIMINARNIH ISTRAŽIVANJA ……..….58
4.1.1. Makronutritivni sastav preliminarnih uzoraka ……..….58
4.1.1.1. Udio proteina preliminarnih uzoraka ……..…58
4.1.1.2. Udio ukupnih lipida preliminarnih uzoraka ……..…..…..60
4.1.1.3. Udio pepela u preliminarnim uzorcima ……..….61
4.1.2. *In vitro* probavljivost škroba preliminarnih uzoraka ……..……62
4.1.3. Udio prehrambenih vlakana u preliminarnim uzorcima ……....70
4.1.4. Organoleptička analiza preliminarnih uzoraka keksa ……..……75
4.2. REZULTATI ZAVRŠNIH ISTRAŽIVANJA ……..……..…..77
4.2.1. Makronutritivni sastav završnih uzoraka ……..…….....77
4.2.1.1. Udio proteina završnih uzoraka ……..…….....77
4.2.1.2. Udio lipida završnih uzoraka ……..……..78
4.2.1.3. Udio pepela završnih uzoraka ……..….79
4.2.2. Udio probavljivih proteina u završnim uzorcima ……..…….....80
4.2.3. *In vitro* probavljivost škroba završnih uzoraka ……..….81
4.2.4. Udio prehrambenih vlakana (ukupnih, netopljivih i topljivih) u završnim uzorcima ……..…..86
4.2.5. Organoleptička analiza završnih uzoraka ……..……..91
4.2.6. Određivanje glikemijskog indeksa ……..….91
5. RASPRAVA ……..…...95
5.1. UTJECAJ SIROVINSKOGA SASTAVA NA MAKRONUTRITIVNE SASTAVNICE UZORAKA I NJIHOVU ENERGIJSKU VRIJEDNOST ……..…..….99
5.2. NUTRITIVNO ZNAČAJNE FRAKCIJE ŠKROBA U PRELIMINARNIM UZORCIMA ……....103
5.2.1. Utjecaj tehnološkog postupka (pečenja) na *in vitro* probavljivost škroba ……..…..…..107

5.3. NUTRITIVNO ZNAČAJNE FRAKCIJE ŠKROBA U ZAVRŠNIM KEKSIMA 110
5.4. UTJECAJ PROMJENE SIROVINSKOGA SASTAVA NA GLIKEMIJSKI INDEKS KEKSA (GI)
……..……..……113
5.5. UTJECAJ PROMJENE SIROVINSKOGA SASTAVA NA ORGANOLEPTIKU PRELIMINARNIH UZORAKA ……...…..117
5.6. UTJECAJ PROMJENE SIROVINSKOGA SASTAVA NA ORGANOLEPTIKU ZAVRŠNIH UZORAKA ……...……...…118
6. ZAKLJUČCI ……...……...……..121
7. LITERATURA ……...…….126
8. ŽIVOTOPIS ……....143
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA
BASIC DOCUMENTATION CARD

1. UVOD

1.1. FUNKCIONALNA HRANA U PROMOCIJI ZDRAVLJA

Mnogobrojne bolesti povezane s nepravilnom prehranom (kardiovaskularne bolesti, dijabetes tipa 2, neke vrste tumora) danas predstavljanju vodeći uzrok smrti u razvijenim zemljama svijeta. Iako zadnjih desetljeća nutricionisti i liječnici razvijaju nove spoznaje o ulozi hrane u prehrani čovjeka, još je Hipokrat, otac medicine, prije 2400 godina postavio temelj shvaćanja hrane kao lijeka rečenicom: „Neka hrana bude tvoj lijek, a lijek tvoja hrana".

Pojam funkcionalne hrane potječe iz Japana gdje je 1984. godine pokrenuto istraživanje u kojem je utvrđena uloga hrane u održavanju zdravlja i prevenciji bolesti, a 1991. godine kategorija hrane potencijalnog pozitivnog djelovanja definirana je zakonskom regulativom kao hrana za specifične zdravstvene potrebe (foods for specific health use – FOSHU food). Obzirom da termin „funkcionalna" ukazuje na to da hrana ima neku identificiranu vrijednost koja dovodi do blagotvornih učinaka na zdravlje, uključujući smanjeni rizik od bolesti za osobu koja takvu hranu konzumira, pojam funkcionalne hrane ne može se jednostavno definirati obzirom da se veliki broj različitih prehrambenih proizvoda može svrstati u skupinu funkcionalnih namirnica. Stoga je Europska komisija 1998. godine predložila „radnu" definiciju funkcionalne hrane: *„Hrana se može smatrati funkcionalnom ukoliko je na zadovoljavajući način dokazan blagotvoran utjecaj na jednu ili više ciljnih funkcija u tijelu, iznad uobičajenih nutritivnih učinaka, na način koji je važan za poboljšanje zdravlja i općeg stanja i/ili smanjenje rizika od bolesti*". Funkcionalna hrana mora ostati hrana i mora iskazivati svoje učinke u količinama za koje se očekuje da se normalno konzumiraju u prehrani: ona nije tableta niti kapsula, već dio normalnog obrasca prehrane" [1].

U Europi je 1999. uspostavljen konsenzus o znanstvenim konceptima funkcionalne hrane poznat kao FUFOSE (Scientific concepts of funcional foods in Europe) koji karakterizira funkcionalnu hranu [2]:

1. konvencionalna ili svakodnevna hrana
2. konzumira se kao dio normalne uobičajene prehrane

3. sastavljena od prirodnih (nesintetičkih) komponenata koje mogu biti prisutne u količinama većim od uobičajenih ili prisutne u namirnicama koja ih uobičajeno ne sadržava
4. osim osnovnih nutritivnih, posjeduje dodatne pozitivne učinke na ciljne funkcije organizma
5. može poboljšati zdravlje, kao i opće stanje organizma i/ili smanjiti rizik od bolesti te tako popraviti kvalitetu života uključivši fiziološke, fizičke i psihičke aspekte
6. posjeduje autorizirane i znanstveno utemeljene tvrdnje

Funkcionalne namirnice, obzirom na svoj specifični sastav u odnosu na klasične namirnice iste vrste imaju pozitivan učinak na zdravlje ljudi te se najčešće koriste u očuvanju optimalnih gastrointestinalnih funkcija, podizanju antioksidativne obrane organizma, te smanjenju faktora rizika uključenih u etiologiju kardiovaskularnih oboljenja i malignih bolesti.

Razvoj funkcionalnih proizvoda temelji se na primjeni jednog ili više od slijedećih pet pristupa [3]:

1. uklanjanje komponente iz namirnice za koju je utvrđeno da uzrokuje nepoželjne učinke prilikom konzumacije (npr. alergeni proteini)
2. povećanje koncentracije prirodno prisutnog sastojka u hrani (npr. obogaćivanje vitaminima) ili povećanje koncentracije nenutritivne komponente koja iskazuje pozitivan fiziološki učinak
3. dodavanje komponente koja nije uobičajeno prisutna u većini hrane, te nije nužno makro- ili mikronutrijent, ali ima dokazane pozitivne učinke (npr. prebiotici)
4. zamjena određenog sastojka, uglavom makronutrijenta čiji prekomjeran unos dovodi do nepoželjnih učinaka (zamjena masti sastojkom poželjnih učinaka)
5. povećanje biodostupnosti ili stabilnosti funkcionalnih komponenata

1.2. KEKS KAO FUNKCIONALNA HRANA

Keks je općeprihvaćen proizvod u svijetu zbog raznolikog okusa, prihvatljive cijene i dugog roka valjanosti. Obično je bogat šećerom i zasićenim masnim kiselinama što može dugoročno, uz učestalu i prekomjernu konzumaciju utjecati na zdravlje, te su zadnjih godina nastojanja nutricionista i prehrambenih tehnologa usmjerena u pripravu keksa funkcionalnih svojstava. Općenito, funkcionalna hrana predstavlja izazov prehrambenoj industriji i u tehnološkom i u ekonomskom smislu obzirom da su istraživanja pokazala da se većina potrošača rijetko odriče okusa zbog zdravlja, te je stoga je važno razviti funkcionalan prehrambeni proizvod održanih tradicionalnih organoleptičkih karakteristika [4].

Obzirom da je brašno osnovni sastojak keksa, odabirom optimalnih sirovina i tehnološkog postupka izrade nastoji se poboljšati nutritivni sastav, kao i funkcionalnost proizvoda.

Posljednjih godina žitarice, koje zauzimaju preko 73 % ukupne svjetske obradive površine i doprinose preko 60 % proizvodnji hrane, se sve više spominju u kontekstu funkcionalne hrane budući da osiguravaju prehrambena vlakna, proteine, energiju, minerale, vitamine i antioksidanse potrebne za održavanje zdravlja čovjeka. Nadalje, žitarice se mogu koristiti i kao supstrati za rast probiotskih bakterija, naročito laktobacila i bifidobakterija, kao prebiotici zahvaljujući specifičnim neprobavljivim ugljikohidratima koje sadrže, te za enkapsulizaciju probiotika čime se povisuje njihova stabilnost [5]. Također, integralne žitarice su bogate različitim fitokemikalijama, kao što se fitoestrogeni, fenolne komponente, karotenoidi, lignani, β-glukan i rezistentni škrob, a noviji dokazi pokazuju da njihova kompleksna mješavina iskazuje više pozitivnih učinaka na zdravlje nego pojedinačne izolirane komponente [6]. Pšenica, zob, ječam, heljda i soja danas predstavljaju najčešće korištenu funkcionalnu hranu na bazi žitarica [7].

1.2.1. Pšenica



Slika 1. Pšenica (*Triticum spp.*) [8]

Pšenica (slika 1) potječe iz porodice trava (*Poaceae*), a u prehrambenoj industriji značajne su tvrda zimska ili krušna pšenica (*Triticum aestivum*), meka proljetna ili konditorska pšenica (*Triticum compactum*) i tvrda proljetna za proizvodnju tjestenine (*Triticum durum*). Nakon riže, najšire je upotrebljavana žitarica na svijetu, te ima velik značaj u nizu industrija kao što su mlinarska, konditorska i farmaceutska. Različitim stupnjem mljevenja dobiva se više tipova brašna određenih sadržajem minerala koji se određuje kao postotni udio pepela u brašnu (0.45 % u bijelom, 1.5 % u integralnom brašnu). Bijelo pšenično brašno (T550) dobiva se mljevenjem središnjih dijelova pšeničnog zrna (endosperma) kojeg najvećim dijelom čine škrob i proteini, te sadrže male količine vitamina, minerala i prehrambenih vlakana koji se nalaze u vanjskom dijelu zrna. Integralno pšenično brašno koje sadrži sve dijelove zrna pšenice, uključujući ovojnicu i klicu bogato je vitaminima B grupe, vitaminom E, mineralima, proteinima, te predstavlja važan izvor prehrambenih antioksidanasa (slobodne i esterificirane fenolne kiseline), kao i netopljivih vlakana zaslužnih za održavanje gastrointestinalnog zdravlja [7]. Usprkos očitoj prednosti integralnog pšeničnog brašna nad bijelim, potonji predstavlja gastronomski atraktivan, iako potpuno osiromašeni pšenični proizvod u kojemu su usitnjeni i samljeveni najmanje vrijedni dijelovi zrna [9].

1.2.2. Zob

Zob (*Avena sativa L.*) je od davnina prepoznata kao ljekovita i nutritivna namirnica (slika 2) koja sadrži visoke udjele dobro uravnoteženih proteina, prehrambenih vlakana (naročito topljivih), te antioksidanasa, kao što su vitamin E, fitinska kiselina i fenolne komponente [10]. Antioksidansi koji se nalaze u vanjskom omotaču zrna, osim važnosti u humanoj prehrani, doprinose stabilnosti proizvoda od zobi sprječavajući ili usporavajući

oksidaciju lipida [11]. Zob sadrži značajne količine β-glukana (2.3 – 8.5 g/100 g), topljivog prehrambenog vlakna, koji predstavlja skupinu linearnih polimera glukoze vezanih 70 % β-(1-4) i 30 % β-(1-3) vezama. U odnosu na celulozu koja sadrži samo β-(1-4) veze, β-glukan je fleksibilniji, topljiviji i viskozniji, te iskazuje brojne pozitivne učinke na humano zdravlje kao što su snižavanje postprandijalne razine glukoze i inzulina u krvi [12], ubrzani transport žučnih kiselina u donjim dijelovima probavnog sustava i njihovo brže izlučivanje [13], snižavanje razina kolesterola [14] i povećanje imunološkog sustava [6]. Imajući u vidu navedeno, FDA je odobrila zdravstvenu tvrdnju da konzumacija 3 g/dne β-glukana snižava razine kolesterola u krvi [15]. Anderson i suradnici [16] pretpostavili su nekoliko načina kojima zobene mekinje doprinose sniženju razine ukupnog i LDL kolesterola u krvi. Osim povećanog izlučivanja žučnih kiselina, smatra se da mijenjaju metabolizam lipoproteina povećavajući broj jetrenih LDL receptora. Nadalje, zobene mekinje fermentiraju u debelom crijevu u kratkolančane masne kiseline, octenu, butiričnu i propionsku, a potonji nakon apsorpcije u portalnu venu može inhibirati sintezu kolesterola u jetri. Obzirom da zobene mekinje povoljno mijenjaju aterogene lipide, kao i druge frakcije lipoproteina, time učinkovito smanjuju rizik od koronarne srčane bolesti.



Slika 2. Zob (*Avena sativa L.*) [8]

1.2.3. Ječam

Ječam (*Hordeum Vulgare L.*) je žitarica iz porodice trava (slika 3) koja zauzima peto mjesto u svjetskoj proizvodnji žitarica. Ječam potječe iz Etiopije i jugoistočne Azije gdje se uzgajao prije 10 000 godina te se otada upotrebljava za prehranu ljudi i životinja, kao i proizvodnju alkoholnih pića (slad). Ječam je bogat prehrambenim vlaknima, te su Gill i suradnici [17] dokazali da zamjena 15 % pšeničnog brašna ječmenim u proizvodnji

kruha rezultira porastom ukupnih, kao i topljivih i netopljivih vlakana. Najznačajnije sastavnice topljivih vlakana u ječmu su β-glukan i arabinoksilan koje imaju ulogu u snižavanju razina kolesterola i glukoze u krvi [18], iako se danas ječam nedovoljno koristi da bi iskazao učinkovitost u ljudskoj prehrani [19].



Slika 3. Ječam (*Hordeum Vulgare L.*) [8]

1.2.4. Heljda

Heljda (*Fagopyrum esculentum*) prema botaničkoj pripadnosti spada u porodicu *Polygonaceae* (slika 4), no svrstava se u žitarice (pseudožitarice) zbog sličnosti u izgledu, kemijskom sastavu zrna i načinu korištenja. Heljdino brašno, u odnosu na pšenično, sadrži relativno visoke količine proteina (oko 12 %), prehrambenih vlakana (12.7 – 17.8 %), minerala i vitamina B kompleksa (naročito niacina), te niske količine lipida [21]. Također, heljdino brašno je bogato albuminom i globulinom, a vrlo siromašno prolaminom i glutelinom [22], odnosno ne sadrži gluten ili ga sadrži u vrlo malim količinama te stoga ima važnu ulogu u bezglutenskoj prehrani oboljelih od celijakije [23]. Proteini heljde imaju visoku biološku vrijednost zahvaljujući dobro uravnoteženom aminokiselinskom sastavu, te su bogati lizinom, esencijalnom i limitirajućom aminokiselinom žitarica, kao i argininom. Omjeri lizin/arginin i metionin/glicin u proteinima heljde su niži nego u većini drugih biljnih proteina što ima učinak na snižavanje kolesterola, a iako postoji nekoliko hipoteza, sam mehanizam djelovanja još nije razjašnjen. Također, ekstrakti proteina heljde mogu imati snažan ljekovit učinak na neke kronične bolesti, kao što su dijabetes, hipertenzija,



Slika 4. Heljda (*Fagopyrum esculentum*) [20]

hiperkolesterolemija, te mnoge druge kardiovaskularne bolesti [24]. Heljda sadrži i druge sastojke s pozitivnim učinkom na humano zdravlje kao što su flavonoidi, fitosteroli, fagopirini i tiamin vezujući protein. Flavonoidi predstavljaju veliku skupinu prirodnih antioksidanasa, a epidemiološke studije ukazuju na njihovu protektivnu ulogu u koronarnoj srčanoj bolesti, te na antialergijske, antiviralne i antioksidativne značajke. Najznačajniji flavonoid u heljdi je rutin koji smanjuje krhkost kapilara i permeabilnost krvnih žila, te smanjuje rizik od ateroskleroze [25]. Fitosteroli (biljni steroli) prisutni u heljdi imaju pozitivne učinke na snižavanje kolesterola u krvi, te iskazuju antiviralni učinak, a tiamin vezujući protein poboljšava stabilnost tiamina tijekom skladištenja, kao i njegovu biodostupnost [24]. Međutim, heljda može izazvati teške simptome alergije kod osjetljivih osoba i to ne samo nakon konzumacije, već i nakon izlaganja samom brašnu [26]. Obzirom da je heljdino brašno bogat izvor visokokvalitetnih proteina, te osim nutritivne sadrži i čitav niz protektivnih sastojaka, ono za prehrambenu industriju predstavlja sirovinu budućnosti u proizvodnji funkcionalne hrane [27].

1.2.5. Amarant

Amarant je autohtona biljka s područja srednje i južne Amerike, koja kao i heljda prema botaničkim osobinama ne pripada žitaricama, ali se zbog slične upotrebe i sastava ubraja u žitorodne biljke (pseudožitarica). Rod *Amaranthus* (slika 5) obuhvaća 60-ak vrsta od kojih se brojne uzgajaju kao žitarice i ukrasne biljke.



Slika 5. Amarant (*amaranthus spp.*) [8]

U prehrani se najčešće koriste *A. hypochondracus* i *A. cruentus*, a jedna biljka može sadržavati i više od 100 000 sjemenki (zrna) promjera svega 1 mm, ali izvanrednih nutritivnih osobina. Zrna amaranta sadrže 15 – 22 % proteina uz visoku koncentraciju esencijalnih aminokiselina, naročito lizina i valina, te 9 – 16 % prehrambenih vlakana i 3.1 – 11.5 % lipida u kojima 77 % čine nezasićene masne kiseline

uz dominaciju linolne kiseline koja ima blagotvoran učinak na ljudsko zdravlje [28]. U ulju amaranta nalazimo tokotrienole, relativno rijedak, a za zdravlje izuzetno koristan oblik vitamina E za koji je pokazano da ima potencijalno antikarcinogeno djelovanje, sprječava oksidaciju kolesterola i pomaže kod infekcija, te skvalene za koje je znanstvenim istraživanjima dokazano antikarcenogeno djelovanje [29]. Amarant je, u odnosu na pšenicu, značajno bogatiji nizom mikronutrijenata kao što su željezo i kalcij, ali sadrži i visoke količine magnezija, kalija, cinka, fosfora, bakra, vitamina A, B_1, B_2 i B_3, te sadrži niske količine natrija. Nadalje, amarant predstavlja bogat izvor fitosterola, biljnih spojeva kojima je dokazana uloga u snižavanju razine kolesterola i smanjenju rizika od razvoja određenih oblika karcinoma, a vrlo nizak udio gliadina čini ga namirnicom prikladnom za konzumaciju osoba oboljelih od celijakije. Amarant predstavlja jedinstvenu žitaricu i po tome što je njegovo nutritivno bogatstvo smješteno u unutrašnjosti zrna, a ne kako je to slučaj s većinom žitarica u endospermu, odnosno ljusci, što rezultira minimalnim gubicima hranjivih tvari tijekom obrade zrna [30].

1.2.6. Soja

Soja (*Glycine max.*) je biljka iz porodice leguminoza (*Fabaceae*) vrlo visoke hranjive vrijednosti (slika 6). Potječe iz jugoistočne Azije gdje se upotrebljavala kao hrana, ali i lijek, a u Europu je donesena tek u 18. stoljeću. U prehrambenoj industriji najčešće se koristi punomasno sojino brašno dobiveno mljevenjem endosperma zrna soje. Sojino zrno sadrži oko 18.6 – 21.7 % masti, 36.8 – 41.8 % proteina, 8.9 – 13.3 % ugljikohidrata i 13.7 – 16.5 % prehrambenih vlakana [31]. Oko 35 % ukupnih proteina čini globulin glicinin, jedini biljni protein koji sadrži sve esencijalne aminokiseline potrebne za rast i normalan razvoj organizma. U proteinima soje su zastupljene sve aminokiseline potrebne za ljudsku prehranu, osim aminokiselina sa sumporom, od kojih je najdeficitarniji metionin što prema Messini [32]



Slika 6. Soja (*Glycine max.*) [20]

predstavlja prednost obzirom da koštani sustav djeluje kao pufer u organizmu, te vodikovi ioni proizvedeni metabolizmom aminokiselina sa sumporom uzrokuju demineralizaciju kostiju i izlučivanje kalcija urinom. Kako je pšenično brašno deficitarno lizinom, kombiniranjem sa sojom i ostalim leguminozama povećava se iskoristivost proteina. Međutim dodatak punomasnog sojinog brašna može smjesi brašna povećati moć upijanja vode [33]. Lipidi sojinog zrna sastavljeni su uglavnom od triacilglicerola te sadrže čak 85 % nezasićenih masnih kiselina od čega 75 % čine mononezasićena oleinska i polinezasićena linolna s dobro utvrđenim učinkom smanjenja rizika od kardiovaskularnih bolesti. Soja i proizvodi od soje su najbogatiji izvor izoflavona (genistein i daidzein) u ljudskoj prehrani. Izoflavoni su polifenoli koji pripadaju skupini fitoestrogena, spojeva biljnog porijekla koji pokazuju estrogensku aktivnost, odnosno mogu se vezati za estrogenske receptore. Smatra se da bi antiestrogeni utjecaj na tkiva reprodukcijskih organa mogao pomoći smanjenju rizika od karcinoma povezanih s hormonskom aktivnošću (rak dojke, maternice, prostate), dok bi estrogeni efekt na druga tkiva mogao pomoći u održavanju gustoće kostiju i smanjenju razine kolesterola u krvi. Također, dokazano je da izoflavoni soje smanjuju krhkost arterija koja je povezana s pojavom ateroskleroze [34].

1.2.7. Rogač

Rogač je plod drveta *Ceratonia siliqua* iz porodice leguminoza (*Fabaceae*), oblika je mahune dužine 10 – 20 cm ispunjene s 10 – 15 vrlo tvrdih sjemenki smeđeljubičaste boje, a raste samoniklo na području Mediterana (slika 7). Cijeli plod rogača (mahuna i sjemenke) je jestiv. Plod rogača sadrži oko 13 % jednostavnih šećera (fruktoza, maltoza i glukoza), 20 % saharoze, 4 % proteina, 2 – 3 % pektina, 3 % sluznih polisaharida, 35 % škroba i do 2 % lipida. Od minerala rogač sadrži najviše kalija, kalcija, željeza i magnezija [36]. Plod se



Slika 7. Rogač (*Ceratonia siliqua*) [35]

suši, ispire s vodom i usitnjava kako bi se sjemenke odvojile od mezokarpa, odnosno mahune. Obradom sjemenki rogača dobiva se karuba guma, polisaharidna guma velike molekulske mase koja se koristi kao prehrambeni aditiv E410 u recepturama raznih prehrambenih proizvoda (prirodni biljni zgušnjivač, sredstvo za geliranje, emulgator i stabilizator). Brašno rogača koristi se u prehrambenoj industriji kao stabilizator i kao sredstvo za tamnjenje, te u dijetetskim proizvodima za liječenje dijareje posebno kod djece budući da tanini rogača djeluju kao adstrigens na mukoznu membranu intestinalnog sustava [37]. Studije provedene na zdravim dobrovoljcima potvrdile su učinak polifenola i netopljivih vlakana rogača na sniženje razine lipida u krvi što opravdava primjenu rogača u liječenju i prevenciji hiperlipidemije i pratećih kardiovaskularnih oboljenja [38].

1.3. UGLJIKOHIDRATI U HRANI

Prehrambeni ugljikohidrati (UH) su raznolika grupa tvari različitih kemijskih, fizikalnih i fizioloških karakteristika. Oni prvenstveno osiguravaju energiju metabolizmu, te imaju utjecaj na sitost, razine glukoze i inzulina u krvi, metabolizam lipida, a putem fermentacije imaju značajnu ulogu na funkciju kolona uključujući vrijeme tranzita, metabolizam i ravnotežu flore, te poboljšanje zdravlja epitelnih stanica crijeva. Također, mogu imati imunomodulatorni učinak, te djelovati na apsorpciju kalcija. Sve navedeno ima utjecaj na cjelokupno zdravlje čovjeka, a osobito u kontroli tjelesne mase, dijabetesa i starenja, kardiovaskularnih bolesti, mineralne gustoće kostiju, raka kolona, konstipacije i otpornosti na crijevne infekcije [39].

Osnovna podjela prehrambenih ugljikohidrata prema FAO/WHO [40] je prema molekulskoj masi, odnosno stupnju polimerizacije (DP), vrsti veza (α ili ne α veze) i karakteru pojedinačnih monomera. Kemijska podjela UH potrebna je zbog smislenog i provedivog pristupa mjerenju i označavanju što predstavlja temelj za terminologiju i razumijevanje fizioloških i zdravstvenih utjecaja tih makroelemenata. Kemijski pristup dijeli UH na tri glavne skupine, šećere (DP 1 – 2), oligosaharide (kratkolančani UH, DP 3 - 9) i polisaharide (DP ≥ 10). Glavni prehrambeni UH prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Podjela glavnih prehrambenih ugljikohidrata [41]

glavne skupine (DP)*	podgrupa	fiziologija
šećeri (1 – 2)	monosaharidi (glukoza, fruktoza)	apsorbiraju se u tankom crijevu, glukoza daje brzi glikemijski odgovor
	disaharidi (saharoza, maltoza, trehaloza, laktoza)	apsorbiraju se, saharoza daje brzi glikemijski odgovor laktoza fermentira kod mnogih populacija
	šećerni alkoholi (sorbitol, izomalt, maltitol)	slabo se apsorbiraju i djelomično fermentiraju
oligosaharidi (3 – 10)	maltooligosaharidi (α-glukan)	a) probavljiv-probavlja se i apsorbira iz tankog crijeva i daje brzi glikemijski odgovor b) rezistentni-prelazi u debelo crijevo i može se fermentirati
	drugi oligosaharidi (frukto- i galaktooligosaharidi)	fermentiraju, neki selektivno stimuliraju rast bifidobakterija u debelom crijevu
polisaharidi	škrob (α-glukani)	a) probavljivi-različiti stupnjevi probave i glikemijskog odgovora b) rezistentni-ne apsorbiraju se u tankom crijevu, mogu fermentirati i djelovati na funkciju debelog crijeva
	neškrobni polisaharidi (NSP)	a) stanična stijenka-doprinose regulaciji probave ugljikohidrata u tankom crijevu, uglavnom fermentiraju, ali ovisno o strukturi, glavni faktor koji utječe na funkciju debelog crijeva, osigurava fizikalnu strukturu biljnoj hrani b) nije stanična stijenka-fermentira različitim opsegom, posjeduje različite učinke na apsorpciju ugljikohidrata i lipida u debelom crijevu

*DP (stupanj polimerizacije) – broj monosaharidnih jedinica koje čine molekulu

Šećeri

Pojam „šećeri“ se tradicionalno koristi za mono- i disaharide u hrani. Tri glavna monosaharida su glukoza, fruktoza i galaktoza od kojih se sastoje prirodno prisutni di-, oligo- i polisaharidi. Šećeri se koriste kao zaslađivači za poboljšanje okusa, te doprinose funkcionalnim karakteristikama hrane kao što je viskozitet, tekstura i kapacitet tamnjenja. Glavni disaharidi su saharoza (široko rasprostranjena u voću i povrću) i laktoza (osnovni šećer u mlijeku).

Obzirom na percipirani negativni utjecaj šećera na zdravlje, u upotrebi su brojni nazivi za njihovo specifičnije kategoriziranje koji uglavnom ističu njihovo porijeklo, kao npr. ukupni, dodani, slobodni, endogeni ili egzogeni šećeri i sl.

Ukupni šećeri uključuju sve šećere iz bilo kojeg izvora hrane, a definirani su kao svi mono- i disaharidi osim poliola.

Slobodni šećeri se odnose na sve mono- i disaharide koji su dodani hrani uz šećere prirodno prisutne u namirnicama (npr. medu, sirupima i voćnim sokovima).

Dodani šećeri je pojam koji se uobičajeno koristi, a odnosi se na šećere i sirupe koji su dodani hrani tijekom prerade ili pripreme.

Endokrini i egzokrini šećer je pojam uveden za razlikovanje šećera koji su prirodno prisutni u staničnoj strukturi hrane (endokrini, uvijek popraćeni s drugim nutrijentima) od onih koji su slobodni u hrani ili u nju dodani (egzokrini, uglavnom prisutni u voćnim sokovima, odnosno dodani procesuiranoj hrani).

Utjecaj šećera na zdravlje je više određen matriksom hrane u kojoj se nalazi, o čemu bi se trebalo voditi računa obzirom da utječu na druge nutrijente, tim više što navedeni alternativni termini ne opisuju stvarna svojstva šećera [39].

Oligosaharidi

Oligosaharidi su spojevi u kojima su monosaharidne jedinice vezane glikozidnim vezama i stupnjem polimerizacije između 3 i 9, obzirom da većina stručnjaka preporučuje stupanj polimerizacije 10 kao razdjelnu liniju između oligo- i polisaharida. U praksi, analitičari koriste taloženje iz vodene otopine s 80 %-tnim etanolom za razdvajanje ove dvije grupe iako se neki razgranati ugljikohidrati stupnja polimerizacije između 10 i 100 ne talože u navedenoj otopini. Također, ugljikohidrati kao što su inulin i polidekstroza sadrže mješavine polimera različitih duljina lanaca te prelaze granicu oligosaharidi/polisaharidi.

Oligosaharidi hrane dijele se u dvije grupe: maltodekstrine koji uglavnom potječu od škroba te imaju $\alpha 1-4$ i $\alpha 1-6$ veze i prosječni DP 8, a široko se koriste u industriji hrane kao zaslađivači, zamjene za masti, te za modifikaciju teksture namirnica i oligosaharide koji nisu α glukani, a uključuju rafinozu, stahiozu, verbaskozu, te inulin i fruktooligosaharide [39].

1.3.1. Škrob

1.3.1.1. Struktura škroba

Škrob, osnovni ugljikohidrat u većini različitih prehrana, je glavni skladišni ugljikohidrat biljaka kao što su žitarice, gomoljasto povrće i leguminoze, te se sastoji samo od molekula glukoze. Nalazi se pohranjen kao netopljive semikristalinične granule u tkivima za pohranu (zrno, gomolj, korijen), a prisutan je, iako u manjim količinama i u većini ostalog tkiva biljke. Kristalinična forma granula se razlikuje prema difrakciji X zraka na A, B i C tip. A tip je karakterističan za žitarice (riža, pšenica), B tip za krumpir, bananu i visokoamilozne škrobove, a C tip je nađen u leguminozama. U nativnom (sirovom) obliku, B škrobovi su otporni na digestiju amilazom gušterače.

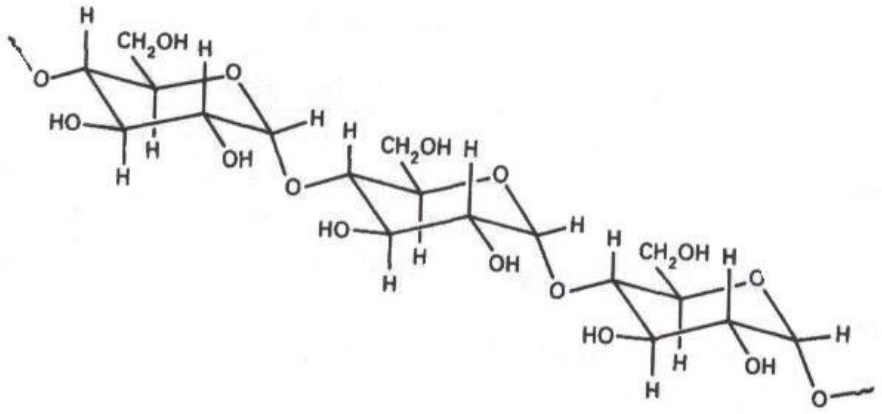
Škrob se sastoji od dva polimera D-glukoze: amiloze, u suštini nerazgranatog α(1-4) vezanog glukana i amilopektina čiji su lanci α(1-4) vezane glukoze raspoređeni u vrlo razgranate strukture s α(1-6) vezama grananja. Omjer amiloze i amilopektina ovisi o botaničkom porijeklu škroba. Udio vlage u nativnim granulama škroba je oko 10 %, a amiloza i amilopektin čine 98 – 99 % suhe tvari nativne granule, dok ostatak čine male količine lipida, minerala i fosfora. Granule škroba se razlikuju u veličini (promjer u rasponu od 1 do 100 μm), obliku, te mogu značajno varirati u odnosu na sadržaj, strukturu i organizaciju molekula amiloze i amilopektina, arhitekture grananja amilopektina, te stupnju kristalizacije [42].

Iako lipidi čine mali udio, oni imaju značajnu ulogu u određivanju značajki škroba. Količina lipida i kompozicija škrobne granule značajno varira između biljnih vrsta. Lipidi povezani s izoliranim granulama škroba žitarica nalaze se i na površini i u unutrašnjosti granule. Površinski lipidi su uglavnom trigliceridi, a u manjoj mjeri slobodne masne kiseline, glikolipidi i fosfolipidi, a unutrašnji lipidi su pretežno monoacilgliceridi. Udio lipida nativnih škrobova je visoko povezan s količinom amiloze, odnosno što je veći udio amiloze, prisutno je više lipida.

Struktura amiloze i amilopektina je detaljno analizirana [43, 44]:

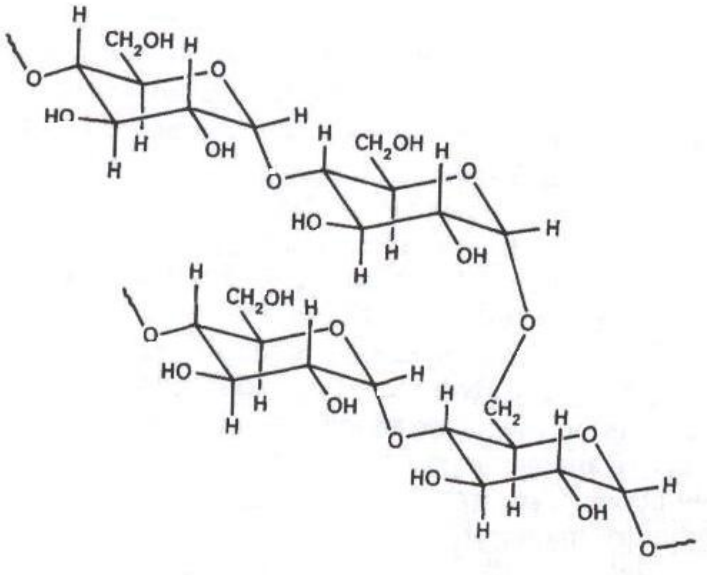
Amiloza (slika 8) ima molekularnu masu približno 10^5-10^6 što odgovara stupnju polimerizacije od 1000 - 10 000 jedinica glukoze. Manje od 0.5 % glukoze u amilozi je

vezano α(1-6) vezama što rezultira niskim stupnjem grananja i strukturom s 3 – 11 lanaca s približno 200-700 ostataka glukoze po molekuli.



Slika 8. Struktura amiloze [45]

Amilopektin (slika 9) je puno veći polimer s molekularnom masom oko 10^8 i stupnjem polimerizacije koji može prijeći i milijun. Većina škrobova sadrži 60 – 90 % amilopektina, iako visoko amilozni škrobovi mogu sadržavati svega 30 % amilopektina, a voštani praktički 100 %. Amilopektin ima otprilike 5 % glukoze vezano α(1-6) vezama što mu daje visoko razgranatu strukturu i složenu molekularnu arhitekturu koja može značajno varirati između različitih škrobova obzirom na položaj i duljinu grana.



Slika 9. Struktura amilopektina [45]

Udjeli amiloze i amilopektina u škrobnoj hrani su varijabilni i mogu se mijenjati oplemenjivanjem bilja. Genetičko modificiranje usjeva omogućava proizvodnju škrobova za specifične potrebe obzirom na različite funkcionalne i nutritivne karakteristike [46]. Visoko amilozni škrobovi zahtijevaju više temperature za želatinizaciju i skloniji su retrogradaciji i formiranju amiloza-lipidi kompleksa što su osobine koje se koriste u stvaraju hrane s visokim udjelom rezistentnog škroba. Također, škrobovi se mogu i kemijski modificirati (supstitucija, umrežavanje) u svrhu stvaranja određenih funkcionalnih značajki potrebnih za proizvodnju specifičnih osobina namirnice, kao što su smanjen viskozitet i poboljšanje stabilnosti gela, izgled, tekstura i sl., a mijenjanje prirode škroba može ga učiniti i otpornim na digestiju.

1.3.1.2. Funkcionalne karakteristike škroba

Većina namirnica koje sadrže škrob prolaze kroz neki oblik obrade što uključuje grijanje uz prisustvo vode, a potom hlađenje. Tijekom grijanja, škrobne granule se želatiniziraju čime gube svoju kristaliničnu i strukturnu organizaciju. Hlađenjem razgrađene molekule škroba najprije formiraju gel, a potom postepeno retrogradiraju u polukristalinične agregate koji se oblikom razlikuju od nativne granule. Želatinizacija nastaje kada se nativni škrob grije u prisustvu dovoljne količine vlage pri čemu granule apsorbiraju vodu i bubre čime se kristalinična struktura ireverzibilno razgrađuje. Razina i opseg želatinizacije ovise o vrsti i količini škroba, temperaturi, te sastavu smjese, npr. prisustvu lipida i proteina [47]. Temperature želatinizacije većine škrobova iznose između 60 i 80 °C s tim da postoji negativna povezanost između temperature i količine amiloze. Hlađenjem škrobne paste, formira se gel stvaranjem intramolekularnih veza između molekula amiloze i amilopektina. U gelovima koji sadrže veće količine amiloze (oko 25 %) molekule škroba tvore mrežu što rezultira čvrstim gelom, za razliku od voštanih škrobnih gelova koji su mekani i tvore agregate. Stajanjem škrobni gelovi retrogradiraju i stvaraju netopljive kristalinične strukture uslijed vezanja linearnih regija $\alpha(1\text{-}4)$ vezanih jedinica glukoze u polimere. Retrogradacija amiloze traje nekoliko minuta ili sati, a amilopektina nekoliko sati ili dana ovisno o sposobnosti razgranatih lanaca da se udruže.

Kompleksi između amiloze i lipida mogu značajno mijenjati značajke i funkcionalnost škroba tako što smanjuju topljivost škroba u vodi, poboljšavaju reološke karakteristike paste, smanjuju kapacitet bubrenja, povisuju temperaturu želatinizacije, smanjuju krutost gela, usporavaju retrogradaciju i smanjuju osjetljivost na enzimatsku hidrolizu [48]. Lipidi stvaraju komplekse uglavnom s amiloznom komponentom škroba te je stoga omjer amiloze i amilopektina važan čimbenik o kojem ovisi vezanje prirodnih škrobova s lipidima. Obzirom da škrobovi žitarica sadrže oko 1 % lipida, svega 15 – 55 % amiloze se nalazi u obliku kompleksa s lipidima. Smatra se da amilopektin, obzirom na njegov visok stupanj grananja, ima puno slabiji kapacitet vezanja lipida nego amiloza.

1.3.1.3. Enzimatska razgradnja škroba

Depolimerizacija škroba u gornjem dijelu probavnog sustava je pod utjecajem α-amilaza koje cijepaju α(1-4) veze, dok amiloglukozidaze i izoamilaze cijepaju α(1-6) glukozidne veze. Stupanj i opseg amilolitičke hidrolize varira ovisno o botaničkom porijeklu. Karakteristike granula škroba koje utječu na osjetljivost djelovanja α-amilaza su: kristalna struktura, veličina granula i dostupnost specifične površine, omjer amiloza i amilopektina, porozitet, strukturne nehomogenosti i stupanj cjelovitosti. Želatinizirani škrobovi se puno brže probavljaju za razliku od nativnih granula škroba ili retrogradiranog škroba što je u skladu s činjenicom da je pristup enzima molekuli škroba ključni faktor koji ograničava enzimsku hidrolizu. Kinetika α-amilolize intaktnih granula karakterizirana početnom brzom fazom hidrolize nakon čega nastupa sporija s tim da se apsorpcija vode i ulazak enzima javlja najprije u amorfnim dijelovima granule [49].

1.3.1.4. Nutritivno značajne frakcije škroba

Škrob je glavni ugljikohidrat u ljudskoj prehrani, a njegova nutritivna kvaliteta strogo ovisi o procesuiranju i strukturi škroba. Važna funkcionalna karakteristika škroba, posebno u prehrani, je njegova osjetljivost na digestiju. Škrob koji se ne razgrađuje brzo humanim probavnim enzimima u tankom crijevu posjeduje zdravstvene koristi zahvaljujući sporom otpuštanju glukoze u krvotok što rezultira smanjenim

postprandijalnim odgovorom glukoze i inzulina. Rezistentni škrob je škrob koji se nepotpuno probavlja, a njegova rezistencija se javlja kao rezultat njegovih unutrašnjih značajki, stupnju žvakanja hrane, kao rezultat promjena tijekom procesuiranja, retrogradacije, kemijske modifikacije ili zahvaljujući interakcijama s drugim komponentama hrane, posebno lipidima [50]. Neprobavljeni ili djelomično probavljeni škrob koji iz tankog crijeva odlazi u debelo crijevo, smatra se prebiotikom obzirom da predstavlja dobar supstrat za korisnu crijevnu mikrofloru odgovornu za zdravlje gastrointestinalnog sustava, stoga je dobivanje škroba koji je sporo probavljiv ili neprobavljiv važan cilj prehrambene industrije.

Razlozi nepotpune probave škroba mogu biti unutrašnji i vanjski [51]:

Unutrašnji faktori: probava škroba je usporena ako fizikalni oblik hrane ometa djelovanje amilaze gušterače što se javlja kada se škrob nalazi unutar očuvane ili tek djelomično razorene stanične stijenke obzirom da ona onemogućava bubrenje i disperziju škroba, botaničko porijeklo škroba, postojanje amiloza-lipidi kompleksa, prirodno prisutni inhibitori α-amilaze, te neškrobni polisaharidi.

Vanjski faktori: stupanj žvakanja koji određuje fizikalnu dostupnost škroba, brzina prolaska hrane kroz gastrointestinalni sustav, koncentracija amilaze, količina prisutnog škroba i prisutnost drugih sastojaka hrane koji mogu usporiti enzimsku hidrolizu.

Obzirom na visoke troškove *in vivo* fizioloških testova za procjenu probavljivosti škroba kod ljudi, razvijene su *in vitro* metode [51] koje ugrubo oponašaju fiziološke uvjete probavljanja škroba u želucu i tankom crijevu, te se tako škrob i škrobna hrana mogu klasificirati na osnovu unutrašnjih faktora (tablica 2) obzirom da je nemoguće uključiti varijacije koje obuhvaćaju vanjski faktori.

Tablica 2. Nutritivno značajne frakcije škroba [51]

frakcija škroba	brzo probavljivi škrob (RSD)	sporo probavljivi škrob (SDS)	rezistentni škrob (RS)
vrijeme digestije (*in vitro*) / mjesto	unutar 20 min; usta i tanko crijevo	20-120 min; tanko crijevo	>120 min; ne probavlja se u tankom crijevu, glavno djelovanje u kolonu
primjeri	svježe kuhana hrana	kukuruzni škrob, proso, leguminoze	sirovi krumpir, odstajali kruh
količina (g/100 g suhe tvari)	kuhani vrući krumpir: 65	kuhani proso: 28	sirovi krumpirov škrob: 75
glavna fiziološka svojstva	brzi izvor energije	spori i neprekidni izvor energije i održavanje razine glukoze	utjecaj na intestinalno zdravlje (npr. prebiotik, fermentacija do butirata sa vjerojatnim antikancerogenim učincima)
struktura	većinom amorfni	amorfni / kristalinični	ovisno o tipu, većinom kristalinični

1.3.2. Neškrobni polisaharidi

Neškrobni polisaharidi su polisaharidi u prehrani koji nisu α-glukani, odnosno makromolekule sastavljene od velikog broja monosaharidnih ostataka međusobno vezanih glikozidnim vezama, a prvenstveno se nalaze u staničnoj stijenci biljaka. Predstavljaju najraznolikiju od svih ugljikohidratnih skupina a obuhvaćaju mješavinu mnogih molekularnih oblika od kojih je **celuloza** (ravni lanci β1-4 vezani glukani, DP 10^3 – 10^6) najrasprostranjenija. Zahvaljujući svojoj linearnoj, nerazgranatoj strukturi molekule celuloze se čvrsto vežu u trodimenzionalnu mrežastu strukturu što predstavlja osnovu celuloznih vlakana koje su utkane u staničnu stijenku biljke i daju joj strukturu. Celuloza se ne probavlja enzimima humanog gastrointestinalnog sustava. **Hemiceluloza** je velika grupa polisaharidnih heteropolimera koji sadrže mješavinu heksoza i pentoza, često u obliku visokorazgranatih lanaca. Oko polovica hemiceluloza sadrži uronsku kiselinu

(karboksilirani derivati glukoze i galaktoze) koja joj određuje svojstva obzirom da se ponaša kao karboksilna kiselina i formira soli s metalnim ionima kao što su kalcij i cink. U svim staničnim stijenkama se nalazi i **pektin** koji je primarno polimer galaktouronske kiseline s tim da između 3 i 11 % uronske kiseline sadrži metilne supstitucije koji mu poboljšavaju svojstva formiranja gela. Također, za pektin su karakteristični kompleksi kalcija i magnezija s uronskom kiselinom.

Biljne gume i **sluzi** su neškrobni polisaharidi koji nisu strogo dijelovi stanične stijenke. Biljne gume su ljepljivi eksudati koji se stvaraju na mjestima ozljeda biljaka, a mnogi od njih su visoko razgranati kompleksi uronske kiseline koji sadrže polimere. Biljne sluzi su botanički različite po tome što su obično miješane s endospermom skladišnih ugljikohidrata sjemenki, a imaju ulogu zadržavanja vode i prevencije isušivanja. I jedni i drugi se široko upotrebljavaju u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji kao zgušnjivači i stabilizatori [39].

1.3.3. Inulin

Inulin je polisaharid izgrađen od fruktoznih jedinica međusobno su povezanih β (2-1) glikozidnom vezom dok je na kraju svakog lanca molekula glukoze vezana α (1-2) vezom kao u molekuli saharoze. Zbog postojanja β (2-1) veze enzimatska hidroliza inulina u tankom crijevu je vrlo mala (<10 %) zbog čega nerazgrađeni dospijevaju do debelog crijeva gdje se u potpunosti razgrađuju djelovanjem crijevne mikroflore. Fermentiraju uglavnom do propionata što dovodi do smanjenja omjera acetat/propionat te rezultira smanjenjem ukupnog i LDL kolesterola u krvi [52], važnih faktora rizika za razvoj koronarne bolesti srca. Također, inulin se smatra prebiotikom obzirom da stimulira rast bifidobakterija, a ograničava rast potencijalno patogenih bakterija kao što su *E. Coli*, *Salmonella* i *Listeria*. Porast broja bifidobakterija u debelom crijevu pomaže kod opstipacije i konstipacije. Inulin stimulira humani imunološki sustav, smanjuje rizik od osteoporoze povećavajući apsorpciju minerala, osobito kalcija, smanjuje rizik ateroskleroze smanjujući sintezu triglicerida i masnih kiselina u jetri, te smanjuje njihove razine u serumu. Također, utječe na razine inzulina i glukagona te tako regulira metabolizam

ugljikohidrata i lipida snižavajući razine glukoze u krvi. Inulin snižava i razine uree i mokraćne kiseline te time održava ravnotežu dušika, a ima i reduktivni učinak na učestalost raka kolona. Zahvaljujući velikom broju blagotvornih učinaka na zdravlje, inulin ima široku primjenu u konditorskoj industriji [53].

1.3.4. Izomalt

Izomalt se koristi kao zamjena za šećer obzirom na njegov okus i fizikalna svojstva slična saharozi. Strukturno je šećerni alkohol, mješavina poliola 1-O-α-D-glucopyranosil-D-manitola i 6-O-α-D-glucopyranosyl-D-sorbitola, a sintetizira se iz saharoze u dva koraka. Prvi je enzimatska transformacija u izomaltulozu koja se potom hidrogenira u izomalt. Izomalt je kristalinična supstancija bijele boje, bez mirisa i sadrži približno 5 % vode zaostale od kristalizacije. Danas se široko upotrebljava u konditorskoj industriji obzirom da je termostabilan, otporan na promjene pH u širokom rasponu i nije higroskopan, s tim da se kombinira s drugim sladilima (npr. sukralozom) kako bi se postigla slatkoća šećera [54]. Fiziološki je karakteriziran niskim sadržajem energije, nekariogenim i niskim glikemijskim učinkom. Izomalt se sporo i samo djelomično probavlja i apsorbira u tankom crijevu [55], te stiže u debelo crijevo gdje se fermentira crijevnom mikroflorom, odnosno posjeduje bifidogeni učinak. Kao takav smatra prebiotikom obzirom da doprinosi zdravlju crijevne flore i funkcije [56].

1.3.5. Podjela ugljikohidrata temeljena na fiziologiji

Podjela prehrambenih ugljikohidrata temeljena isključivo na kemiji ne dopušta jednostavan prijenos u nutritivne koristi obzirom da svaka glavna kemijska skupina ugljikohidrata ima različite preklapajuće fiziološke učinke čije poznavanje omogućava fokusiranje na potencijalne zdravstvene koristi ugljikohidrata, kao i poznavanje namirnica koje su sastavni dio zdrave prehrane. Imajući u vidu navedeno, uz zadržavanje osnovne kemijske identifikacije, moguće je ugljikohidrate podijeliti prema njihovim zdravstvenim i

fiziološkim učincima na kategorije kao što su prebiotici, rezistentni škrob, prehrambena vlakna i glikemijski ugljikohidrati [39].

Prebiotici su neprobavljivi sastojci hrane koji pozitivno djeluju na domaćina selektivno stimulirajući rast i /ili aktivnost jednog od ograničenog broja bakterija u kolonu čime se popravlja zdravlje domaćina. Da bi se određeni sastojak hrane klasificirao kao prebiotik ne smije se hidrolizirati ni apsorbirati u gornjem dijelu gastrointestinalnog sustava, te mora biti selektivni supstrat za jednu ili ograničeni broj komenzalnih bakterija u kolonu čime se stimulira njihov rast i/ili aktivira metabolizam. Time pozitivno mijenjaju floru kolona i potiču luminalne ili sistemske učinke blagotvorne za zdravlje domaćina [57].

Rezistentni škrob je zbroj škroba i produkata njegove digestije (kao što su maltoza, maltotrioza i dekstrini) koji se ne apsorbiraju u tankom crijevu. Sav nemodificirani škrob može se hidrolizirati α-amilazom gušterače s tim da su opseg i razina njegove razgradnje pod utjecajem brojnih fizikalnih i kemijskih značajki na osnovu čega se rezistentni škrob dijeli na četiri vrste [58]: RS I – fizički nedostupan škrob uglavnom prisutan u integralnim žitaricama, RS II – granule rezistentnog škroba (tip B), RS III – retrogradirani škrob (nakon procesuiranja hrane) i RS IV – modificirani škrobovi.

1.3.6. Prehrambena vlakna

1.3.6.1. Definicija prehrambenih vlakana

Prehrambena vlakna predstavljaju kombinaciju kemijski heterogenih tvari s različitim fizikalno-kemijskim i funkcionalnim svojstvima. Postoje različite definicije prehrambenih vlakana obzirom da su neke temeljene na učincima na humani gastrointestinalni sustav, a neke na analitičkim procedurama za njihovo određivanje. Iako pojam „prehrambena vlakna“ potječe još od sredine prošlog stoljeća, jedna od prvih danas prihvaćenih definicija glasi da se prehrambena vlakna sastoje od ostataka staničnih stijenki otpornih na hidrolizu probavnim enzimima čovjeka te uključuje hemicelulozu, celulozu, lignin, oligosaharide, pektine, gume i voskove [59].

AACC 2001. godine definira prehrambena vlakna kao jestive dijelove biljaka ili analogne ugljikohidrate otporne na probavu i apsorpciju u humanom tankom crijevu dok se potpuno ili djelomično fermentiraju u debelom crijevu. Uključuju polisaharide, oligosaharide, lignin i pridružene fitokomponente, te potiču pozitivne učinke na zdravlje uključujući laksaciju i/ili održavanje normalnih razina kolesterola i glukoze u krvi.

IOM 2002. godine definira prehrambena vlakna kao neprobavljive ugljikohidrate i lignin koji su sastavni dijelovi biljaka. Dodana vlakna su izolirani neprobavljivi ugljikohidrati koji posjeduju pozitivne fiziološke učinke na zdravlje čovjeka, dok ukupna vlakna predstavljaju zbroj prehrambenih i dodanih vlakana.

CODEX definira prehrambena vlakna kao ugljikohidratne polimere sa stupnjem polimerizacije tri i višim (čime se isključuju mono- i disaharidi), a koji se ne probavljaju niti apsorbiraju u tankom crijevu. Navedeno uključuje jestive ugljikohidratne polimere prirodno prisutne u namirnici, ugljikohidratne polimere koji se dobivaju iz prehrambenih sirovina fizikalnim, enzimatskim ili kemijskim postupcima, te jestive sintetičke ugljikohidratne polimere koji posjeduju pozitivni fiziološki učinak.

Važno je napomenuti da je svim definicijama zajednički pojam neprobavljivosti u tankom crijevu koja može varirati od osobe do osobe, a također je i pod utjecajem obrade i skladištenja namirnica, kao i mastikacije i prisutnosti drugih namirnica. Stoga ne postoji prikladna metoda za mjerenje navedene fiziološke frakcije u prehrani [39].

Obzirom da je mjerenje prehrambenih vlakana u hrani vrlo kompleksno i sama definicija prehrambenih vlakana je ovisna o korištenoj analitičkoj metodi. Tako se najčešće korišteni termin „ukupna prehrambena vlakna“ (*total dietary fibre* - TDF) odnosi na onu skupinu vlakana koja se određuju enzimatsko – gravimetrijskom metodom za određivanje ukupnih vlakana [60].

1.3.6.2. Struktura prehrambenih vlakana

Poznavanje kemizma i organizacije stanične stijenke biljaka je neophodno obzirom da je ona sastavni dio većine definicija prehrambenih vlakana, te čini glavni izvor protektivnih sastojaka u prehrani. Širok raspon biljne hrane konzumiran kao dio prehrane kod ljudi dovodi do značajnih varijacija u kemijskom sastavu prehrambenih vlakana,

obzirom da se građa staničnih stijenki različitih vrsta međusobno razlikuje prema svojim kemijskim i strukturalnim karakteristikama. Polisaharidi staničnih stijenki biljaka mogu se podijeliti na dvije osnovne grupe spojeva: celulozne i necelulozne polisaharide, a spomenuta podjela temelji se na razlikama u njihovoj topljivosti.

Celulozni polisaharidi stanične stijenke po svom su kemijskom sastavu β-1-4 D-glukani vrlo visokog stupnja polimerizacije (0.5 - 10^6 Da) i umrežene strukture. Netopljivi su u vodenim otapalima i otporni na hidrolizu u slabim (2 M) kiselinama, te se vrlo sporo hidroliziraju djelovanjem enzima.

Necelulozni polisaharidi su skupina spojeva koji iskazuju širok raspon topljivosti u vodi koje ovisi o stupnju polimerizacije i grananja. Tako su spojevi niske molekularne težine i visokog stupnja grananja topljiviji u vodi nego linearni polimeri visoke molekularne težine. Uglavnom su netopljivi u 80 %-tnom etanolu, a po svom kemijskom sastavu su heteropolisaharidi koji sadrže dva ili više tipova ugljikohidratnih jedinica, a često sadrže ili galakturonsku ili glukuronsku kiselinu. U tu skupinu spojeva ubrajaju se neke hemiceluloze (najčešće u žitaricama), galaktouronani i arabinogalaktani (koji su vodotopljivi i ubrajaju se u pektine), β-glukani (vodotopljivi su i nalaze se u mnogim žitaricama), arabinoksilani, ksiloglukani i galaktomanani.

U prehrambena vlakna ubrajaju se i lignini koji se ne svrstavaju ni u jednu od navedenih skupina, a sastavni su dio stanične stijenke većine biljaka. Obuhvaćaju širok spektar polimernih struktura, nastaju kondenzacijom fenolnih alkohola procesima neenzimatske oksidacije, te su iznimno otporni na kemijsku degradaciju.

U velikoj većini namirnica nalazi se i niz strukturalno sličnih polisaharida koji ne sudjeluju u građi stanične stijenke, a smatraju se prehrambenim vlaknima u širem smislu. Najčešći među njima su sluzi i gume, te fruktooligosaharidi, kao što su inulin i oligofruktoza. Inulin i oligofruktoza su heteropolimeri fruktoze koji se uglavnom dobivaju iz korijena cikorije (*Cichorium intybus*) ili sintetskim putem iz saharoze, a prisutni su i u velikom broju drugih biljnih vrsta (pšenica, češnjak, luk, banana) kao skladišni oblik ugljikohidrata. Međusobno se razlikuju po duljini lanca (inulin 2 – 60; oligufrukoza 2 –10), te stupnju polimerizacije (inulin 10 – 12; oligofruktoza 4) [61].

1.3.6.3. Protektivna važnost prehrambenih vlakana

Iako je u većini zemalja preporuka da dnevni unos prehrambenih vlakana bude 25–30 g dnevno (RDA određen za muškarce je 38, a za žene 25 g/dne) [62], on je uglavnom značajno niži te je u SAD-u prosječan dnevni unos 12 g [63], a u Irskoj 20.2 g [64]. Prema studiji iz 2003., prosječan unos prehrambenih vlakana istočnoj Hrvatskoj iznosi oko 30 g dnevno što je vrlo zadovoljavajuće obzirom na spomenute preporuke o dnevnom unosu [65].

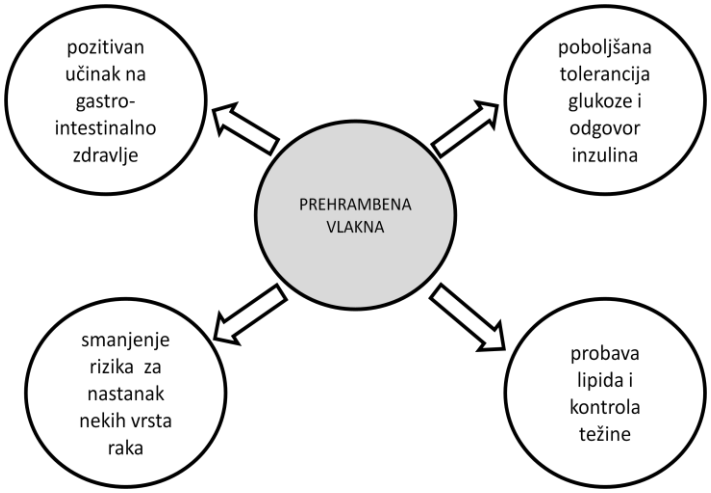
Prehrambena vlakna unesena hranom (slika 10), probavljaju se i kataboliziraju djelovanjem crijevne mikroflore, a produkti koji nastaju su kratkolančane organske kiseline; octena, propionska i butirična koje zadovoljavaju 50 – 75 % energetskih potreba mikroflore debelog crijeva.



Slika 10. Hrana obogaćena prehrambenim vlaknima [66]

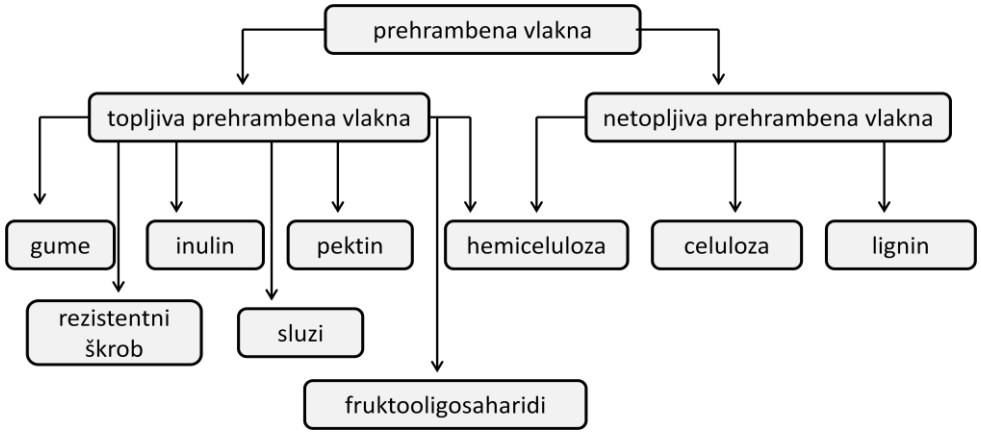
Fiziološke uloge prehrambenih vlakana (slika 11) ovise o njihovim kemijskim karakteristikama (slika 12). Najšire prihvaćena podjela prehrambenih vlakana je prema njihovoj topljivosti u puferu određenog pH i/ili njihovoj fermentabilnosti u *in vitro* sustavima koristeći vodenu otopinu humanih probavnih enzima. Tako se prehrambena

vlakna dijele na netopljiva u vodi/slabije fermentirajuća vlakna i vodotopljiva/dobro fermentirajuća vlakna.



Slika 11. Fiziološki učinci prehrambenih vlakana [66]

Topljiva vlakna (pektini, gume, fruktooligosaharidi i neke hemiceluloze) uglavnom usporavaju prolaz hrane kroz tanko crijevo, vjerojatno zbog svoje sposobnosti da tvore viskozne otopine, te usporavaju apsorpciju glukoze (snižavaju postprandijalne koncentracije glukoze i/ili inzulina u krvi) i snižavaju razinu ukupnog i/ili LDL kolesterola u krvi. Važni izvori topljivih vlakana u prehrani su voće, leguminoze, zob i ječam.



Slika 12. Podjela prehrambenih vlakana [66]

Netopljiva vlakna (celuloza, neke hemiceluloze i lignin) povećavaju fekalnu masu i motilitet crijeva čime ubrzavaju prolaz hrane kroz debelo crijevo. Glavni izvori netopljivih vlakana u prehrani su povrće, pšenica i većina namirnica na bazi žitarica.

Protektivni učinci redovitog unosa namirnica bogatih prehrambenim vlaknima dokazani su u brojnim znanstvenim istraživanjima [67, 68, 69]. Velik broj tih studija podržava stajalište da populacije s prehranom bogatom vlaknima imaju nižu incidenciju karcinoma kolona, te da je to oboljenje najčešće u zapadnim industrijaliziranim zemljama obzirom na način prehrane, vrlo često siromašne prehrambenim vlaknima i čestu konzumaciju tzv. „fast food“, odnosno „junk food“. Prehrambena vlakna mogu smanjiti rizik nastanka kolorektalnog raka povećavajući brzinu prolaska hrane kroz debelo crijevo, fermentacijom u debelom crijevu, te proizvodnjom visokih razina kratkolančanih masnih kiselina s antikancerogenim učinkom. Butirična kiselina i njezine soli mogu potaknuti diferencijaciju stanica, poticati apoptozu i/ili inhibirati stvaranje sekundarnih žučnih kiselina snižavajući luminalni pH. Također, porast viskoziteta smanjuje vrijeme kontakta među potencijalnim kancerogenima i mukoznim stanicama.

Utvrđeno je da umjereni ili viši unos prehrambenih vlakana smanjuje rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti snižavajući razine LDL kolesterola bez značajnog učinka na HDL kolesterol ili koncentracije triglicerida. Iako točni mehanizam djelovanja nije poznat, smatra se da vlakna interferiraju s metabolizmom lipida (proizvodnja kratkolančanih masnih kiselina, a posebno propionata smanjuje sintezu kolesterola) i/ili žučnih kiselina. Prehrambena vlakna interakcijom s lipazom ometaju njezinu aktivnost, a stvarajući zaštitnu membranu oko kapljica masti ometaju njezino vezanje. Također, mogu se vezati na žučne kiseline ometajući apsorpciju lipida i povećavajući njihovo izlučivanje. [66, 70].

Imajući u vidu da je viši unos prehrambenih vlakana povezan sa značajnim padom prevalencije dijabetesa, danas se sve više pažnje posvećuje korištenju prehrambenih vlakana, osobito topljivih (guar, psilium, inulin, β glukan i sl.), te ostalih složenih ugljikohidrata (rezistentni škrob) u regulaciji razina postprandijalne glukoze i inzulina u krvi [71, 72]. Smatra se da smanjenje razine glukoze u krvi nastaje uslijed stvaranja viskoznog gela što dovodi do usporavanja gastričnog pražnjenja. Također, u tankom

crijevu, gel mijenja probavne procese smanjujući difuziju nutrijenata za apsorpciju, kao i kontakt između hrane i probavnih enzima [66].

Nadalje, povišeni unos prehrambenih vlakana pokazao se povezanim s nižim razinama C-reaktivnog proteina, markera upale, ali i neovisnog prediktora buduće koronarne bolesti srca i dijabetesa [73]. Također, utvrđeno je da povećanje unosa prehrambenih vlakana (i topljivih i netopljivih) vezano uz povišeni osjećaj sitosti, odnosno posljedično smanjeni osjećaj gladi što dovodi do smanjenog energijskog unosa i smanjenja tjelesne težine [74].

Obzirom na brojne dokaze o važnosti prehrambenih vlakana u prehrani ljudi, posljednjih godina se razvijaju mnogi proizvodi bogati vlaknima, naročito u sklopu rastućeg tržišta funkcionalne hrane čiji su oni neizostavni dio.

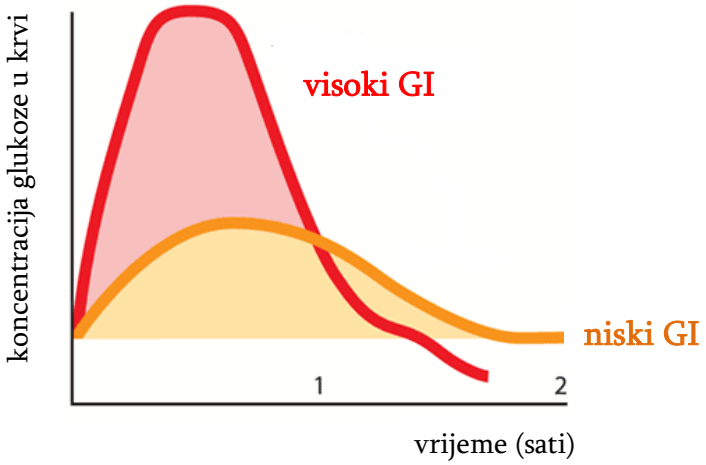
1.4. GLIKEMIJSKI INDEKS

Pojam glikemijskog indeksa (GI) uveden je kao sredstvo klasificiranja različitih izvora ugljikohidrata, odnosno hrane bogate ugljikohidratima prema njihovom učinku na postprandijalnu glikemiju [75]. GI se određuje *in vivo* mjerenjima zasnovanim na praćenju glikemijskog odgovora na hranu koja sadrži ugljikohidrate, te se prema njemu hrana rangira od 0 do 100 obzirom na brzinu razgradnje i apsorpcije ugljikohidrata koje sadrži. Ugljikohidrati niskog GI su oni koji se sporo probavljaju i apsorbiraju te dovode do niskog glikemijskog odgovora za razliku od ugljikohidrata visokog GI čija brza probava i apsorpcija rezultira visokim glikemijskim odgovorom. Vrijednosti glikemijskog indeksa nisu izravan odraz količine ugljikohidrata prisutne u hrani te hrana s niskim udjelom ugljikohidrata može imati visok GI.

1.4.1. Definicija glikemijskog indeksa i mehanizam djelovanja

GI je mjera koja označava brzinu i intenzitet povišenja razine glukoze u krvi nakon konzumiranja određene hrane, a definiran kao površina ispod krivulje (AUC) koju opisuje

odgovor glukoze nakon konzumacije ispitivane namirnice u količini koja sadrži 50 g dostupnih ugljikohidrata izražen kao postotak prema odgovoru jednake količine ugljikohidrata prisutne u standardnoj namirnici (najčešće glukoze) ispitivano na istoj osobi [40], odnosno GI = AUC (ispitivana namirnica)/AUC (standardna namirnica) x 100 (slika 13).



Slika 13. Površine ispod krivulje (AUC) koju opisuje odgovor glukoze nakon konzumacije namirnice visokog, odnosno niskog GI [76]

Prema Brand-Miller i Foster-Powell [77] hrana se može klasificirati prema svom glikemijskom učinku kao ona koja ima visok GI (≥ 70), srednji (56 – 69) i niski (≤ 55) u odnosu na standard (otopina glukoze, GI = 100). Smanjena razina apsorpcije glukoze nakon konzumacije ugljikohidratne hrane niskog GI dovodi do smanjenja postprandijalnog porasta intestinalnih hormona (npr. inkretina) i inzulina. Također, produžena apsorpcija ugljikohidrata dovodi do supresije slobodnih masnih kiselina i nižih koncentracija razina glukoze u krvi, te je stoga je porast postprandijalne glukoze u krvi snižen što rezultira i smanjenom površinom ispod krivulje koju ona opisuje.

1.4.2. Učinci prehrane s niskim GI

Ispitivanje učinaka prehrane s niskim GI na oboljelima od dijabetesa tipa I i tipa II pokazalo je poboljšanje u razini glikiranih proteina s tim da je učinak dokazan usprkos

širokom rasponu varijacija u glikemijskom indeksu kod testne i kontrolne skupine, kratkom vremenu trajanja istraživanja i ograničenom broju ispitanika [78, 79]. Jenkins i suradnici [80] su ispitivali učinak tradicionalne škrobne hrane niskog glikemijskog indeksa na smanjenje udjela lipida u krvi kod pacijenata s hiperlipidemijom te utvrdili smanjenje koncentracija LDL kolesterola i triglicerida, iako nije uočena značajna razlika u tjelesnoj masi. Također, ispitivanja [81] su pokazala negativnu korelaciju između glikemijskog indeksa i HDL kolesterola što ukazuje da prehrana niskog glikemijskog indeksa može održati razine HDL-a čime se postiže potencijalno pozitivan učinak na redukciju koronarne srčane bolesti. Liu i suradnici [82] utvrdili su negativan odnos između fatalnog i nefatalnog infarkta miokarda i glikemijskog indeksa s tim da je najznačajniji učinak utvrđen kod osoba tjelesne mase iznad prosječne što ukazuje da utjecaj prehrambenog glikemijskog indeksa ima posebnu važnost kod osoba s višim stupnjem inzulinske rezistencije.

Ispitujući utjecaj prehrane na pojavnost dijabetesa, Salmerón i suradnici [83] su utvrdili negativnu korelaciju između glikemijskog indeksa i rizika razvoja dijabetesa koji se pokazao značajnim nakon prilagodbe unosa vlakana, te zaključili da žitarice koje se konzumiraju trebaju biti što manje rafinirane u nastojanju smanjenja pojavnosti dijabetes melitusa neovisnog o inzulinu.

Namirnice niskog glikemijskog indeksa se povezuju i s prevencijom raka. Dodatno, inzulinska rezistencija i inzulinu slični faktori rasta uključeni su u tzv. tumore povezane s prehranom, kao što su tumori kolona, dojke i prostate. Dokazana je direktna povezanost između prehrambenog glikemijskog indeksa i rizika za razvoj kolorektalnog tumora [84]. Sjedilački način života povezan s visoko glikemijskom prehranom povećava rizik u odnosu na sjedilački način života s nisko glikemijskom prehranom ili aktivnim načinom života s visoko glikemijskom prehranom. Augustin i suradnici [85] dokazali su umjerenu povezanost između glikemijskog indeksa i raka dojke što ukazuje na moguću ulogu hiperinzulinemije, odnosno inzulinske rezistencije u razvoju te vrste tumora.

Smatra se da vrijednosti glikemijskog indeksa u prehrani imaju ulogu u odnosu između inzulinske rezistencije, stvaranja reaktivnih kisikovih spojeva, oštećenja tkiva i oslobađanja proupalnih citokina i proteina akutne faze koji predstavljaju markere kroničnih bolesti, naročito kronične bolesti srca. Utvrđeno je da postprandijalni rast

glukoze kod osoba oboljelih od dijabetesa tipa II dovodi do snižavanja serumskih antioksidansa, odnosno da hiperglikemija može imati važnu ulogu u stvaranju postprandijalnog oksidativnog stresa [86]. Navedeno ukazuje na moguću blagotvornu ulogu prehrane s niskim glikemijskim indeksom na smanjenje oksidativnog oštećenja.

Utvrđeno je i da obrok niskog GI može produžiti izdržljivost tijekom napornog vježbanja uslijed niže postprandijalne hiperglikemije i hiperinzulinemije, nižih razina laktata u serumu prije i tijekom vježbanja, te održavanju viših razina glukoze i slobodnih masnih kiselina tijekom kritičnih razdoblja vježbanja [87], dok su Benton i suradnici [88] utvrdili da obrok niskog GI (doručak) omogućava bolje kognitivne funkcije kasnije tijekom dana.

Obzirom na brojne prednosti prehrane s niskim glikemijskim indeksom u nekim zemljama prehrambene smjernice za osobe s dijabetes melitusom potiču konzumaciju niskoglikemijskih namirnica. Također, Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) je zaključila da je prehrana niskog GI vjerojatni faktor koji pomaže u smanjenju rizika od pretilosti i dijabetesa tipa 2 [89].

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Problematika predloženog doktorskog rada vrlo je aktualna obzirom na trendove u prehrambenoj industriji kao i preporuke nutricionista koji sve više ukazuju na preventivnu i protektivnu ulogu prehrane kod mnogih oboljenja. U suvremenom svijetu gdje dominira visoko prerađena i osiromašena hrana nastoji se kroz tzv. funkcionalne proizvode nadopuniti prehranu vrijednim nutrijentima. Funkcionalna hrana osim hranjive vrijednosti posjeduje i fiziološki aktivne sastojke koji povoljno utječu na zdravlje ljudi.

Kao predmet ovog istraživanja odabran je tvrdi keks, modifikacijom čije se recepture nastoji postići da ovaj vrlo popularan konditorski proizvod na bazi žitarica ima ne samo dobra nutritivna svojstva, već i dobra funkcionalna svojstva te time može konkurirati kao dobra funkcionalna namirnica. Na temelju najnovijih znanstvenih istraživanja o nutritivnoj važnosti integralnih sirovina različitog porijekla u klasičnu recepturu za tvrdi keks uklopljene su tradicionalne žitarice (integralno zobeno i ječmeno brašno), dok uvođenje pseudožitarica (integralno brašno heljde i amaranta) te leguminoza (brašno soje i rogača) predstavlja novi pristup u postizanju poboljšanih nutritivnih i protektivnih svojstava konačnog proizvoda. Predloženim modifikacijama nastoji se povećati udio prehrambenih vlakana, rezistentnog škroba i udio proteinske komponente, odnosno promijeniti glikemijske parametre što bi uz istovremeno smanjenje lipidne komponente, poboljšalo nutritivni sastav, snizilo kalorijsku (energijsku) vrijednost i snizilo glikemijski indeks, odnosno poboljšalo funkcionalna svojstva finalnog proizvoda.

Imajući u vidu da je pitanje funkcionalne hrane danas vrlo aktualna i znanstveno zanimljiva problematika, kao i preporuke eksperata (FAO/WHO) za konzumacijom hrane niskog GI, rezultati predloženog istraživanja značajno će doprinijeti saznanjima o mogućnosti stvaranja nutritivno obogaćenog i funkcionalno poboljšanog konditorskog proizvoda (koji se tradicionalno smatra nepoželjnom namirnicom u sklopu zdrave prehrane) pri čemu se poboljšana nutritivna i protektivna svojstva postižu upotrebom različitih kombinacija integralnih sirovina. S obzirom na ograničenost literaturnih podataka, rezultati predloženog istraživanja doprinijeti će objašnjenju utjecaja tehnološkog postupka (pečenja), kao i pojedinih specifičnih komponenti ovog tipa namirnica, kao što su udio proteina, prehrambenih vlakana i frakcija brzo i sporo probavljivih škrobova na vrijednost glikemijskog indeksa u nastojanju stvaranja konditorskog proizvoda povećane

nutritivne i protektivne vrijednosti, odnosno stvaranja kvalitetne i organoleptički prihvatljive funkcionalne hrane.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Uzorci

Za izradu preliminarnih i završnih uzoraka integralnog dijetalnog keksa korištene su slijedeće sirovine:

- pšenično bijelo brašno, T 500, Mlinar d.d., Hrvatska
- pšenično crno brašno, T 1700, Mlinar d.d , Hrvatska
- integralno pšenično brašno, Granolio d.d., Hrvatska
- integralno brašno zobi, Repro Eko, Hrvatska
- integralno brašno ječma, Repro Eko, Hrvatska
- integralno brašno heljde, DO-IT, Nizozemska
- integralno brašno amaranta, donacija privatnog proizvođača (prof. dr. sc. M. Jošt)
- punomasno brašno soje, Edel Soja, Njemačka
- mljeveno brašno rogača, Šafram d.o.o., Hrvatska
- jabučna prehrambena vlakna, AF 400-30, Vitacel, JRS Gmbh, Njemačka
- zobena prehrambena vlakna, HF 600, Vitacel, JRS Gmbh, Njemačka
- inulin, Raftilose Sinergy 1, Beneo-Orafti, Belgija
- hidrogenirana biljna mast, Zvijezda, Hrvatska
- mlijeko u prahu, obrano (1% m.m.), Lactoprot Gmbh, Njemačka
- aroma vanilije, Symrise Vertriebs Gmbh, Austrija
- izomalt, Beneo-Palatinit Gmbh, Njemačka
- sukraloza, Splenda, Velika Britanija

Svi uzorci keksa koji su korišteni tijekom ovog istraživanja izrađeni su u laboratorijskim uvjetima. Referentni (standardni) uzorak je pripremljen sa smjesom integralnog pšeničnog (T 1700) brašna i bijelog pšeničnog brašna (T 500), te korištenjem zamjene za šećer (izomalta) i umjetnog sladila (sukraloze). S obzirom na brojne znanstvene dokaze o nutritivnoj i protektivnoj važnosti konzumacije integralnih žitarica, integralno pšenično brašno predstavlja temelj recepture, a za izradu ostalih uzoraka određeni udio

bijelog pšeničnog brašna zamijenjen je različitim integralnim sirovinama ili čistim prehrambenim vlaknima. Integralne sirovine koje su korištene za izradu uzoraka su integralne žitarice (zobeno i ječmeno brašno), integralne pseudožitarice (brašno heljde i amaranta) i mahunarke (brašno rogača i soje), a čista prehrambena vlakna su zobena i jabučna vlakna. Sve recepture za izradu preliminarnih uzoraka sadrže točno 328 g biljne masti, 70 g obranog mlijeka u prahu, 20 g NH_4HCO_3 (sredstvo za rahljenje tijesta), 16 g soli, 2.4 g arome, te 300 g izomalta/šećera u prahu, a međusobno se razlikuju prema vrsti i omjerima korištenih vrsta brašna i čistih prehrambenih vlakana. Uzorak sa saharozom izrađen je da bi se odredio utjecaj reducirajućih šećera na promatrane parametre. Voda je dodana u svaki pojedini uzorak po potrebi, odnosno ovisno o korištenoj sirovini, a sva tijesta izrađena su korištenjem električnog mješača. Navedene razlike u recepturama su prikazane u tablici 3.

Tablica 3. Vrste integralnih sirovina/čistih prehrambenih vlakana i njihovi omjeri korišteni u izradi preliminarnih uzoraka

SASTAV PRELIMINARNIH UZORAKA					
	UZORAK	pšenično brašno (T1700)	pšenično brašno (T500)	integralna sirovina	prehrambena vlakna
		%			
1.	referentni uzorak	60	40	/	/
2.	uzorak sa šećerom	60	40	/	/
3.	sa zobenim brašnom	60	10	zobeno brašno (30%)	/
4.	s ječmenim brašnom	60	10	ječmeno brašno (30%)	/
5.	s heljdinim brašnom	60	10	heljdino brašno (30%)	/
6.	s brašnom amaranta	60	10	brašno amaranta (30%)	/
7.	sa sojinim brašnom	60	10	sojino brašno (30%)	/
8.	sa zobenim vlaknima	60	25	/	zobena vlakna (15%)
9.	s jabučnim vlaknima	60	25	/	jabučna vlakna (15%)

Ukupna količina suhe tvari zamjesa pojedinog preliminarnog uzorka keksa iznosila je 2008.4 g, od čega je polovica tijesta vakuumirana u polietilenske vrećice, te pohranjena na -15 °C. Druga polovica tijesta je laminirana na strojnom laminatoru do debljine 0.5 cm, nakon čega su ručno oblikovani keksi korištenjem kalupa promjera 4 cm koji su potom pečeni na 175 °C tijekom 17-20 min. Duljina pečenja keksa ovisila je o korištenoj sirovini i količini dodane vode. Nakon pečenja, keksi su ohlađeni, te su uzorci za organoleptička ispitivanja odvojeni za daljnju analizu, a ostatak je samljeven, prosijan do veličine čestica ≥0.4 mm, te pohranjen u plastične spremnike na 4 °C. Tijesta su sušena na zraku tijekom nekoliko dana, te potom samljevena, prosijana (≥ 0.4 mm) i pohranjena u plastične spremnike na 4 °C.

Na temelju rezultata preliminarnih istraživanja provedenih na poluproizvodu (tijesto) i na završnom proizvodu (keks), izabrane su i dodatno su modificirane preliminarne recepture i to značajnim smanjenjem udjela masti, smanjenjem udjela izomalta/šećera i dodatkom 10 % inulina. Tijesta za izradu završnih uzoraka pripremljena su sa točno 274 g biljne masti, 259 g inulina, 87 g obranog mlijeka u prahu, 20 g NH_4HCO_3 (sredstvo za rahljenje tijesta), 20 g soli, 7 g arome, 249 g izomalta/šećera u prahu, 0.3 g sukraloze, te vode po potrebi što ovisi o vrsti korištenog brašna. Ukupna količina suhe tvari zamjesa završnih uzoraka iznosila je 2500 g. Pripremljeno je sedam vrsta keksa od kojih je u četiri recepture po 30 % bijelog pšeničnog brašna zamijenjeno različitim integralnim brašnima, jedna receptura je pripremljena korištenjem šećera u prahu umjesto zamjena za šećer, a jedna je pripremljena bez inulina. U svakoj recepturi je mijenjan samo jedan sastojak kako bi se uočilo koja sirovina utječe na promjenu promatranog parametra. Navedene razlike u recepturama završnih uzoraka prikazane su u tablici 4. Tijesta su pripremana, a keksi pečeni i uskladišteni na jednak način kao i preliminarni uzorci s tim da su prije mljevenja odvojeni uzorci za organoleptička ispitivanja i određivanje glikemijskog indeksa.

Tablica 4. Vrste integralnih sirovina i njihovi omjeri korišteni u izradi završnih uzoraka

SASTAV ZAVRŠNIH UZORAKA					
	UZORAK	integralno pšenično brašno	pšenično brašno (T500)	integralna sirovina	inulin
		%			
1.	referentni uzorak	60	40	/	10
2.	uzorak sa šećerom	60	40	/	10
3.	s heljdinim brašnom	60	10	heljdino brašno (30%)	10
4.	s brašnom amaranta	60	10	brašno amaranta (30%)	10
5.	sa sojinim brašnom	60	10	sojino brašno (30%)	10
6.	s brašnom rogača	60	10	brašno rogača (30%)	10
7.	bez inulina	60	40	/	/

Svi uzorci (preliminarni i završni) su pripremani u tri serije s tim da se pojedina probna pečenja nisu provodila isti dan.

Integralne sirovine koje su korištene za izradu uzoraka odabrane su na temelju recentnih znanstvenih saznanja, kao i na temelju analiza korištenih sirovina i preliminarnih uzoraka. Obzirom na brojne dokaze o potrebi konzumiranja većih količina prehrambenih vlakana za izradu keksa odabrana su i čista zobena i jabučna prehrambena vlakna. Zobena vlakna su bogata netopljivom frakcijom prehrambenih vlakana koja ima laksativnu ulogu [90], ulogu u kontroli apetita [91], a bogata su i β-glukanom koji ima ulogu u snižavanju razine kolesterola u krvi [15], dok jabučna vlakna sadrže veći udio topljivih vlakana s brojnim pozitivnim učincima na ljudsko zdravlje (poglavlje 1.3.6.3.) te pridonose uravnoteženom unosu topljivih i netopljivih vlakana [92]. Obzirom da se u svrhu povećanja nutritivne vrijednosti proizvoda od pšeničnog brašna kao biljni izvori proteina mogu koristiti brašna leguminoza i drugih žitarica [93], za obogaćivanje referentne recepture u završnim uzorcima, obzirom na udio i kvalitetu proteina, odabrani su heljdino brašno, brašno amaranta, rogača i soje. Leguminoze (soja, rogač) su bogate

lizinom, limitirajućom aminokiselinom za pšenično brašno, kao i vlaknima, vitaminima i mineralima [94]. Brašno amaranta, osim visoke nutritivne kvalitete obzirom na udio proteina i aminokiselinski sastav, ima i pozitivan utjecaj na kvalitetu keksa kod supstitucije do 30 % pšeničnim brašnom [95]. Heljdino brašno je bogat izvor visokokvalitetnih proteina (visoki udjeli lizina i arginina), ali i prehrambenih vlakana i minerala, te sadrži i čitav niz protektivnih sastojaka kao što su flavonoidi, fenolne kiseline, tanini i fitosteroli [27]. Integralno zobeno i ječmeno brašno odabrani su kao žitarice bogate β-glukanom, topljivim vlaknom koji osim već spomenutog učinka na sniženje razine kolesterola, dovodi do sniženja postprandijalnih razina glukoze i inzulina u krvi [96], dok je rogač kao sirovina za izradu keksa odabran zbog dobrih organoleptičkih svojstava, visokog udjela prehrambenih vlakana i niskog udjela masti [97].

3.1.2. Instrumenti i uređaji

- Aparatura po Parnas-Wagner-u
- Jedinica za mikrovalno spaljivanje MLS-1200 Mega Microwave Processor, Milestone, Sorisole, Italija
- Jedinica za određivanje proteina:
  - destilacijska jedinica B-324, Büchi Kjeldahl sistem, Büchi Labortechnik AG, Glawil, Švicarska
  - jedinica za spaljivanje K-424, Büchi Kjeldahl sistem, Büchi Labortechnik AG, Glawil, Švicarska
- Laboratorijska centrifuga Centric 322A, Tehtnica, Železniki, Slovenija
- Laboratorijska peć, Over industrijska elektronika, Sv. Nedjelja, Hrvatska
- Laboratorijska vodena kupelj, Inko, Zagreb, Hrvatska
- Magnetska mješalica, Gilson Labstir, Middleton, SAD
- Mješalica za tijesto, Varimixer Bear, Woodshow & Co., Danska
- pH-metar s kombiniranom staklenom elektrodom, Metrohm, Herisau, Švicarska
- Soxhlet aparatura, Behr Labortechnik, Düsseldorf, Njemačka
- Termostat, Inko, Zagreb, Hrvatska

- Termostatirana kupelj s mućkalicom, T 1086, Gesellschaft für labortechnik, Burgwedel, Njemačka
- UV-VIS spektrofotometar UV 4-100, ATI Unicam, Cambridge, Velika Britanija
- Vorteks mješalica, VTY-3000L, Mixer UZUSIO, Tokio, Japan

3.1.3. Reagensi

- Aceton, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- α-amilaza, termostabilna, A-3306, Sigma, St Luis, SAD
- Amiloglukozidaza, A3042, Sigma, St Luis, SAD
- Amiloglukozidaza, A9913, Sigma, St Luis, SAD
- Bakrov (II) sulfat, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Benzojeva kiselina, Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Borna kiselina, Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Bromtimolplavo, indikator, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- BSA (bovine serum albumin), Sigma, St Luis, SAD
- CeliteTM, ispran kiselinom, C8656, Sigma, St Luis, SAD
- Etanol, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Glukoza, G7528, Sigma, St Luis, SAD
- GOD-PAP reagens, Dijagnostika, Sisak, Hrvatska
- Guar guma, Sigma, St Luis, SAD
- Invertaza, I4504, Sigma, St Luis, SAD
- Kalijev hidroksid, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Kalijev klorid, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Kloridna kiselina, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Metiloranž, indikator, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- 2-(N-morfolino)etansulfonska kiselina (MES), Sigma, St Luis, SAD
- Natrijev acetat trihidrat, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Natrijev hidroksid, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Natrijev karbonat, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska

- Octena kiselina, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Pankreatin (iz svinjskog pankreasa), P7545, Sigma, St Luis, SAD
- Pepsin (iz mukoze svinjskog želuca), P7000, Sigma, St Luis, SAD
- Petroleter, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Proteaza, P3910, Sigma, St Luis, SAD
- Sulfatna kiselina, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Stearinska kiselina pur., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Tablete za katalizu ($CuSO_4$ i K_2SO_4 (1:30)), Merck, Njemačka
- Taschirov indikator
- Trikloroctena kiselina, p.a., Sigma, St Luis, SAD
- Tris(hidroksimetil) aminometan (TRIS), Sigma, St Luis, SAD

3.1.4. Puferi

- Fosfatni pufer, 0.01 $molL^{-1}$, pH 8.14 pri 24 °C; 1.2 g NaH_2PO_4 otopi se u 900 mL destilirane vode, te titrira s jakom bazom do pH 8.14.
- MES/TRIS pufer, 0.05 $molL^{-1}$, pH 8.2 pri 24 °C; 19.52 g MES i 12.2 g TRIS se otopi u 1.7 L destilirane vode, pH se podesi na 8.2 pomoću 6 $molL^{-1}$ NaOH i nadopuni do 2 L s destiliranom vodom.
- Natrijev acetatni pufer, 0.1 $molL^{-1}$, pH 5.2; 13.6 g natrijevog acetata trihidrata otopi se u 250 mL zasićene otopine benzojeve kiseline i nadopuni do 1 L s destiliranom vodom. Pomoću 0.1 $molL^{-1}$ octene kiseline podesi se pH 5.2. Za stabilizaciju i aktivaciju enzima dodaje se 4 mL 1 $molL^{-1}$ $CaCl_2$ po litri pufera.
- Pufer otopina pH 4, Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Pufer otopina pH 7, Sigma, St Luis, SAD

3.1.5. Programski paketi

- GrafPad Prism ver 3.02, GrafPad Software, SAD
- Microsoft® Office Excel 2007, Microsoft, Seattle, WA, SAD
- Statistica ver. 7.0., Statsoft, Tulsa, OK, SAD

3.2. METODE

3.2.1. Određivanje proteina

3.2.1.2. Određivanje ukupnih proteina

Udio proteina u ispitivanim uzorcima određen je poluautomatskom metodom po Kjeldahl-u [98]. Metoda se temelji na razgradnji (digestiji) organske supstance pomoću koncentrirane sulfatne kiseline uz dodatak katalizatora i sredstva za povišenje vrelišta, pri čemu se cjelokupni organski vezan dušik prevodi u amonijev sulfat. Nakon neutralizacije, destilacijom oslobođeni amonijak određuje se titrimetrijski. Korištenjem faktora konverzije 6.25 [99] udio dušika se preračunava u udio proteina.

Točnost metode i opreme je provjerena analizom [100] tri referentne supstancije s poznatim udjelom dušika i to standardom amonijevog sulfata za utvrđivanje mogućeg gubitka dušika bilo tijekom digestije, bilo tijekom destilacije, te standardima aminokiselina za procjenu učinkovitosti digestije. Rezultati provjere su prikazani u tablici 5.

Tablica 5. Provjera točnosti metode za određivanje proteina

referentna supstanca	N teoretski g/100 g	N utvrđen g/100 g	recovery (%)	$\bar{x}$
amonijev sulfat	21.20	21.42 ± 0.34	101.04	
L-lizin hidroklorid	15.34	15.04 ± 0.67	98.04	99.50
L-triptofan	13.72	13.64 ± 0.39	99.42	

3.2.1.2. Određivanje probavljivosti proteina

Obzirom da se promjenom (obogaćivanjem) referentne recepture nastojala poboljšati nutritivna vrijednost keksa, osim ukupnog udjela proteina određen je i udio probavljivih proteina *in vitro* enzimatskom metodom. Kumagai i suradnici [101] modificirali su metodu po Akeson i Stahman-u [102] kojom je simulirana gastrointestinalna digestija. Metoda se temelji na određivanju proteinske frakcije

raspoložive nakon inkubacije uzorka s umjetnim želučanim sokom (10 mg pepsina otopi se u 20 mL 0.05 molL^{-1} HCl) pri pH 2 i temperaturi 37 °C tijekom 2 sata, nakon čega se vrši neutralizacija uzorka i daljnja inkubacija s umjetnim crijevnim sokom (50 mg pankreatina otopi u 20 ml 0.01 molL^{-1} fosfatnog pufera) pri pH 8.1 i temperaturi 37 °C tijekom iduća 22 sata. Volumen lužine korištene za neutralizaciju potrebno je uzeti u obzir za izračun ukupnog volumena reakcijske smjese. Također, paralelno se vrši inkubacija pod istim uvjetima bez prisutnosti uzorka u svrhu dobivanja slijepe probe. Nakon inkubacija, enzimska reakcija se zaustavlja dodatkom 10 % trikloroctene kiseline (w/v u omjeru 1:1), uzorak centrifugira, supernatant odvoji, te u alikvotnom dijelu odredi udio probavljivih proteina mikro Kjeldahl [103] metodom.

Probavljivost proteina računa se pomoću formule:

probavljivost (%) = [N (supernatant) – N (slijepa proba)] / N (ukupni) x 100

3.2.2. Određivanje masti

Za određivanje udjela masti korištena je metoda po Soxhlet-u [104] koja se temelji na kontinuiranoj ekstrakciji masne komponente iz uzorka pomoću petroletera. Ekstrakcija se odvija u zatvorenom sustavu što omogućava kontinuirano isparavanje i kondenziranje otapala što povećava učinkovitost ekstrakcije masnih komponenata iz uzorka. Ekstrakcija traje nekoliko sati ovisno o udjelu masti i vrsti uzorka.

3.2.3. Određivanje pepela

Pepeo kao anorganski (mineralni) ostatak određen je metodom suhog spaljivanja [105]. Uzorci su spaljivani pri nižoj temperaturi na otvorenom plamenu nakon čega je žarenje nastavljeno u mufolnoj peći na 525 °C do pojave homogene boje pepela (bijele do

sive boje). Po potrebi vrši se vlaženje uzorka destiliranom vodom (zaostajanje karboniziranih čestica), te nastavlja žarenje do konstantne mase.

3.2.4. Određivanje vlage

Određivanje udjela vode (vlage) u uzorcima potrebno je da bi se rezultati određivanja različitih komponenti mogli iskazati na jedinstvenoj osnovi tj. na suhu tvar uzorka. Određivanje vode sušenjem temelji se na zagrijavanju uzorka (sušenju) do konstantne mase pri 105 °C što je dugotrajan postupak koji može trajati i nekoliko dana, te je za određivanje vlage u ispitivanim uzorcima korištena metoda sušenja pri 130 °C tijekom 1 sata [106] obzirom da je dokazano da daje iste rezultate kao i klasična termogravimetrijska metoda [107].

3.2.5. Određivanje prehrambenih vlakana

Udio topljivih i netopljivih prehrambenih vlakana određen je prema AOAC enzimatsko-gravimetrijskoj metodi [108] korištenjem MES/TRIS pufera. Metoda se temelji na enzimatskoj inkubaciji uzorka simulirajući fiziološke uvjete, nakon čega se za određivanje netopljivih prehrambenih vlakana enzimski digest filtrira bez dodatka etanola, a talog ispire, suši i važe, dok se udio topljivih prehrambenih vlakana određuje dodatkom apsolutnog etanola u filtrat, čime se topljiva vlakna talože i gravimetrijski određuju nakon filtracije. Udio ukupnih prehrambenih vlakana predstavlja suma udjela netopljivih i topljivih prehrambenih vlakana.

Priprema uzoraka:

Obzirom da istraživani keksi sadrže više od 10 % masti, uzorci se odmašćuju ekstrakcijom s petroleterom (Soxhlet metodom), suše na zraku i pohranjuju u plastične spremnike na +4 °C prije analize.

Priprema sinter lijevaka:

Za određivanje prehrambenih vlakana se koriste sinter lijevci poroziteta 2. Prije svake analize lijevci se žare u mufolnoj peći na 525 °C tijekom najmanje 12 sati, potom namaču u otopini za čišćenje jedan sat, ispiru vodovodnom i destiliranom vodom, a zatim ispiru s 15 mL acetona. Nakon sušenja na zraku, u svaki pojedini lijevak važe se oko 1 g Celita koji se potom suše na 130 °C tijekom 12 sati. Lijevci se hlade u eksikatoru kroz 1 sat i važu s točnošću ± 0.1 mg.

a) Određivanje netopljivih vlakana

Homogenizirani odmašćeni uzorci dispergiraju se u MES/TRIS puferu nakon čega se vrši inkubacija s enzimima u termostatiranoj mućkalici (100 oscilacija u minuti). Prva inkubacija se vrši s termostabilnom α-amilazom pri 95 °C (15 min), nakon čega se uzorak ohladi na 60 °C i nastavlja inkubacija s proteazom tijekom idućih 30 min. Reakcija se prekida dodatkom 5 mL 0.561 $molL^{-1}$ HCl, te podešava pH (4.0 – 4.7) pomoću 1 $molL^{-1}$ HCl ili 1 $molL^{-1}$ NaOH pri 60 °C. Potom slijedi inkubacija s amiloglikozidazom tijekom idućih 30 min. na 60 °C s tim da vrijeme svake inkubacije počinje teći kada se postigne željena temperatura u reakcijskoj posudi. Nakon inkubacija s enzimima uzorci se filtriraju pomoću prethodno pripremljenih i izvaganih sinter lijevaka, te ispiru redom dva puta sa 15 mL destilirane vode prethodno zagrijane na 70 °C, 78 % etanolom, 95 % etanolom, te acetonom. Nakon kraćeg sušenja na zraku u svrhu hlapljenja acetona, lijevci se suše na 105 °C tijekom noći, hlade u eksikatoru i važu. Gravimetrijski dobiveni udio netopljivih vlakana predstavlja sirova vlakna u kojima se dalje određuje udio proteina mikro Kjelhahl metodom (faktor konverzije dušika u protein iznosi 6.25), kao i udio pepela. Udio čistih netopljivih vlakana dobije se korekcijom vrijednosti udjela sirovih netopljivih vlakana s udjelima proteina i pepela koje sadrže.

b) Određivanje topljivih vlakana

Postupak određivanja topljivih vlakana nadovezuje se na određivanje netopljivih vlakana tako da se dobiveni filtrat nakon ispiranja sa zagrijanom destiliranom vodom odvoji, izmjeri mu se volumen i u njega doda četiri volumena 95 % etanola prethodno zagrijanog na 60 °C. Tijekom jednog sata na sobnoj temperaturi dolazi do taloženja

topljivih prehrambenih vlakana, nakon čega se uzorci filtriraju pomoću prethodno pripremljenih i izvaganih sinter lijevaka i njihov udio odredi gravimetrijski na jednak način kao kod određivanja netopljivih prehrambenih vlakana. Udio čistih topljivih vlakana dobije se tako se udio sirovih vlakana umanji za udjele proteina i pepela koji se posebno određuju u prethodno izvaganom talogu.

Određivanje udjela netopljivih/topljivih prehrambenih vlakana računa se prema formuli:

$$DFn = [Mr - (Mp + Ma)] / M \times 100$$

DFn = udio netopljivih (topljivih) prehrambenih vlakana; Mr = masa ostatka nakon filtriranja; Mp = masa proteina u ostatku; Ma = masa pepela u ostatku; M = masa uzorka

3.2.6. Određivanje dostupnih ugljikohidrata

Dostupni ugljikohidrati (DUH) su određeni prema FAO [99] metodom razlike, što podrazumijeva da su ostali makronutritivni sastojci određeni direktnim metodama. Zbroj udjela proteina, masti, pepela, vlage, ukupnih prehrambenih vlakana i šećernog alkohola (izomalta) u 100 g namirnice te oduzimanje dobivene vrijednosti od 100 predstavlja udio dostupnih ugljikohidrata.

3.2.7. Određivanje *in vitro* probavljivosti škroba

Različite frakcije škrobova određene su metodom koja se temelji na kontroliranoj enzimskoj hidrolizi [51] i mjerenjem pritom otpuštene glukoze pomoću glukoza oksidaza/peroksidaza testa. Frakcije brzo probavljivog škroba (RDS) i sporo probavljivog škroba (SDS) mjerene su nakon inkubacije s pankreasnom amilazom i amiloglukozidazom pri 37 °C nakon 20 min (G_{20}) i 120 min (G_{120}). Rezistentni škrob (RS) je škrob koji se ne hidrolizira nakon 120 minuta inkubacije, a ukupni škrob je određen kao glukoza koja je

otpuštena enzimskom hidrolizom nakon želatinizacije škroba u vrućoj vodi i razgradnje retrogradirane amiloze sa 7 $molL^{-1}$ KOH s tim da je njegov udio korigiran za udio slobodne glukoze, ali uključuje maltozu i maltodekstrine.

Priprema enzimske otopine (za 10 uzoraka, priprema neposredno prije upotrebe):

Amiloglukozidaza (73 μg) se razrijeđuje s destiliranom vodom do 6 mL za dobivanje koncentracije 140 U/mL. Pankreatin (2 x 3.0 g) se suspendira sa po 33.33 mL destilirane vode i miješa s magnetnim mješačem 10 min nakon čega se idućih 10 min centrifugira na 1500 g. Invertaza se razrijeđuje s Na-acetatnim puferom u svrhu dobivanja koncentracije 3000 U/mL. Za pripremu enzimske otopine pipetira se i promiješa 2 x 22.5 mL supernatanta suspenzije pankreatina, 5 mL razrijeđene amiloglukozidaze i 3.33 mL invertaze.

Priprema standarda glukoze:

5.0 g (± 0.001) glukoze prethodno osušene do konstantne mase razrjeđuje se s 200 mL Na-acetatnog pufera čime se dobije koncentracija 25 mg/mL.

Mjerenje glukoze:

Pipetira se po 250 μL uzorka, slijepe probe, odnosno standarda u obilježene epruvete, doda 5 mL GOD-PAP reagensa, promiješa i inkubira u vodenoj kupelji na 37 °C kroz 20 minuta. Apsorbancija standarda i uzoraka mjeri se prema slijepoj probi na 510 nm, te računa udio glukoze prema formuli:

$$\% \text{ glukoze} = At \times Vt \times C \times D / As \times Wt \times 100$$

At = apsorbancija ispitivane otopine; Vt = ukupni volumen ispitivane otopine;
C = koncentracija standarda (mg/mL glukoze); As = apsorbancija standarda; Wt = masa uzorka (mg) uzeta za analizu; D = faktor razrjeđenja

a) Određivanje udjela slobodne glukoze (FG)

Kod određivanja udjela slobodne glukoze važe se 0.8 g (± 0.001) uzorka u Falcon epruvete od 50 mL i doda po 5 staklenih kuglica promjera 1 cm u svaku. Slijepa proba koja sadrži staklene kuglice i acetatni pufer potrebna je u svrhu korekcije za udio glukoze prisutne u otopini amiloglukozidaze. U dvije dodatne Falcon epruvete sa staklenim kuglicama pipetira se standard glukoze. Sve epruvete tretiraju se jednako nakon dodatka Na-acetatnog pufera i snažnog vorteksiranja radi razgradnje velikih čestica. U prvom koraku se epruvete tijekom 30 min drže u vodenoj kupelji na 100 °C i povremeno promiješaju da bi se spriječila agregacija, nakon čega se hlade, dodaje 0.2 mL invertaze (3000 U/mL) i epruvete potom urone horizontalno u termostatiranu mućkalicu na 37 °C (160 oscilacija u minuti) tijekom 30 min. Potom se 1 mL sadržaja pipetira u novu epruvetu koja sadrži 2 mL apsolutnog etanola, vorteksira i centrifugira na 1500 g. Kod uzoraka se 1 mL supernatanta razrijeđuje s 5 mL, a kod standarda s 20 mL destilirane vode.

Mjeri se slobodna glukoza koja uključuje i glukozu koja potječe iz saharoze prema slijedećim parametrima:

Vt = 25.2 + 1 mL/g originalnog uzorka; C = 0.394; D = 18

b) Određivanje udjela brzo (RDS) i sporo (SDS) probavljivih škrobova

Za određivanje frakcija brzo i sporo probavljivih škrobova važe se 0.8 g (±0.1 mg) uzorka u Falcon epruvete, te doda po 50 mg guar gume i 5 staklenih kuglica u svaku. Pipetira se 20 mL Na-acetatnog pufera u svaku epruvetu, uključujući i slijepu probu koja ne sadrži uzorak (korekcija za udio glukoze prisutne u otopini amiloglukozidaze). U dvije dodatne Falcon epruvete koje sadrže guar gumu i kuglice pipetira se 20 mL standarda glukoze. Dalje se sve epruvete tretiraju jednako. Nakon ekvilibriranja na 37 °C, u svaku epruvetu se doda po 5 mL enzimske otopine u razmaku od 1 minute (važno zbog točnosti mjerenja) koja se potom uroni u termostatiranu mućkalicu (160 oscilacija u minuti). Nakon 20 min (G_{20}), ne prekidajući mućkanje, ukloni se po 0.5 mL hidrolizata u označene epruvete koje sadrže 20 mL 66 % - tnog etanola, a postupak se ponovi nakon idućih 100 min (G_{120}) nakon čega se pristupa postupku određivanja ukupne glukoze (TG). Falcon

epruvete koje sadrže hidrolizat u etanolu se zatim centrifugiraju (1500 g), te u njima odredi udio glukoze prema slijedećim parametrima i ranije navedenoj formuli:

Vt = 25+ 1 mL/g originalnog uzorka; C = 20; D = 1

c) Određivanje ukupne glukoze (TG)

Određivanje ukupne glukoze odvija se u nastavku na prethodni korak nakon 120 minutne inkubacije s enzimskom otopinom i vorteksiranja u svrhu razbijanja krupnih čestica. Dodatkom termostabilne α-amilaze i kuhanjem tijekom 30 min dolazi do daljnje razgradnje škroba. Epruvete se potom ohlade u ledu, vorteksiraju, doda 9.9 mL 7 $molL^{-1}$ KOH i inkubiraju u mućkalici (100 oscilacija u minuti) na 0 °C (uz led) tijekom 30 minuta. Nakon uklanjanja uzoraka s leda, pipetira se po 1 ml sadržaja u Falcon epruvete koje sadrže 10 ml 0.5 $molL^{-1}$ octene kiseline, te im se potom doda 0.2 mL razrijeđene amiloglukozidaze (50 U/L) i inkubiraju 30 min na 70 °C. Epruvete se potom prebace u kipuću vodu na 10 min., ohlade na sobnu temperaturu, razrijede s 40 mL destilirane vode i centrifugiraju 10 min pri 1500 g. Udio ukupne glukoze se računa prema slijedećim parametrima i ranije navedenoj formuli.

Vt = 35.4 + 1 mL/g originalnog uzorka; C = 14.12; D = 1

Za izračun RDS (udio brzo probavljivog škroba), SDS (udio sporo probavljivog škroba), TS (udio ukupnog škroba), i RS (udio rezistentnog škroba) koriste se slijedeće formule:

$RDS = (G_{20} - FG) \times 0.9$

$SDS = (G_{120} - G_{20}) \times 0.9$

$TS = (TG - FG) \times 0.9$

$RS = (TG - G_{120}) \times 0.9$

3.2.8. Određivanje glikemijskog indeksa

Imajući u vidu da je spoznaja o vrijednosti glikemijskog indeksa, koji označava brzinu i intenzitet povišenja razine glukoze u krvi nakon konzumiranja određene namirnice od velike važnosti u planiranju prehrane s ciljem reguliranja razine glukoze u krvi (poglavlje 1.4), ispitan je utjecaj sirovinskoga sastava keksa na glikemijski indeks. Mjerenje razine glukoze u krvi u svrhu određivanja glikemijskog indeksa ispitivanih uzoraka keksa vršeno je u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu.

a) sudionici

Određivanje glikemijskog indeksa (GI) istraživanih keksa provedeno je sa deset zdravih dobrovoljaca oba spola, 5 muškaraca i 5 žena, starosti između 21 i 43 godine (tablica 6) koji su nepušači i nemaju šećernu bolest (diabetes mellitus) što je utvrđeno anketnim upitnikom. Deset (ispitanika) je brojka koja prema Brouns-u i suradnicima [109] osigurava razuman stupanj snage i preciznosti za većinu namjena mjerenja GI. Svi ispitanici (dobrovoljci) su prije uključenja u istraživanje potpisali informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju, nakon što im je dan detaljan opis tijeka istraživanja, te omogućeno postavljanje pitanja u svrhu pojašnjenja eventualnih nejasnoća. Od dobrovoljaca je traženo da ostanu na uobičajenoj prehrani uz izbjegavanje alkoholnih i kofeinskih napitaka, kao i suzdržavanje od težih fizičkih aktivnosti dan prije i tijekom izvođenja testa.

Tablica 6. Antropometrijske karakteristike dobrovoljaca (srednja vrijednost ± standardna devijacija)

	muškarci (n = 5)	žene (n = 5)
starost (godine)	30.8 ± 7.6 (24 – 43)*	27.2 ± 4.2 (21 – 32)*
visina (cm)	183.4 ± 5.7 (176 – 191)*	168.6 ± 5.9 (162 – 178)*
težina (kg)	80.6 ± 5.6 (75 – 89)*	59.8 ± 6.4 (53 – 66)*
BMI (kg/m^2)**	23.7 ± 0.6 (22.8 – 24.4)*	21.0 ± 1.6 (19.2 – 23.4)*

* raspon

** indeks tjelesne mase = težina (kg)/visina $(m)^2$

b) tijek istraživanja

Tijek istraživanja kreiran je prema preporukama koje su opisali Wolever i suradnici [110], te Brouns i suradnici [109]. Svaki ispitanik je testirao sedam različitih vrsta keksa, kao i referentnu otopinu šećera koja je testirana dva puta. Testiranja su izvedena tijekom prijepodneva jedan dan u tjednu kroz devet tjedana, a dvanaest sati prije izvođenja testa (tijekom noći) ispitanici nisu smjeli ni jesti ni piti. Svaki ispitanik je dobio porciju keksa (približno 85 g, odnosno količinu koja sadrži 50 g raspoloživih ugljikohidrata) koju je bilo potrebno pojesti tijekom 10 minuta uz 250 mL vode. Nakon unosa istraživanog keksa, koncentracija glukoze u kapilarnoj krvi određivana je glukometrom (Contour TS, Bayer, Njemačka) čija je točnost provjerena korištenjem test otopina (Contour TS control solutions, Bayer, Njemačka) niske, normalne i visoke koncentracije glukoze. Krv je vađena u vremenima 0, 15, 30, 45, 60, 90 i 120 minuta nakon unosa istraživanog keksa, s tim da se vrijeme 0 minuta računalo od trenutka stavljanja prvog zalogaja u usta. Referentna otopina šećera pripremljena je otapanjem 50 g čiste glukoze u 250 mL vode, a određivanje razine glukoze u krvi bilo je identično onom kao kod ispitivanja keksa.

c) izračun i statistička analiza

Površina ispod krivulje (iAUC) koja opisuje odgovor glukoze nakon konzumiranja ispitivane namirnice (zanemarujući površinu ispod bazne linije) izračunata je geometrijski [40] pomoću GraphPad.Prism 5.01. (GraphPad Software Inc, San Diego, CA). Glikemijski indeks je izračunat kao omjer između srednje vrijednosti iAUC za ispitivani keks i srednje vrijednosti iAUC referentne otopine šećera.

Ovo istraživanje odobrilo je Etičko povjerenstvo Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu, kao i Povjerenstvo za etičnost eksperimentalnog rada Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

3.2.9. Organoleptička ispitivanja

Organoleptička analiza uzoraka provedena je metodom bodovanja [111] od strane stručne komisije koja se temelji na jasnom definiranju faktora kvalitete za određeni proizvod (tablica 9). Četiri ispitivana parametra (vanjski izgled keksa, miris, struktura i okus) ocjenjena su ocjenama od 1 do 5 tako da najveća ocjena (5) odgovara zadovoljenju svih traženih karakteristika. Obzirom da ispitivani parametri ne doprinose jednako ukupnoj prihvatljivosti (niži utjecaj za izgled i miris keksa, a viši za strukturu i okus), svakom ispitivanom parametru se dodjeljuju ponderirani bodovi (umnožak ocjene s faktorom važnosti) čiji zbroj daje ukupnu prihvatljivost (tablice 7 i 8).

Tablica 7. Parametri organoleptičke kvalitete (prikaz ocjena kao ponderiranih bodova)

Parametri organoleptičke kvalitete	Ocjene	Faktor važnosti	Maksimalni mogući bodovi (ponderirani)
Vanjski izgled	1…..5	0.8	4.0
Miris	1…..5	0.3	1.5
Struktura	1…..5	1.4	7.0
Okus	1…..5	1.5	7.5

Tablica 8. Prikaz rezultata (ponderirani bodovi iskazani kao ukupna prihvatljivost)

Ponderirani bodovi	Ukupna prihvatljivost
17.6 – 20.0	odlična
15.2 – 17.5	vrlo dobra
13.2 – 15.1	dobra
11.2 – 13.1	još prihvatljiva
< 11.5	neprihvatljiva

Tablica 9. Metoda bodovanja za kekse (definiranje faktora kvalitete)

Ocjena	Opis zahtjeva
	vanjski izgled (površina, oblik i veličina)
5	površina izrazite gravure s ravnomjernim posipom; dna ravna čista, cijela; boja površine i sredine ujednačena i svojstvena
4	neznatno izmijenjena površina, oblik i veličina; neznatna odstupanja u nijansi i ujednačenosti boje površine i sredine
3	površina keksa mjestimično bez gravure; dna s mjestimičnim udubljenjima; posip neravnomjeran
2	površina razlivena, neizražene gravure ili nazubljenja, ispucala; dna s većim udubljenjima; veća neujednačenost boje
1	površina jako deformirana, izlomljena, oštećena, pregorena, sa znatnim udubljenjima; površina nečista; vidljive mrlje
	miris
5	svojstven, utvrđenog intenziteta, ugodno aromatičan
4	svojstven, neznatno slabije ili jače aromatičan
3	još karakterističan, preslabo izražen ili prejakog intenziteta
2	nije svojstven, slabo izražen, stran
1	stran, po zagorenom, star, kiseo, pljesnjiv
	struktura
5	svojstvena proizvodu, fino porozna, oblik i raspored šupljinica karakterističan za vrstu keksa, fino prhka struktura, topi se u ustima
4	neznatno odstupanje veličine i oblika šupljinica, neznatno slabija prhkoća i topljivost
3	nešto grublja struktura, raspored i veličina šupljjinica neujednačena, struktura zbijena ili preporozna, keks je manje prhak, više mrvičast, sporije se topi u ustima
2	struktura nepravilna, znatno zbijenija ili znatno porozna, keks je tvrd, vrlo spora topljivost u ustima
1	vrlo zbijena ili grubo mrvičasta struktura, gotovo nikakva topljivost u ustima
	okus
5	svojstven proizvodu, zaokružen, fino aromatičan
4	svojstven proizvodu, aromatičan
3	još svojstven, slabije aromatičan, manje zaokružen
2	nije svojstven, bezizražajan, prodoran
1	strani okus, gorak, po vlazi, star, pljesnjiv

3.2.10. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka provedena je odvojeno u preliminarnim i završnim uzorcima. Istraživanjem su obuhvaćene tri serije uzoraka u svrhu dobivanja reprezentativnih rezultata. Ovisno o korištenoj metodi, unutar svake pojedine serije, sve kemijske analize vršene su u triplikatu ili četveroplikatu, a rezultati su iskazani kao srednje vrijednosti pojedinih mjerenja. Ukoliko nema statistički značajnih razlika ($P \geq 0.05$) unutar serija za pojedini ispitivani parametar, konačni rezultati su iskazani kao srednje vrijednosti sve tri analizirane serije uzoraka.

Utvrđeno je da dobiveni podaci (rezultati analiza za pojedini istraživani parametar) pripadaju normalnoj razdiobi analizom normalnosti raspodjele Kolmogorov-Smirnovljevim testom, stoga su za analizu i interpretaciju rezultata korišteni standardni parametrijski testovi. Tablični rezultati prikazani su aritmetičkom sredinom ± standardna devijacija, a međusobno su uspoređivani korištenjem studentovog t-testa ili jednosmjerne analize varijance (ANOVA). U slučaju statistički značajnog rezultata ($P \leq 0.05$) korišten je Bonferroni *post hoc* test (test multiple usporedbe). Za utvrđivanje povezanosti među pojedinim varijablama korištena je Pearsonova korelacija koja je interpretirana kao značajna u slučaju koeficijenta smjera $r \geq 0.600$, a Pearsonov koeficijent korelacije $p \leq 0.05$.

4. REZULTATI

4.1. REZULTATI PRELIMINARNIH ISTRAŽIVANJA

Preliminarna ispitivanja su provedena na devet vrsta eksperimentalno pripremljenih uzoraka tijesta i keksa u tri serije u svrhu ispitivanja utjecaja promjene sirovinskoga sastava, kao i utjecaja tehnološkog postupka (pečenja) na istraživane parametre. Ispitana je makronutritivna kvaliteta keksa i to određivanjem udjela proteina, masti, pepela, prehrambenih vlakana i vlage. *In vitro* probavljivost škroba je određena u nastojanju da se modifikacijom referentne recepture djeluje na stupanj hidrolize škroba, te time i na glikemijski indeks keksa. Organoleptička analiza je provedena u svrhu procjene organoleptičkih karakteristika (prihvatljivosti) za ispitivane uzorke obzirom na modifikaciju sirovinskoga sastava.

4.1.1. Makronutritivni sastav preliminarnih uzoraka

4.1.1.1. Udio proteina preliminarnih uzoraka

Rezultati određivanja udjela ukupnih proteina u ispitivanim uzorcima tijesta i keksa prikazani su u tablici 10. Rezultati su prikazani za tri analizirane serije uzoraka, a svaka vrijednost izražena je kao srednja vrijednost tri paralelna određivanja svake pojedine serije ± standardna devijacija. Udio proteina kretao se, ovisno o analiziranoj seriji, od 7.83 g/100 g suhe tvari u uzorku pripremljenom sa zobenim vlaknima do 14.72 g/100 g suhe tvari u uzorku pripremljenim s punomasnim sojinim brašnom. Analiza rezultata pokazala je da promjena recepture značajno utječe na udio proteina u završnom proizvodu kod svih uzoraka osim onog pripremljenog sa šećerom. Značajno povećanje udjela proteina, u odnosu na referentnu recepturu, ostvareno je dodatkom zobenog, ječmenog, heljdinog brašna ili brašna amaranta, a dodatkom brašna soje postignuto je najviše povećanje udjela proteina od 51.55 %. Dodatak prehrambenih vlakana u referentnu recepturu rezultirao je smanjenjem udjela proteina za prosječno 10 % (uzorak s jabučnim vlaknima), odnosno prosječno 18 % (uzorak sa zobenim vlaknima). Usporedbom podataka o udjelu proteina u uzorcima tijesta i pripadajućih keksa vidljivo je da tehnološkom obradom tijesta

(pečenjem) dolazi do razgradnje proteina u svim uzorcima, međutim, navedeno smanjenje udjela proteina nije statistički značajno.

Tablica 10. Udio proteina u preliminarnim uzorcima

uzorak	tehnološka faza	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$ *
		g/100 g suhe tvari			
referentni uzorak	tijesto	9.99 ± 0.05	9.90 ± 0.24	9.76 ± 0.04	9.88 ± 0.12^{a}
	keks	9.78 ± 0.09	9.72 ± 0.02	9.53 ± 0.07	9.68 ± 0.13^{A}
uzorak sa šećerom	tijesto	9.87 ± 0.03	9.72 ± 0.08	9.80 ±.0.06	9.80 ± 0.08^{a}
	keks	9.72 ± 0.10	9.61 ± 0.06	9.58 ±.0.05	9.64 ± 0.07^{A}
sa zobenim brašnom	tijesto	10.29 ± 0.11	10.22 ± 0.03	10.13 ± 0.09	10.21 ± 0.08^{b}
	keks	10.13 ± 0.02	10.02 ± 0.08	9.70 ± 0.03	9.95 ± 0.22^{B}
s ječmenim brašnom	tijesto	10.68 ± 0.03	10.86 ± 0.10	10.90 ± 0.08	10.81 ± 0.12^{c}
	keks	10.44 ± 0.03	10.74 ± 0.05	10.65 ± 0.04	10.61 ± 0.15^{C}
s heljdinim brašnom	tijesto	11.12 ± 0.01	11.21 ± 0.08	11.02 ± 0.03	11.12 ± 0.10^{d}
	keks	10.93 ± 0.09	10.76 ± 0.14	10.78 ± 0.11	10.82 ± 0.09^{CD}
s brašnom amaranta	tijesto	11.66 ± 0.06	11.26 ± 0.12	11.28 ± 0.03	11.40 ± 0.23^{e}
	keks	11.20 ± 0.13	10.84 ± 0.09	10.83 ± 0.12	10.96 ± 0.21^{D}
sa sojinim brašnom	tijesto	15.26 ± 0.14	15.30 ± 0.09	15.37 ± 0.08	15.31 ± 0.06^{f}
	keks	14.62 ± 0.16	14.72 ± 0.13	14.68 ± 0.05	14.67 ± 0.05^{E}
sa zobenim vlaknima	tijesto	7.88 ± 0.04	8.02 ± 0.06	8.18 ± 0.03	8.03 ± 0.15^{g}
	keks	7.83 ± 0.05	7.95 ± 0.09	8.16 ± 0.04	7.98 ± 0.17^{F}
s jabučnim vlaknima	tijesto	8.89 ± 0.07	8.61 ± 0.04	8.90 ± 0.15	8.80 ± 0.16^{h}
	keks	8.80 ± 0.16	8.51 ± 0.08	8.74 ± 0.09	8.68 ± 0.15^{G}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$), malim slovima označena su tijesta, a velikim slovima keksi

4.1.1.2. Udio ukupnih lipida preliminarnih uzoraka

Udio ukupnih lipida u istraživanim uzorcima određen je u svrhu utvrđivanja točnog makronutritivnog sastava, kao i procjene energetske vrijednosti keksa. Rezultati određivanja ukupnih lipida (srednje vrijednosti tri paralelna određivanja pojedine serije ± standardna devijacija) prikazani su u tablici 11.

Tablica 11. Udio ukupnih lipida u preliminarnim uzorcima

uzorak	tehnološka faza	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{\chi}$*
		g /100 g suhe tvari			
referentni uzorak	tijesto	19.23 ± 0.06	18.87 ± 0.00	18.80 ± 0.01	18.97 ± 0.23^{a}
	keks	19.02 ± 0.06	18.41 ± 0.05	18.49 ± 0.03	18.64 ± 0.33^{AD}
uzorak sa šećerom	tijesto	18.76 ± 0.02	18.61 ± 0.02	18.89 ± 0.05	18.75 ± 0.14^{ae}
	keks	18.53 ± 0.07	18.34 ± 0.05	18.59 ± 0.01	18.49 ± 0.13^{A}
sa zobenim brašnom	tijesto	19.46 ± 0.01	19.44 ± 0.02	19.42 ± 0.04	19.44 ± 0.02^{b}
	keks	19.27 ± 0.03	19.38 ± 0.01	19.26 ± 0.08	19.30 ± 0.07^{B}
s ječmenim brašnom	tijesto	19.02 ± 0.01	18.81 ± 0.03	18.63 ± 0.03	18.82 ± 0.20^{a}
	keks	18.75 ± 0.05	18.60 ± 0.03	18.52 ± 0.15	18.62 ± 0.12^{AD}
s heljdinim brašnom	tijesto	19.14 ± 0.03	18.93 ± 0.02	18.76 ± 0.05	18.94 ± 0.19^{a}
	keks	18.66 ± 0.06	18.78 ± 0.00	18.30 ± 0.05	18.58 ± 0.25^{AD}
s brašnom amaranta	tijesto	19.58 ± 0.08	20.12 ± 0.11	20.13 ± 0.02	19.94 ± 0.31^{c}
	keks	19.44 ± 0.10	19.63 ± 0.06	19.30 ± 0.13	19.46 ± 0.17^{B}
sa sojinim brašnom	tijesto	23.33 ± 0.06	23.22 ± 0.08	23.27 ± 0.04	23.27 ± 0.06^{d}
	keks	22.56 ± 0.02	22.69 ± 0.01	23.17 ± 0.08	22.81 ± 0.32^{C}
sa zobenim vlaknima	tijesto	18.47 ± 0.00	18.51 ± 0.02	18.48 ± 0.01	18.49 ± 0.02^{e}
	keks	18.40 ± 0.04	18.45 ± 0.09	18.40 ± 0.05	18.42 ± 0.03^{A}
s jabučnim vlaknima	tijesto	19.03 ± 0.00	18.74 ± 0.01	19.02 ± 0.09	18.93 ± 0.17^{a}
	keks	19.00 ± 0.07	18.72 ± 0.05	18.91 ± 0.03	18.88 ± 0.14^{D}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$), malim slovima označena su tijesta, a velikim slovima keksi

Ovisno o analiziranoj seriji uzoraka, najniži udio ukupnih lipida određen je u uzorku pripremljenim sa zobenim vlaknima (18.40 g/100g suhe tvari), dok je dodatak sojinog brašna u referentnu recepturu rezultirao najvišim udjelom ukupnih lipida (23.17 g/100g suhe tvari). U odnosu na referentni uzorak, do statistički značajnog povišenja udjela ukupnih lipida došlo je kod uzoraka pripremljenih sa zobenim brašnom, odnosno brašnom amaranta, a najveće povišenje (približno 22 %) zabilježeno je kod uzorka pripremljenog dodatkom sojinog brašna. Usporedbom s rezultatima dobivenim analizom tijesta vidljivo je da tehnološki proces rezultira smanjenjem ukupnog udjela lipida u keksu, ali statistički gledano ta razlika nije značajna.

4.1.1.3. Udio pepela u preliminarnim uzorcima

Udio pepela, odnosno minerala koji zaostaju nakon spaljivanja uzoraka, kretao se ovisno o analiziranoj seriji od 1.81 g/100 g suhe tvari referentnom uzorku do 2.83 g/100 g suhe tvari u keksu sa sojinim brašnom (tablica 12). Promjenom referentne recepture kod svih uzoraka, osim kod keksa sa šećerom, došlo je do statistički značajnog povećanja udjela pepela, a najveće povećanje u odnosu na referentni uzorak zabilježeno je kod uzorka sa sojinim brašnom koje je iznosilo približno 53 %. Usporedba dobivenih rezultata za udio pepela tijesta i pripadajućeg keksa pokazuje minimalne razlike koje nisu statistički značajne.

Tablica 12. Udio pepela u preliminarnim uzorcima

uzorak	tehnološka faza	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$*
		g /100 g suhe tvari			
referentni uzorak	tijesto	1.82 ± 0.00	1.89 ± 0.00	1.85 ± 0.02	1.85 ± 0.04[a]
	keks	1.81 ± 0.01	1.87 ± 0.01	1.84 ± 0.02	1.84 ± 0.03[A]
uzorak sa šećerom	tijesto	1.84 ± 0.00	1.89 ± 0.01	1.85 ± 0.00	1.86 ± 0.03[a]
	keks	1.82 ± 0.01	1.88 ± 0.01	1.84 ± 0.01	1.85 ± 0.03[A]
sa zobenim brašnom	tijesto	2.10 ± 0.03	2.09 ± 0.01	2.13 ± 0.00	2.11 ± 0.02[b]
	keks	2.08 ± 0.03	2.09 ± 0.02	2.12 ± 0.01	2.10 ± 0.02[B]
s ječmenim brašnom	tijesto	2.07 ± 0.01	2.08 ± 0.01	2.04 ± 0.04	2.06 ± 0.02[c]
	keks	2.04 ± 0.01	1.99 ± 0.07	2.02 ± 0.06	2.02 ± 0.03[B]
s heljdinim brašnom	tijesto	2.05 ± 0.02	2.05 ± 0.02	2.08 ± 0.01	2.06 ± 0.02[c]
	keks	2.05 ± 0.05	2.01 ± 0.01	2.04 ± 0.01	2.03 ± 0.02[C]
s brašnom amaranta	tijesto	2.21 ± 0.01	2.26 ± 0.00	2.22 ± 0.00	2.23 ± 0.03[d]
	keks	2.20 ± 0.02	2.21 ± 0.01	2.17 ± 0.02	2.19 ± 0.02[D]
sa sojinim brašnom	tijesto	2.82 ± 0.01	2.84 ± 0.00	2.81 ± 0.01	2.82 ± 0.02[e]
	keks	2.82 ± 0.02	2.83 ± 0.01	2.81 ± 0.01	2.82 ± 0.01[E]
sa zobenim vlaknima	tijesto	1.94 ± 0.01	1.94 ± 0.03	1.94 ± 0.02	1.94 ± 0.00[f]
	keks	1.91 ± 0.01	1.90 ± 0.05	1.92 ± 0.00	1.91 ± 0.01[F]
s jabučnim vlaknima	tijesto	1.94 ± 0.00	1.97 ± 0.01	1.93 ± 0.01	1.95 ± 0.02[f]
	keks	1.92 ± 0.01	1.96 ± 0.00	1.92 ± 0.03	1.93 ± 0.02[F]

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$), malim slovima označena su tijesta, a velikim slovima keksi

4.1.2 *In vitro* probavljivost škroba preliminarnih uzoraka

In vitro probavljivost škroba preliminarnih uzoraka određena je kontroliranom enzimskom hidrolizom simuliranjem gastrointestinalne digestije, te mjerenjem slobodne glukoze (uključujući glukozu prisutnu u saharozi), glukoze otpuštene nakon 20 i 120 minuta hidrolize, te ukupne glukoze. Analize su provedene na poluproizvodu (tijestu) i završnom proizvodu (keksu) u tri serije istraživanih uzoraka. Rezultati su prikazani u

tablicama 13 – 16, a prikazani su kao srednje vrijednosti ± standardna devijacija tri paralelna određivanja.

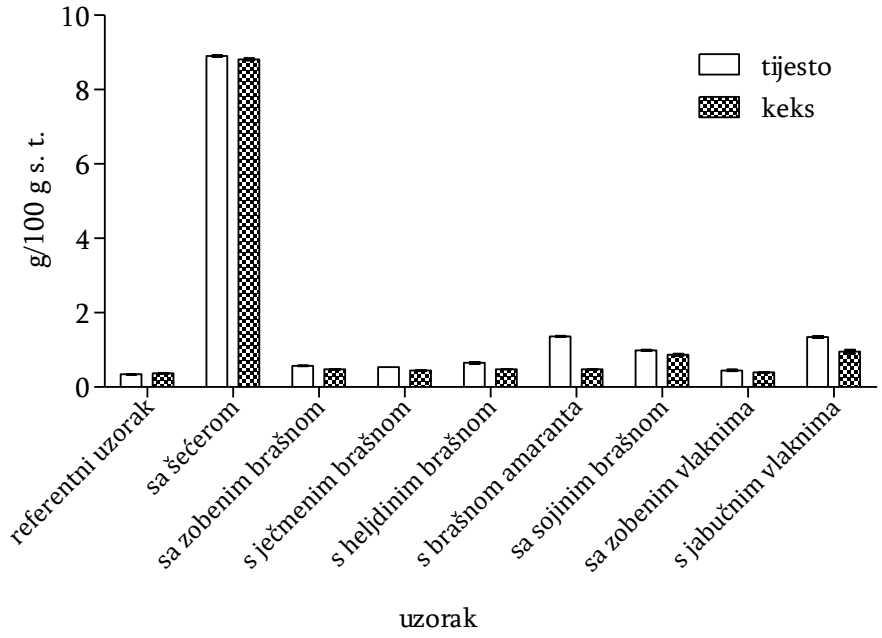
Iz rezultata je vidljivo da su keksi s najvišim udjelom slobodne glukoze prvenstveno keks sa šećerom (8.811 g/100 g suhe tvari), te keksi obogaćeni s jabučnim vlaknima odnosno, sojinim brašnom (0.954 i 0.868 g/100 g suhe tvari). U odnosu na referentni uzorak, udio slobodne glukoze je značajno povećan u svim uzorcima, osim u uzorku sa zobenim vlaknima gdje izmjenom recepture nije došlo do statistički značajnih promjena.

Tablica 13. Udio slobodne glukoze (FG) u preliminarnim uzorcima

uzorak	tehnološka faza	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{\chi}$*
		g /100 g suhe tvari			
referentni uzorak	tijesto	0.429 ± 0.001	0.429 ± 0.004	0.447 ± 0.023	0.435 ± 0.010^{a}
	keks	0.360 ± 0.028	0.382 ± 0.000	0.364 ± 0.022	0.369 ± 0.012^{A}
uzorak sa šećerom	tijesto	8.885 ± 0.021	8.901 ± 0.193	8.919 ± 0.049	8.901 ± 0.017^{b}
	keks	8.787 ± 0.153	8.812 ± 0.093	8.834 ± 0.020	8.811 ± 0.024^{B}
sa zobenim brašnom	tijesto	0.579± 0.002	0.563 ± 0.029	0.579 ± 0.000	0.574 ± 0.009^{c}
	keks	0.484 ± 0.019	0.470 ± 0.024	0.482 ± 0.009	0.479 ± 0.008^{C}
s ječmenim brašnom	tijesto	0.538 ± 0.000	0.540 ± 0.002	0.538 ± 0.002	0.539 ± 0.001^{d}
	keks	0.439 ± 0.017	0.455 ± 0.047	0.435 ± 0.024	0.443 ± 0.011^{D}
s heljdinim brašnom	tijesto	0.668 ± 0.023	0.633 ± 0.022	0.652 ± 0.001	0.651 ± 0.018^{e}
	keks	0.474 ± 0.023	0.488 ± 0.002	0.489 ± 0.005	0.483 ± 0.007^{C}
s brašnom amaranta	tijesto	1.385 ± 0.003	1.349 ± 0.054	1.363 ± 0.023	1.365 ± 0.018^{f}
	keks	0.482 ± 0.004	0.471 ± 0.024	0.486 ± 0.000	0.480 ± 0.010^{C}
sa sojinim brašnom	tijesto	0.970 ± 0.003	0.991 ± 0.023	0.999 ± 0.001	0.987 ± 0.015^{g}
	keks	0.835 ± 0.023	0.899 ± 0.031	0.870 ± 0.023	0.868 ± 0.032^{E}
sa zobenim vlaknima	tijesto	0.431 ± 0.001	0.467 ± 0.008	0.451 ± 0.023	0.450 ± 0.018^{a}
	keks	0.402 ± 0.022	0.401 ± 0.020	0.387 ± 0.004	0.397 ± 0.009^{A}
s jabučnim vlaknima	tijesto	1.359 ± 0.029	1.319 ± 0.002	1.357 ± 0.024	1.345 ± 0.022^{f}
	keks	0.916 ± 0.023	1.013 ± 0.027	0.933 ± 0.023	0.954 ± 0.052^{F}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$), malim slovima označena su tijesta, a velikim slovima keksi

Obzirom da statističkom analizom nisu utvrđene značajne razlike u udjelu slobodne glukoze među serijama, na slici 14 prikazane su srednje vrijednosti tri analizirane serije uzoraka, kao i usporedba vrijednosti dobivenih u uzorcima tijesta i keksa. Vidljivo je da je udio slobodne glukoze u svim uzorcima niži u keksu u odnosu na tijesto, a statističkom analizom je utvrđeno da su opažene promjene i statistički značajne ($p < 0.05$). Tijekom tehnološkog procesa najveća razgradnja slobodne glukoze zabilježena je kod uzorka pripremljenog s brašnom amaranta (približno 65 %).



Slika 14. Usporedba udjela slobodne glukoze u uzorcima tijesta i keksa

Udio glukoze otpušten nakon 20 minuta hidrolize (G_{20} = RAG) s probavnim enzimima u ispitivanim uzorcima tijesta i keksa kreće se od 15.879 g/100 g suhe tvari u tijestu pripremljenim sa sojinim brašnom do 40.045 g/100 g suhe tvari u keksu sa šećerom (tablica 14).

Tablica 14: Udio glukoze otpuštene nakon 20 min hidrolize u istraživanim uzorcima

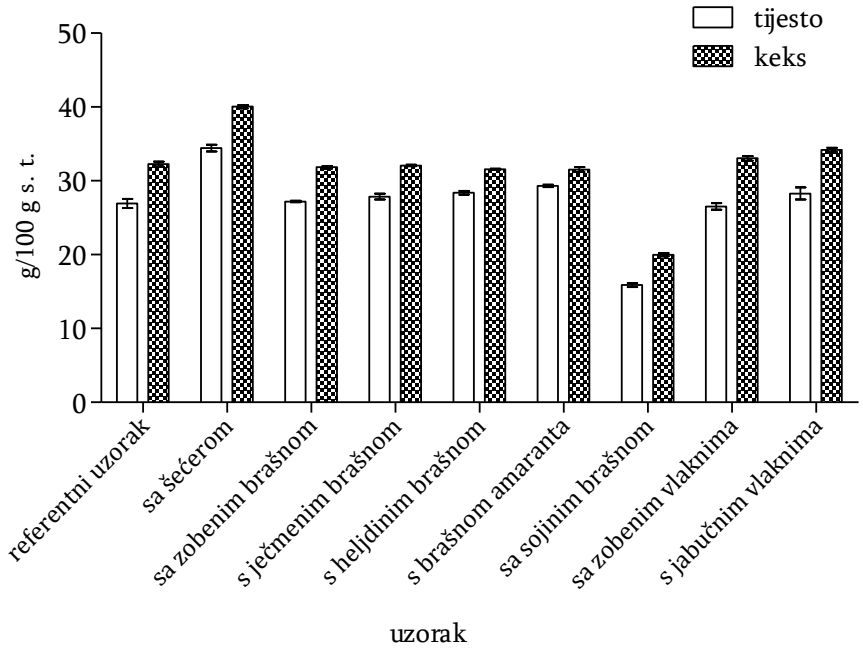
uzorak	tehnološka faza	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{\chi}$*
		g /100 g suhe tvari			
referentni uzorak	tijesto	26.264 ± 0.230	27.520± 0.043	27.056 ± 0.305	26.946 ± 0.635^{a}
	keks	31.929 ± 0.063	32.614 ± 0.170	32.292 ± 0.041	32.278 ± 0.343^{A}
uzorak sa šećerom	tijesto	34.886 ± 0.511	33.968 ± 0.216	34.442 ± 0.293	34.432 ± 0.459^{b}
	keks	39.791 ± 0.387	40.236 ± 0.398	40.106 ± 0.350	40.045 ± 0.229^{B}
sa zobenim brašnom	tijesto	27.311 ± 0.059	27.163 ± 0.357	27.132 ± 0.170	27.202 ± 0.096^{ac}
	keks	31.634 ± 0.042	31.972 ± 0.555	31.918 ± 0.123	31.841 ± 0.181^{CD}
sa ječmenim brašnom	tijesto	28.251 ± 0.103	27.453 ± 0.299	27.905± 0.343	27.870 ± 0.400^{cd}
	keks	32.101 ± 0.203	31.955 ± 0.188	32.148 ± 0.171	32.068 ± 0.101^{AC}
sa heljdinim brašnom	tijesto	28.140 ± 0.199	28.356 ± 0.892	28.640 ± 0.243	28.378 ± 0.251^{d}
	keks	31.654 ± 0.027	31.470 ± 0.207	31.533 ± 0.227	31.552 ± 0.093^{D}
s brašnom amaranta	tijesto	29.494 ± 0.442	29.189 ± 0.097	29.283 ± 0.287	29.322 ± 0.156^{e}
	keks	31.229 ± 0.123	31.866 ± 0.060	31.443 ± 0.102	31.513 ± 0.324^{D}
sa sojinim brašnom	tijesto	16.150 ± 0.283	15.580 ± 0.109	15.907 ± 0.412	15.879 ± 0.286^{f}
	keks	20.226 ± 0.652	19.794 ± 0.058	19.952 ± 0.218	19.991 ± 0.218^{E}
sa zobenim vlaknima	tijesto	26.135 ± 0.181	26.975 ± 0.057	26.513 ± 0.186	26.541 ± 0.421^{a}
	keks	32.750 ± 0.357	33.056 ± 0.064	33.375 ± 0.229	33.060 ± 0.312^{F}
sa jabučnim vlaknima	tijesto	29.179 ± 0.711	27.541 ± 0.363	28.146 ± 0.355	28.289 ± 0.828^{gd}
	keks	34.078 ± 0.492	33.960 ± 0.157	34.497 ± 0.354	34.178 ± 0.282^{G}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$), malim slovima označena su tijesta, a velikim slovima keksi

Suplementacija referentne recepture u ispitivanim tijestima rezultirala je statistički značajnim porastom udjela G_{20} u uzorcima sa šećerom, s ječmenim, heljdinim i brašnom amaranta, te u uzorku s jabučnim vlaknima, dok kod uzoraka sa zobenim brašnom i zobenim vlaknima nije utvrđena promjena u udjelu G_{20}. Značajno sniženje udjela G_{20} (41.07 %) u uzorcima tijesta postignuto je samo dodatkom sojinog brašna u referentnu recepturu. Analizom rezultata pripadajućih keksa utvrđeno je da je do porasta udjela G_{20} u odnosu na referentnu recepturu došlo kod uzoraka sa šećerom i prehrambenim vlaknima, a kod uzorka s ječmenim brašnom razlika nije utvrđena. Do statistički značajnog sniženja

udjela G_{20} došlo je kod uzoraka sa zobenim, heljdinim i brašnom amaranta, a najveći pad je zabilježen kod uzorka sa sojinom brašnom (38.07 %).

Usporedbom vrijednosti G_{20} za tijesta i pripadajuće kekse utvrđeno je da je tehnološki proces (slika 15) kod svih uzoraka rezultirao statistički značajnim povećanjem udjela G_{20} ($p < 0.05$), s najvećim utjecajem kod uzoraka s jabučnim i zobenim vlaknima (približno 21%, odnosno 25 %).



Slika 15. Usporedba udjela glukoze otpuštene nakon 20 min (G_{20}) hidrolize tijesta i keksa

Udio glukoze oslobođene nakon 120 minuta hidrolize (G_{120}) za uzorke tijesta i keksa prikazani su u tablici 15, a vrijednosti su se kretale od 34.386 g/100 g s.t. (keks sa sojinim brašnom) do 56.598 g/100 g s.t. (tijesto pripremljeno sa šećerom). Promjena referentne recepture rezultirala je nižim udjelima G_{120} u svim uzorcima tijesta osim kod uzorka sa šećerom gdje je došlo do porasta i uzorka s heljdinim brašnom u kojem nije utvrđena značajna razlika. Statističkom analizom rezultata pripadajućih keksa u usporedbi s referentnim uzorkom primijećen je pad udjela G_{120} kod svih uzoraka, osim kod uzorka sa šećerom gdje je došlo do značajnog porasta (15.61 %). Dodatak sojinog brašna u referentnu

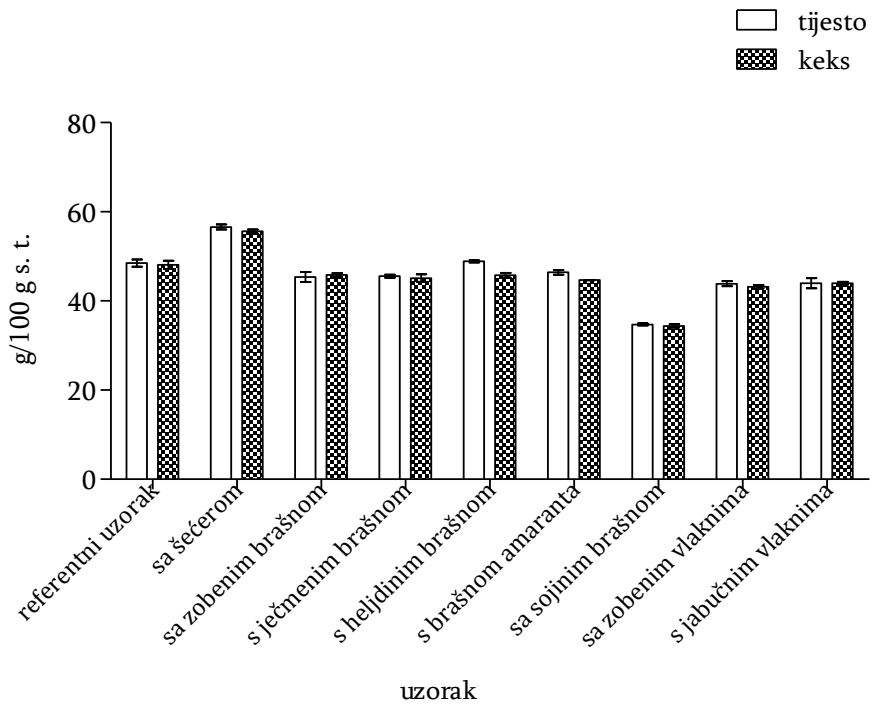
recepturu rezultirao je, nakon 120 minuta hidrolize, najvećim sniženjem vrijednosti otpuštene glukoze od 28.50 %.

Tablica 15. Udio glukoze otpuštene nakon 120 min hidrolize u preliminarnim uzorcima

uzorak	tehnološka faza	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{\chi}$*
		g /100 g suhe tvari			
referentni uzorak	tijesto	47.583 ± 0.047	49.131 ± 0.414	48.813 ± 0.395	48.509 ± 0.818^{a}
	keks	47.111 ± 0.368	48.936 ± 0.102	48.237 ± 0.257	48.095 ± 0.921^{A}
uzorak sa šećerom	tijesto	55.946 ± 0.279	57.083 ± 0.540	56.764 ± 0.537	56.598 ± 0.586^{b}
	keks	55.869 ± 0.100	55.101 ± 0.408	55.836 ± 0.347	55.602 ± 0.434^{B}
sa zobenim brašnom	tijesto	46.268 ± 0.056	44.096 ± 0.067	45.694 ± 0.088	45.353 ± 1.125^{c}
	keks	45.340 ± 0.120	45.966 ± 0.576	46.171 ± 0.353	45.826 ± 0.433^{C}
sa ječmenim brašnom	tijesto	45.236 ± 0.546	45.528 ± 0.108	45.886 ± 0.440	45.550 ± 0.325^{c}
	keks	45.543 ± 0.530	44.179 ± 0.521	45.670 ± 0.230	45.131 ± 0.827^{CD}
sa heljdinim brašnom	tijesto	48.935 ± 0.422	49.101 ± 0.113	48.638 ± 0.222	48.891 ± 0.235^{a}
	keks	46.215 ± 0.247	45.141 ± 0.633	45.951 ± 0.099	45.769 ± 0.560^{C}
s brašnom amaranta	tijesto	46.783 ± 0.530	46.598 ± 0.528	45.827 ± 0.437	46.403 ± 0.507^{c}
	keks	44.681 ± 0.267	44.728 ± 0.155	44.614 ± 0.152	44.674 ± 0.057^{DG}
sa sojinim brašnom	tijesto	34.938 ± 0.605	34.785 ± 0.205	34.475 ± 0.126	34.733 ± 0.236^{d}
	keks	34.023 ± 0.271	34.718 ± 0.616	34.418 ± 0.312	34.386 ± 0.349^{E}
sa zobenim vlaknima	tijesto	43.271 ± 0.310	44.415 ± 0.302	43.833 ± 0.388	43.840 ± 0.572^{e}
	keks	43.062 ± 0.593	43.592 ± 0.227	42.803 ± 0.279	43.152 ± 0.402^{F}
sa jabučnim vlaknima	tijesto	45.224 ± 0.342	42.965 ± 0.214	43.762 ± 0.422	43.984 ± 1.146^{e}
	keks	43.811 ± 0.200	44.327 ± 0.250	43.754 ± 0.507	43.964 ± 0.316^{FG}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$), malim slovima označena su tijesta, a velikim slovima keksi

Usporedbom vrijednosti udjela glukoze otpuštene nakon 120 min hidrolize tijesta i pripadajućih keksa (slika 16) utvrđeno je da je tehnološki postupak proizvodnje keksa doveo do značajnog sniženja udjela G_{120} u uzorcima sa heljdinim brašnom, odnosno brašnom amaranta, dok kod ostalih uzoraka nije utvrđen statistički značajan utjecaj pečenja na promatrani parametar.



Slika 16. Usporedba udjela glukoze otpuštene nakon 120 min hidrolize (G_{120}) tijesta i keksa

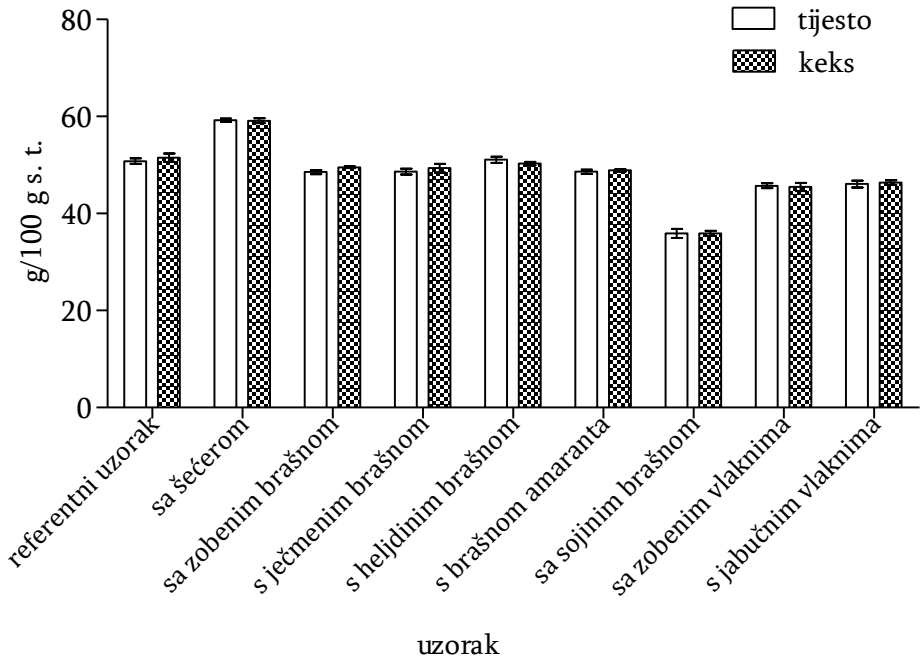
Najveći udio ukupne glukoze (tablica 16) utvrđen je u uzorku tijesta sa šećerom (59.235 g/100 g s.t.), a najniži udio (35.908 g/100 g s.t) u keksu sa sojinim brašnom. Uspoređujući s referentnim uzorkom modifikacija recepture je rezultirala statistički značajnim sniženjem udjela ukupne glukoze kod svih tijesta, osim kod uzorka sa šećerom gdje je došlo do statistički značajnog povećanja (16.62 %) i uzorka s heljdinim brašnom u kojem nije utvrđena značajna razlika. Analizom rezultata istraživanih keksa utvrđeno je da je suplementacija referentne recepture različitim sirovinama rezultirala značajno nižim udjelima ukupne glukoze u svim uzorcima, osim kod uzorka sa šećerom, a najveće sniženje utvrđeno je kod uzorka sa sojinim brašnom (30.25 %).

Tablica 16. Udio ukupne glukoze u preliminarnim uzorcima (TG)

uzorak	tehnološka faza	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$ *
		g /100 g suhe tvari			
referentni uzorak	tijesto	50.868 ± 0.527	51.335 ± 0.337	50.182 ± 0.283	50.795 ± 0.580^{a}
	keks	50.698 ± 0.356	52.408 ± 0.485	51.331 ± 0.551	51.479 ± 0.865^{A}
uzorak sa šećerom	tijesto	58.867 ± 0.169	59.418 ± 0.164	59.419 ± 0.222	59.235 ± 0.319^{b}
	keks	59.285 ± 0.538	58.559 ± 0.369	59.507 ± 0.183	59.117 ± 0.496^{B}
sa zobenim brašnom	tijesto	49.002 ± 0.617	48.186 ± 0.706	48.414 ± 0.282	48.534 ± 0.421^{c}
	keks	49.322 ± 0.365	49.681 ± 0.703	49.575 ± 0.212	49.526 ± 0.184^{CD}
sa ječmenim brašnom	tijesto	49.150 ± 0.050	47.983 ± 0.815	48.823 ± 0.400	48.652 ± 0.602^{c}
	keks	49.814 ± 0.074	48.308 ± 0.517	49.498 ± 0.689	49.356 ± 0.910^{CD}
sa heljdinim brašnom	tijesto	51.802 ± 0.030	50.512 ± 0.505	50.902 ± 0.116	51.072 ± 0.661^{a}
	keks	50.710 ± 0.381	49.985 ± 0.286	50.166 ± 0.180	50.287 ± 0.377^{C}
s brašnom amaranta	tijesto	49.042 ± 0.752	48.602 ± 0.180	48.193 ± 0.335	48.612 ± 0.425^{c}
	keks	48.763 ± 0.777	49.155 ± 0.701	48.732 ± 0.360	48.884 ± 0.236^{D}
sa sojinim brašnom	tijesto	38.817 ± 0.055	34.960 ± 0.470	35.848 ± 0.093	35.875 ± 0.929^{d}
	keks	35.481 ± 0.723	36.536 ± 0.449	35.706 ± 0.762	35.908 ± 0.556^{E}
sa zobenim vlaknima	tijesto	46.282 ± 0.219	45.376 ± 0.695	45.507 ± 0.233	45.722 ± 0.490^{e}
	keks	45.046 ± 0.409	46.457 ± 0.292	44.938 ± 0.742	45.480 ± 0.847^{F}
sa jabučnim vlaknima	tijesto	46.890 ± 0.193	45.744 ± 0.679	45.568 ± 0.091	46.068 ± 0.717^{e}
	keks	46.367 ± 0.260	46.865 ± 0.048	45.916 ± 0.100	46.382 ± 0.475^{F}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$), malim slovima označena su tijesta, a velikim slovima keksi

Iz slike 17 vidljivo je da se udio ukupne glukoze u uzorcima tijesta vrlo malo razlikuje od onog u pripadajućim uzorcima keksa, te je i statističkom obradom rezultata utvrđeno da među ispitivanim vrijednostima ne postoje značajne razlike, odnosno da tehnološki proces nije značajno utjecao na udio ukupne glukoze u završnom proizvodu.



Slika 17. Usporedba udjela ukupne glukoze u tijestu i keksu istraživanih uzoraka

4.1.3. Udio prehrambenih vlakana u preliminarnim uzorcima

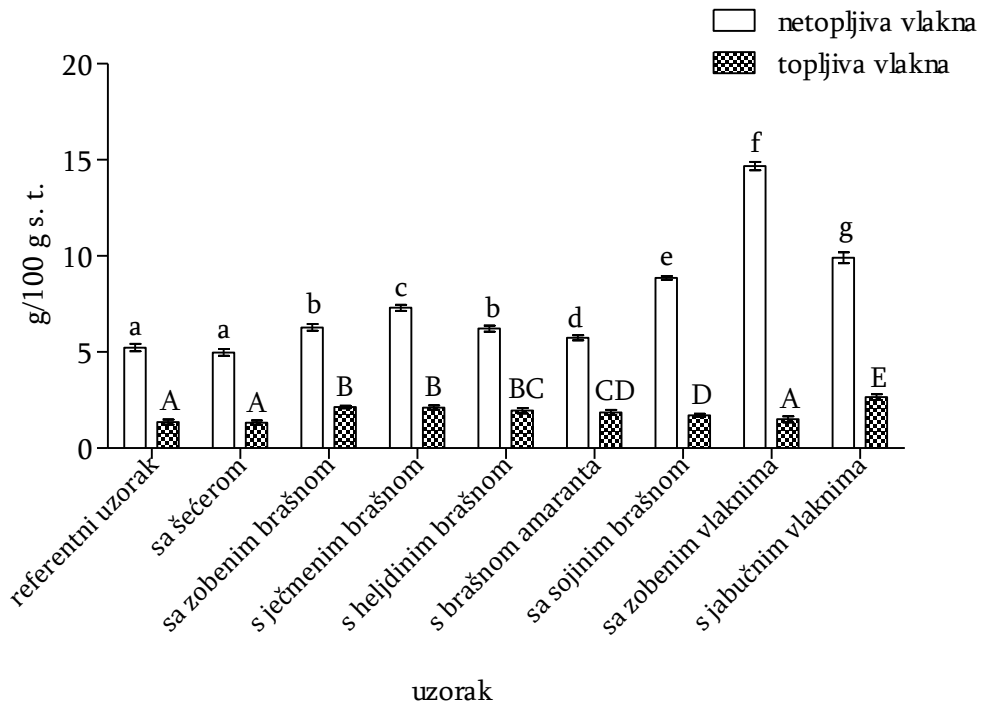
Udio netopljivih i topljivih vlakana određen je u preliminarnim uzorcima u svrhu ispitivanja utjecaja promjene sirovinskoga sastava na udio vlakana u keksu. Obzirom da je udio proteina u dobivenim frakcijama vlakana bio zanemariv (niži od granice detekcije primijenjene metode) za izračunavanje udjela čistih vlakana korišteni su samo udjeli pepela određeni u pojedinoj frakciji sirovih vlakana. Rezultati za svaku istraživanu seriju prikazani su u tablicama 17 – 19.

Udio netopljivih prehrambenih vlakana u istraživanim uzorcima kretao se, ovisno o analiziranoj seriji od 4.892 g/100 g s.t u uzorku sa šećerom do 14.850 g/100 g s.t u uzorku sa zobenim vlaknima. Promjena recepture, u odnosu na referentni keks, rezultirala je kod svih uzoraka (osim keksa sa šećerom) statistički značajnim povećanjem udjela netopljivih vlakana, te je tako dodatak sojinog brašna, odnosno jabučnih vlakana rezultirao povećanjem od 70 %, odnosno 90%, a dodatak zobenih vlakana od čak 180 %.

Udio topljivih prehrambenih vlakana u ispitivanim keksima, ovisno o istraživanoj seriji, kretao se od 1.192 g/100 g s.t u uzorku sa šećerom do 2.796 g/100 g s.t u uzorku s

jabučnim vlaknima. Sve modifikacije referentne recepture (osim uzoraka sa šećerom i zobenim vlaknima) rezultirale su povećanjem udjela topljivih vlakana, a najbolji rezultati su postignuti dodatkom zobenog brašna i jabučnih prehrambenih vlakana (povećanje od 57.2 %, odnosno čak 94.6 %).

Obzirom da statističkom analizom nisu utvrđene značajne razlike između ispitivanih serija uzoraka, na slici 18 su prikazane srednje vrijednosti udjela netopljivih i topljivih vlakana tri analizirane serije uzoraka.



Slika 18. Udio netopljivih i topljivih prehrambenih vlakana u analiziranim keksima. Stupci označeni istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$), malim slovima označena su netopljiva vlakna, a velikim slovima topljiva.

Tablica 17. Udio sirovih vlakana, pepela i čistih vlakana unutar prve serije istraživanih uzoraka

uzorak	NETOPLJIVA VLAKNA			TOPLJIVA VLAKNA			UKUPNA VLAKNA*
	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	
	g/100g suhe tvari keksa						
referentni uzorak	4.706 ± 0.037	0.560 ± 0.087	5.266 ± 0.034	1.537 ± 0.089	0.157 ± 0.029	1.380 ± 0.080	6.646 ± 0.009
uzorak sa šećerom	4.323 ± 0.068	0.568 ± 0.044	4.892 ± 0.062	1.535 ± 0.031	0.189 ± 0.028	1.346 ± 0.033	6.238 ± 0.085
sa zobenim brašnom	5.561 ± 0.188	0.780 ± 0.059	6.341 ± 0.165	2.475 ± 0.222	0.264 ± 0.051	2.211 ± 0.214	8.552 ± 0.909
s ječmenim brašnom	6.764 ± 0.292	0.684 ± 0.023	7.448 ± 0.290	2.338 ± 0.138	0.230 ± 0.014	2.108 ± 0.141	9.556 ± 0.543
s heljdinim brašnom	5.361 ± 0.116	0.864 ± 0.048	6.225 ± 0.116	2.255 ± 0.125	0.285 ± 0.021	1.970 ± 0.116	8.195 ± 0.163
s brašnom amaranta	4.703 ± 0.130	0.894 ± 0.051	5.597 ± 0.139	2.270 ± 0.209	0.389 ± 0.042	1.881 ± 0.214	7.478 ± 0.206
sa sojinim brašnom	7.716 ± 0.024	1.040 ± 0.043	8.755 ± 0.025	2.160 ± 0.233	0.455 ± 0.050	1.705 ± 0.222	10.460 ± 0.133
sa zobenim vlaknima	14.057 ± 0.070	0.793 ± 0.033	14.850 ± 0.064	1.676 ± 0.065	0.160 ± 0.015	1.516 ± 0.062	16.366 ± 0.019
s jabučnim vlaknima	9.030 ± 0.252	0.667 ± 0.028	9.696 ± 0.243	3.060 ± 0.061	0.264 ± 0.035	2.796 ± 0.061	12.492 ± 0.250

* udio ukupnih vlakana određen je kao suma udjela netopljivih čistih vlakana i topljivih čistih vlakana

Tablica 18. Udio sirovih vlakana, pepela i čistih vlakana unutar druge serije istraživanih uzoraka

uzorak	NETOPLJIVA VLAKNA			TOPLJIVA VLAKNA			UKUPNA VLAKNA*
	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	
	g/100g suhe tvari keksa						
referentni uzorak	6.001 ± 0.068	0.597 ±0.059	5.404 ± 0.075	1.642 ± 0.152	0.154 ± 0.007	1.488 ± 0.142	6.892 ± 0.084
uzorak sa šećerom	5.770 ± 0.218	0.594 ± 0.006	5.176 ± 0.216	1.327 ± 0.051	0.135 ± 0.021	1.192 ± 0.050	6.368 ± 0.270
sa zobenim brašnom	7.228 ± 0.118	0.810 ± 0.028	6.418 ± 0.123	2.341 ± 0.107	0.270 ± 0.028	2.071 ± 0.095	8.489 ± 0.012
s ječmenim brašnom	7.873 ± 0.183	0.739 ± 0.084	7.134 ± 0.179	2.454 ± 0.176	0.235 ± 0.049	2.219 ± 0.179	9.353 ± 0.359
s heljdinim brašnom	6.907 ± 0.119	0.844 ± 0.036	6.063 ± 0.115	2.057 ± 0.153	0.255 ± 0.049	1.802 ± 0.147	7.865 ± 0.272
s brašnom amaranta	6.790 ± 0.167	0.949 ± 0.013	5.841 ± 0.151	2.052 ± 0.089	0.345 ± 0.063	1.707 ± 0.085	7.548 ± 0.256
sa sojinim brašnom	9.986 ± 0.114	1.141 ± 0.059	8.845 ± 0.110	2.235 ± 0.116	0.434 ± 0.005	1.801 ± 0.123	10.646 ± 0.002
sa zobenim vlaknima	15.487 ± 0.236	0.737 ± 0.069	14.750 ± 0.222	1.808 ± 0.129	0.155 ± 0.021	1.653 ± 0.121	16.403 ± 0.407
s jabučnim vlaknima	10.604 ± 0.100	0.790 ± 0.059	9.814 ± 0.930	2.914 ± 0.094	0.249 ± 0.029	2.665 ± 0.094	12.479 ± 0.193

* udio ukupnih vlakana određen je kao suma udjela netopljivih čistih vlakana i topljivih čistih vlakana

Tablica 19. Udio sirovih vlakana, pepela i čistih vlakana unutar treće serije istraživanih uzoraka

uzorak	NETOPLJIVA VLAKNA			TOPLJIVA VLAKNA			UKUPNA VLAKNA*
	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	
	g/100g suhe tvari keksa						
referentni uzorak	5.656 ± 0.056	0.632 ± 0.033	5.024 ± 0.054	1.397 ± 0.055	0.174 ± 0.007	1.223 ± 0.052	6.247 ± 0.111
uzorak sa šećerom	5.507 ± 0.205	0.642 ± 0.063	4.865 ± 0.193	1.587 ± 0.107	0.170 ± 0.035	1.417 ± 0.105	6.282 ± 0.098
sa zobenim brašnom	6.917 ± 0.062	0.830 ± 0.006	6.087 ± 0.061	2.410 ± 0.055	0.259 ± 0.027	2.151 ± 0.056	8.238 ± 0.007
s ječmenim brašnom	7.997 ± 0.169	0.678 ± 0.015	7.319 ± 0.175	2.207 ± 0.159	0.219 ± 0.043	1.988 ± 0.150	9.307 ± 0.328
s heljdinim brašnom	7.376 ± 0.266	1.004 ± 0.122	6.372 ± 0.256	2.361 ± 0.212	0.273 ± 0.048	2.088 ± 0.204	8.460 ± 0.678
s brašnom amaranta	6.711 ± 0.150	0.930 ± 0.085	5.781 ± 0.154	2.319 ± 0.064	0.335 ± 0.035	1.984 ± 0.061	7.765 ± 0.214
sa sojinim brašnom	10.090 ± 0.267	1.126 ± 0.159	8.964 ± 0.267	2.063 ± 0.127	0.437 ± 0.013	1.626 ± 0.127	10.590 ± 0.694
sa zobenim vlaknima	15.329 ± 0.253	0.891 ± 0.045	14.438 ± 0.256	1.518 ± 0.119	0.174 ± 0.020	1.344 ± 0.115	15.782 ± 0.372
s jabučnim vlaknima	10.998 ± 0.242	0.762 ± 0.049	10.236 ± 0.240	2.752 ± 0.138	0.249 ± 0.000	2.503 ± 0.127	12.739 ± 0.380

* udio ukupnih vlakana određen je kao suma udjela netopljivih čistih vlakana i topljivih čistih vlakana

4.1.4. Organoleptička analiza preliminarnih uzoraka keksa

Imajući u vidu važnost organoleptičke kvalitete prehrambenog proizvoda, na preliminarnim keksima je provedena organoleptička analiza, a ispitivane karakteristike bile su izgled, miris, struktura i okus keksa. Procjena svake organoleptičke karakteristike iskazana je ocjenom koja se korekcijom s faktorom važnosti pretvara u ponderirane bodove. Ukupnu prihvatljivost čini suma ponderiranih bodova za svaki pojedini keks. Rezultati organoleptičke analize (tablica 20) pokazali su da uz referentni keks (17.43 ponderirana boda), keksi s ječmenim brašnom, odnosno brašnom amaranta (17.80 i 18.31 ponderirana boda) imaju najviše ocjene obzirom na ukupnu prihvatljivost, odnosno ocijenjeni su ukupnom ocjenom odličan. Keks pripremljen s brašnom amaranta koji ima najviše ponderiranih bodova ocijenjen je najboljim ocjenama u kategoriji mirisa, strukture i okusa iako u usporedbi s referentnim uzorkom ta razlika nije statistički značajna. Uzorci sa zobenim ili sojinim brašnom, odnosno brašnom heljde ocijenjeni su ukupnom ocjenom vrlo dobar (17.23, 17.10, odnosno 16.69 ponderirana boda), gdje su najniže ocjene dodijeljene za kategoriju okusa. Najniža ukupna prihvatljivost (ocjena dobar) dodijeljena je keksima koji su pripremljeni s jabučnim (14.02 boda) ili zobenim vlaknima (14.82 boda) koja se pokazala i statistički značajnom u kategoriji vanjskog izgleda i strukture keksa.

Tablica 20. Procjena organoleptičke kvalitete preliminarnih uzoraka

uzorak	vanjski izgled (f = 0.8)		miris (f = 0.3)		struktura (f = 1.4)		okus (f = 1.5)		ukupni ponderirani bodovi**
	ocjena	ponderirani bodovi*	ocjena	ponderirani bodovi*	ocjena	ponderirani bodovi*	ocjena	ponderirani bodovi*	
referentni uzorak	4.80 ± 0.27^{ABC}	3.84	4.50 ± 0.61^{A}	1.35	4.50 ± 0.50^{A}	6.30	4.10 ± 0.74^{AB}	6.15	17.64
uzorak sa šećerom	4.70 ± 0.45^{ABC}	3.76	4.50 ± 0.61^{A}	1.35	4.30 ± 0.45^{AB}	6.02	4.20 ± 0.57^{AB}	6.30	17.43
sa zobenim brašnom	4.70 ± 0.45^{ABC}	3.76	4.50 ± 0.50^{A}	1.35	4.20 ± 0.84^{AB}	5.88	4.16 ± 0.74^{AB}	6.24	17.23
s ječmenim brašnom	4.90 ± 0.22^{AB}	3.92	4.26 ± 0.43^{A}	1.28	4.76 ± 0.43^{A}	6.66	3.96 ± 0.76^{AB}	5.94	17.80
s heljdinim brašnom	4.96 ± 0.09^{A}	3.97	4.50 ± 0.50^{A}	1.35	4.32 ± 0.46^{AB}	6.05	3.80 ± 0.76^{AB}	5.32	16.69
s brašnom amaranta	4.66 ± 0.42^{ABC}	3.73	4.60 ± 0.71^{A}	1.38	4.76 ± 0.43^{A}	6.66	4.36 ± 0.61^{A}	6.54	18.31
sa sojinim brašnom	4.50 ± 0.50^{ABC}	3.60	4.36 ± 0.84^{A}	1.31	4.36 ± 0.50^{AB}	6.10	4.06 ± 0.77^{AB}	6.09	17.10
sa zobenim vlaknima	4.30 ± 0.45^{BC}	3.44	4.14 ± 0.55^{A}	1.24	3.60 ± 0.42^{BC}	5.04	3.40 ± 0.42^{AB}	5.10	14.82
s jabučnim vlaknima	4.20 ± 0.57^{C}	3.36	4.10 ± 0.65^{A}	1.23	3.24 ± 0.89^{C}	4.54	3.26 ± 0.62^{B}	4.89	14.02

* ponderirani bodovi dobiveni su umnoškom ocjene i pripadajućeg faktora važnosti za pojedinu organoleptičku značajku; vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

** ukupni ponderirani bodovi određeni su kao suma ponderiranih bodova pojedine organoleptičke karakteristike

4.2. REZULTATI ZAVRŠNIH ISTRAŽIVANJA

Za završna istraživanja, među preliminarnim uzorcima odabrane su recepture koje su se pokazale najoptimalnijima u smislu nutritivnih, funkcionalnih i organoleptičkih svojstava konačnog proizvoda. Odabrane recepture su dodatno modificirane dodatkom inulina, kao i smanjenjem udjela masti i izomalta/šećera. Kao nova sirovina uvedeno je brašno rogača, sirovina bogata prehrambenim vlaknima, obzirom da za izradu završnih uzoraka čista prehrambena vlakna više nisu korištena. Recepture za sedam vrsta keksa odabranih za završna istraživanja detaljno su opisane u poglavlju 3.1.1.

Obzirom da je u preliminarnim istraživanjima ispitan i utjecaj tehnološkog postupka (pečenja), završna istraživanja provedena su samo na keksu određivanjem utjecaja promjene sirovinskoga sastava na analizirane parametre.

4.2.1. Makronutritivni sastav završnih uzoraka

4.2.1.1. Udio proteina završnih uzoraka

Rezultati određivanja ukupnih proteina u završnim uzorcima keksa (srednja vrijednost tri paralelna određivanja ± standardna devijacija) prikazani su u tablici 21.

Tablica 21. Udio proteina u uzorcima keksa

uzorak	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$ *
	g/100 g suhe tvari			
referentni uzorak	9.58 ± 0.16	9.65 ± 0.08	9.84 ± 0.09	9.69 ± 0.13^{A}
uzorak sa šećerom	9.55 ± 0.00	9.44 ± 0.01	9.52 ± 0.17	9.50 ± 0.06^{A}
s heljdinim brašnom	10.34 ± 0.07	10.16 ± 0.09	10.22 ± 0.15	10.24 ± 0.09^{B}
s brašnom amaranta	10.76 ± 0.17	11.02 ± 0.08	11.12 ± 0.09	10.97 ± 0.19^{C}
s brašnom rogača	9.11 ± 0.09	8.95 ± 0.08	9.06 ± 0.09	9.04 ± 0.08^{D}
sa sojinim brašnom	16.48 ± 0.09	16.65 ± 0.15	16.86 ± 0.01	16.66 ± 0.19^{B}
bez inulina	10.47 ± 0.09	10.44 ± 0.08	10.41 ± 0.08	10.44 ± 0.03^{E}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

Udio proteina kretao se, ovisno o analiziranoj seriji od 8.95 g/100 g suhe tvari u uzorku pripremljenim s brašnom rogača do 16.86 g/100 g suhe tvari u keksu sa sojinom brašnom. Iz analize rezultata vidljivo je da je promjenom recepture došlo do statistički značajnog povećanja količine proteina u svim uzorcima osim u uzorku sa šećerom i uzorku s brašnom rogača. Najveće količine ukupnih proteina u odnosu na referentni uzorak određene su u keksu sa sojinim brašnom (povećanje od 71.19 %), dok je dodatkom brašna rogača udio proteina smanjen za 6.71 % što predstavlja malo, ali statistički značajno sniženje.

4.2.1.2. Udio lipida završnih uzoraka

Udio lipida u završnim uzorcima kretao se, ovisno o istraživanoj seriji, od 11.80 g/100 g suhe tvari u uzorku pripremljenim s brašnom rogača do 18.26 g/100 g u uzorku sa sojinim brašnom (tablica 22).

Tablica 22. Udio lipida u završnim keksima

uzorak	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$ *
	g/100 g suhe tvari			
referentni uzorak	12.55 ± 0.00	12.34 ± 0.00	12.20 ± 0.04	12.36 ± 0.18^{A}
uzorak sa šećerom	12.58 ± 0.02	12.21 ± 0.07	12.39 ± 0.02	12.39 ± 0.19^{A}
s heljdinim brašnom	12.39 ± 0.01	12.29 ± 0.00	12.06 ± 0.02	12.25 ± 0.17^{A}
s brašnom amaranta	14.19 ± 0.00	13.06 ± 0.07	13.38 ± 0.09	13.54 ± 0.58^{B}
s brašnom rogača	12.27 ± 0.01	11.80 ± 0.02	11.81 ± 0.08	11.96 ± 0.27^{A}
sa sojinim brašnom	17.06 ± 0.01	18.26 ± 0.05	17.51 ± 0.09	17.61 ± 0.61^{C}
bez inulina	12.85 ± 0.05	12.92 ± 0.09	13.37 ± 0.00	13.05 ± 0.28^{B}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

Iz usporedbe s referentnim uzorkom vidljivo je da uvođenje heljdinog ili brašna rogača nije značajno utjecalo na količinu lipida u završnom proizvodu. Kod uzorka s brašnom amaranta i uzorka bez inulina došlo je do malog, ali statistički značajnog

povišenja količine lipida, dok je najveće povećanje zabilježeno kod keksa sa sojinim brašnom (42.48 %).

4.2.1.3. Udio pepela završnih uzoraka

Rezultati određivanja udjela pepela, odnosno anorganskog ostatka nakon spaljivanja uzoraka, prikazani su u tablici 23. Anorganska komponenta čini mali dio ukupne suhe tvari, a varira, ovisno o analiziranoj seriji od 1.72 g/100 g suhe tvari u uzorku sa šećerom do 2.88 g/100g suhe tvari u keksu sa sojinim brašnom.

Tablica 23. Udio pepela u uzorcima keksa

uzorak	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$ *
	g/100 g suhe tvari			
referentni uzorak	1.83 ± 0.00	1.85 ± 0.01	1.83 ± 0.01	1.84 ± 0.01^{A}
uzorak sa šećerom	1.79 ± 0.01	1.72 ± 0.02	1.73 ± 0.01	1.75 ± 0.04^{B}
s heljdinim brašnom	2.08 ± 0.01	2.03 ± 0.00	2.08 ± 0.01	2.06 ± 0.03^{C}
s brašnom amaranta	2.37 ± 0.03	2.26 ± 0.00	2.28 ± 0.02	2.30 ± 0.06^{D}
s brašnom rogača	2.26 ± 0.02	2.27 ± 0.00	2.25 ± 0.00	2.26 ± 0.01^{D}
sa sojinim brašnom	2.76 ± 0.00	2.88 ± 0.01	2.77 ± 0.01	2.80 ± 0.07^{E}
bez inulina	1.82 ± 0.01	1.81 ± 0.02	1.81 ± 0.01	1.81 ± 0.01^{AB}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

U odnosu na referentni uzorak, svi keksi (osim uzorka sa šećerom i uzorka bez inulina) imaju statistički značajno veći udio pepela, a najveće povećanje zabilježeno je kod uzorka sa sojom (52.17 %). Uvođenje šećera u referentnu recepturu rezultiralo je malim, ali statistički značajnim sniženjem udjela pepela, dok kod uzorka s inulinom nije bilo značajnih razlika u količini pepela u usporedbi s referentnim uzorkom.

4.2.2. Udio probavljivih proteina u završnim uzorcima

Obzirom da je nutritivna kvaliteta proizvoda od pšeničnog brašna (žitarice) ograničena ne samo udjelom, već i kvalitetom proteina (udio esencijalnih i limitirajućih aminokiselina) u temeljnu recepturu uvedene su integralne pseudožitarice i leguminoze. U nastojanju povećanja nutritivne vrijednosti eksperimentalnih keksa, u završnim uzorcima određen je udio probavljivih proteina, a rezultati su prikazani u tablici 24 kao srednje vrijednosti četiri paralelna određivanja ± standardna devijacija.

Tablica 24. Udio probavljivih proteina u uzorcima keksa

uzorak	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$ *
	g/100 g suhe tvari			
referentni uzorak	7.69 ± 0.28	7.84 ± 0.23	7.54 ± 0.07	7.69 ± 0.15^{AE}
uzorak sa šećerom	7.58 ± 0.58	7.68 ± 0.13	7.05 ± 0.50	7.44 ± 0.34^{AB}
s heljdinim brašnom	7.18 ± 0.45	7.33 ± 0.02	6.90 ± 0.16	7.14 ± 0.22^{B}
s brašnom amaranta	8.22 ± 0.05	7.78 ± 0.31	7.84 ± 0.10	7.95 ± 0.24^{E}
s brašnom rogača	5.08 ± 0.26	4.43 ± 0.08	4.59 ± 0.12	4.70 ± 0.34^{C}
sa sojinim brašnom	12.06 ± 0.01	11.53 ± 0.24	11.29 ± 0.27	11.66 ± 0.45^{D}
bez inulina	8.01 ± 0.28	7.68 ± 0.02	7.98 ± 0.05	7.89 ± 0.18^{E}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

Ovisno o analiziranoj seriji, udio probavljivih proteina kretao se od 4.43 g/100 g suhe tvari (uzorak s brašnom rogača) do 12.06 g/100 g suhe tvari (uzorak sa sojinim brašnom). Uspoređujući s referentnim uzorkom, do statistički značajnog povećanja udjela probavljivih proteina došlo je samo kod uzorka s dodatkom sojinog brašna. Kod keksa s brašnom amaranta i keksa bez inulina je također povećan udio probavljive proteinske frakcije, ali spomenuti porast se nije pokazao statistički značajnim, dok je uvođenje heljdinog brašna, odnosno brašna rogača u referentnu recepturu rezultiralo značajno nižim udjelom probavljivih proteina.

4.2.3. *In vitro* probavljivost škroba završnih uzoraka

In vitro probavljivost škroba završnih uzoraka određena je, kao i kod preliminarnih uzoraka, simuliranjem gastrointestinalne digestije, te mjerenjem slobodne glukoze, glukoze otpuštene nakon 20 i 120 minuta enzimske hidrolize, te ukupne glukoze. Rezultati provedenih analiza sedam vrsta eksperimentalno pripremljenih keksa (srednje vrijednosti ± standardna devijacija tri paralelna određivanja) prikazani su u tablicama 25 – 28.

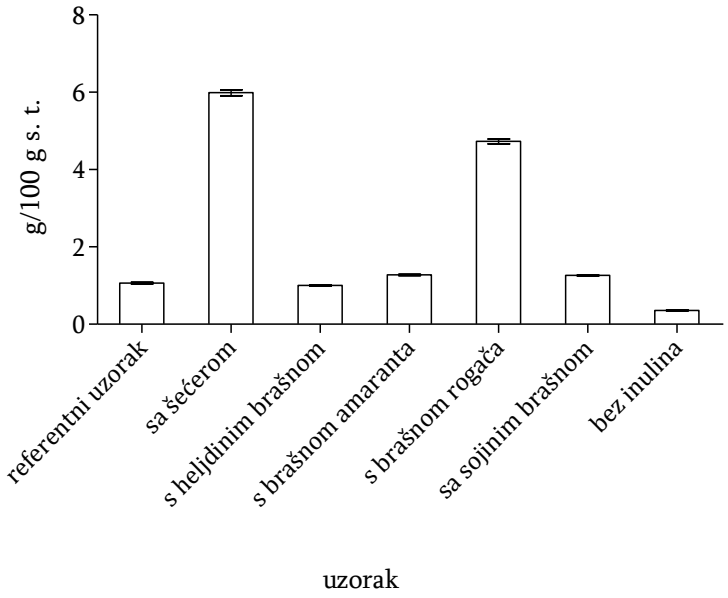
Udio slobodne glukoze, koja uključuje i glukozu iz saharoze, kreće se od 0.355 g/100 g suhe tvari u uzorku bez inulina do 5.989 g/100 g suhe tvari u uzorku sa šećerom. Modifikacija referentne recepture je kod svih uzoraka, osim kod uzorka s heljdinim brašnom i uzorka bez inulina rezultirala statistički značajnim povišenjem udjela slobodne glukoze.

Tablica 25. Udio slobodne glukoze u završnim uzorcima (FG)

uzorak	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$ *
	g/100 g suhe tvari			
referentni uzorak	1.074 ± 0.032	1.041 ± 0.035	1.071 ± 0.057	1.062 ± 0.018^{A}
uzorak sa šećerom	6.072 ± 0.084	5.922 ± 0.007	5.974 ± 0.079	5.989 ± 0.076^{B}
s heljdinim brašnom	0.994 ± 0.028	0.997 ± 0.026	1.019 ± 0.060	1.003 ± 0.014^{C}
s brašnom amaranta	1.291 ± 0.024	1.260 ± 0.085	1.271 ± 0.085	1.274 ± 0.062^{D}
s brašnom rogača	4.716 ± 0.066	4.674 ± 0.021	4.796 ± 0.050	4.728 ± 0.016^{E}
sa sojinim brašnom	1.272 ± 0.002	1.250 ± 0.037	1.261 ± 0.097	1.261 ± 0.011^{D}
bez inulina	0.373 ± 0.030	0.346 ± 0.032	0.346 ± 0.030	0.355 ± 0.015^{F}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

Obzirom da statističkom analizom nisu utvrđene značajne razlike među analiziranim serijama, njihove srednje vrijednosti prikazane su na slici 19. Najznačajniji porast udjela slobodne glukoze određen je u uzorcima sa šećerom (463.9 %) i brašnom rogača (345.3 %) dok je uklanjanje inulina iz referentne recepture rezultiralo smanjenjem udjela slobodne glukoze u završnom proizvodu za 66.5 %.



Slika 19. Slobodna glukoza u završnim uzorcima

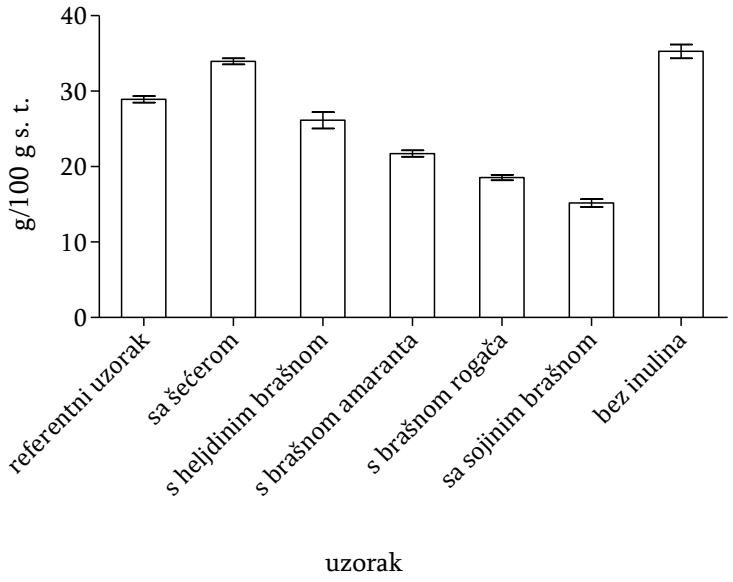
Udio glukoze otpuštene nakon 20 minuta hidrolize (G_{20} = RAG) u završnim uzorcima kreće se od 15.168 g/100 g s.t. u uzorku pripremljenim sa sojinim brašnom do 35.271 g/100 g s.t. u uzorku bez inulina (tablica 26). Statističkom analizom je kod svih uzoraka, u odnosu na referentni, utvrđen pad udjela G_{20} osim kod keksa sa šećerom i bez dodatka inulina gdje je utvrđen statistički značajan porast udjela G_{20}.

Tablica 26. Udio glukoze oslobođene nakon 20 min hidrolize u ispitivanim uzorcima

uzorak	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$ *
	g/100 g suhe tvari			
referentni uzorak	28.447 ± 1.595	29.310 ± 0.319	29.002 ± 0.273	28.920 ± 0.437^{A}
uzorak sa šećerom	33.518 ± 1.703	34.067 ± 0.138	34.294 ± 0.925	33.960 ± 0.399^{B}
s heljdinim brašnom	25.056 ± 1.799	27.212 ± 0.174	26.147 ± 0.191	26.138 ± 1.078^{C}
s brašnom amaranta	21.783 ± 0.766	21.279 ± 1.567	22.133 ± 0.438	21.732 ± 0.429^{D}
s brašnom rogača	18.436 ± 0.747	18.946 ± 0.630	18.259 ± 0.116	18.547 ± 0.357^{E}
sa sojinim brašnom	15.556 ± 0.743	14.573 ± 0.901	15.364 ± 0.558	15.168 ± 0.525^{F}
bez inulina	35.565 ± 1.589	36.016 ± 0.163	34.233 ± 0.379	35.271 ± 0.927^{G}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

Srednje vrijednosti analiziranih serija prikazane su na slici 20. Uvođenje sojinog brašna, odnosno brašna rogača rezultiralo je najznačajnijim sniženjem udjela G_{20} (47.55 %, odnosno 35.87 %), a uklanjanje inulina iz referentne recepture dovelo je do porasta udjela G_{20} od 21.96 %.



Slika 20. Glukoza otpuštena nakon 20 minuta hidrolize

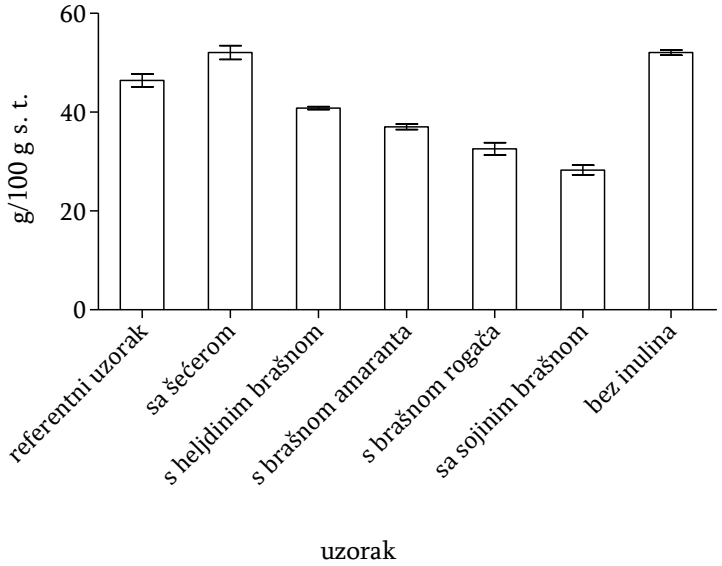
Iz rezultata je vidljivo (tablica 27) da je najniža koncentracija glukoze oslobođena nakon 120 min inkubacije s probavnim enzimima utvrđena kod keksa pripremljenog sa sojinim brašnom (28.288 g/100 g s.t.), a najveća kod keksa sa šećerom (52.057 g/100 g s.t).

Tablica 27. Udio glukoze oslobođene nakon 120 min hidrolize u ispitivanim keksima (G_{120})

uzorak	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$ *
	g/100 g suhe tvari			
referentni uzorak	45.156 ± 0.474	46.364 ± 2.551	47.726 ± 1.317	46.415 ± 1.286^{A}
uzorak sa šećerom	50.624 ± 1.469	53.411 ± 1.229	52.137 ± 0.523	52.057 ± 1.395^{B}
s heljdinim brašnom	40.886 ± 0.949	40.495 ± 1.477	41.115 ± 0.585	40.832 ± 0.314^{C}
s brašnom amaranta	36.794 ± 0.872	37.669 ± 0.926	36.668 ± 0.293	37.044 ± 0.545^{D}
s brašnom rogača	31.285 ± 0.232	33.742 ± 1.417	32.707 ± 0.834	32.578 ± 1.234^{E}
sa sojinim brašnom	27.385 ± 0.001	29.320 ± 1.417	28.159 ± 0.637	28.288 ± 0.974^{F}
bez inulina	51.448 ± 1.219	52.374 ± 0.904	52.358 ± 0.431	52.060 ± 0.530^{B}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

Značajno niže koncentracije G_{120} u odnosu na referentnu recepturu određene su u svim analiziranim uzorcima keksa, osim u uzorcima sa šećerom i bez inulina (slika 21). Najznačajniji pad udjela G_{120} postignut je uvođenjem sojinog brašna (39.05 %), dok je najveći i podjednak rast udjela G_{120} zabilježen kod uzoraka sa šećerom i bez dodatka inulina (12.16 %).



Slika 21. Glukoza otpuštena nakon 120 minuta hidrolize

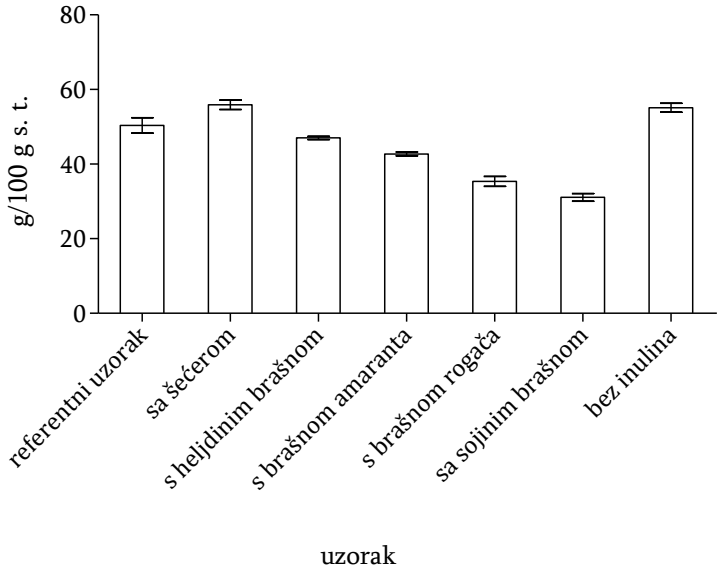
Ukupna glukoza je određena nakon potpune enzimske hidrolize, želatinizacije i razgradnje retrogradirane amiloze, odnosno nakon potpune razgradnje škroba. Promjena sirovinskoga sastava keksa rezultirala je udjelima ukupne glukoze koji su se kretali od 31.075 g/100 g s.t. u uzorku sa sojinim brašnom do 55.916 g/100 g s.t. u uzorku sa šećerom (tablica 28).

Tablica 28. Udio ukupne glukoze u ispitivanim uzorcima (TG)

uzorak	serija 1	serija 2	serija 3	$\bar{x}$ *
	g/100 g suhe tvari			
referentni uzorak	48.706 ± 1.812	49.693 ± 0.782	52.701 ± 0.673	50.367 ± 2.081^{A}
uzorak sa šećerom	54.454 ± 2.363	56.537 ± 1.115	56.756 ± 0.465	55.916 ± 1.271^{B}
s heljdinim brašnom	47.167 ± 1.555	46.486 ± 0.094	47.348 ± 0.729	47.000 ± 0.454^{C}
s brašnom amaranta	42.415 ± 1.268	43.285 ± 0.386	42.438 ± 0.636	42.713 ± 0.496^{D}
s brašnom rogača	34.123 ± 0.807	36.753 ± 0.106	35.226 ± 1.741	35.367 ± 1.321^{E}
sa sojinim brašnom	29.887 ± 0.957	31.686 ± 0.157	31.652 ± 1.543	31.075 ± 1.029^{F}
bez inulina	53.823 ± 0.303	55.246 ± 1.249	56.229 ± 0.624	55.099 ± 1.210^{B}

* srednja vrijednost tri analizirane serije uzoraka ± srednja devijacija, vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

Modifikacijom referentne recepture došlo je do statistički značajnog rasta udjela ukupne glukoze u keksima sa šećerom i bez inulina (prosječno 10 %), dok su značajno niži udjeli utvrđeni kod ostalih uzoraka. Suplementacija sa sojinim brašnom rezultirala je najvećim padom u udjelu ukupne glukoze (38.30 %) u odnosu na referentni uzorak, a obzirom da statističkom analizom nisu utvrđene značajne razlike među analiziranim serijama, njihove srednje vrijednosti prikazane su na slici 22.



Slika 22. Udio ukupne glukoze u završnim uzorcima (TG)

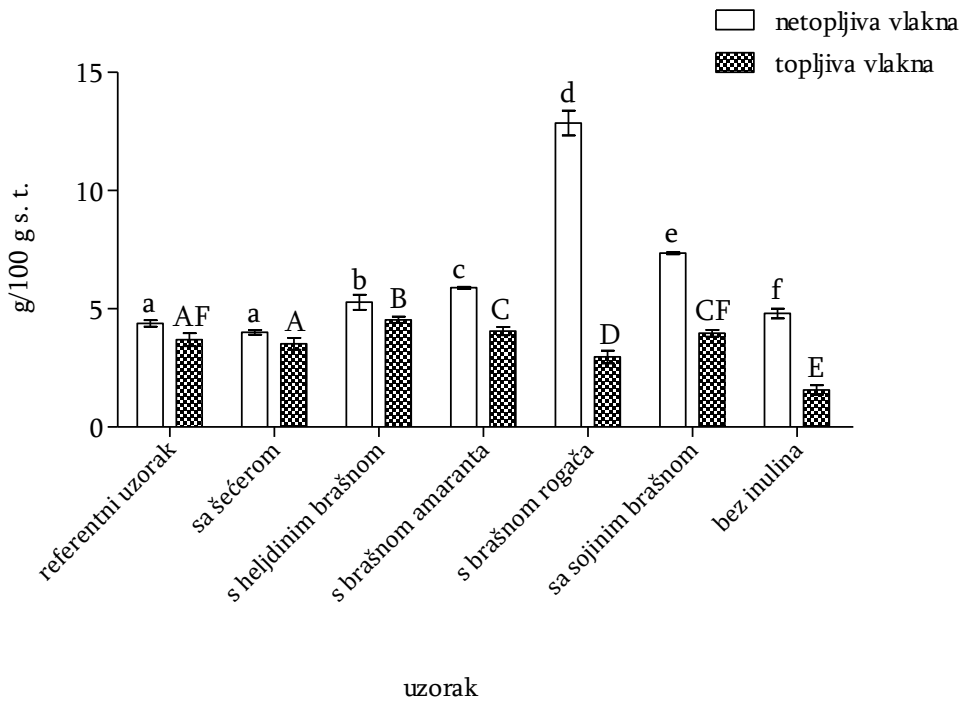
4.2.4. Udio prehrambenih vlakana (ukupnih, netopljivih i topljivih) u završnim uzorcima

U svrhu ispitivanja utjecaja sirovinskoga sastava na udio vlakana u istraživanim završnim uzorcima keksa određen je udio netopljivih i topljivih vlakana. Imajući u vidu da je udio proteina u dobivenim frakcijama vlakana bio niži od granice detekcije primijenjene metode, za izračunavanje udjela čistih vlakana korišteni su samo udjeli pepela određeni u pojedinoj frakciji sirovih vlakana. Rezultati za svaku analiziranu seriju (tablice 29 – 31) su prikazani kao standardna devijacija četiri paralelna određivanja ± standardna devijacija.

Udio netopljivih prehrambenih vlakana varira, ovisno o ispitivanoj seriji, od 3.910 g/100 g suhe tvari u uzorku sa šećerom do 13.297 g/100 g suhe tvari u keksu s brašnom rogača. U odnosu na referentni uzorak, sve modifikacije recepture rezultirale su značajnim povećanjem udjela netopljivih vlakana, osim kod uzorka sa šećerom gdje je došlo do pada udjela navedene frakcije koje međutim nije bilo statistički značajno. Najveći porast udjela netopljivih vlakana postignut je dodatkom sojinog brašna (67.78 %), odnosno brašna rogača (193.40 %).

Dodatne modifikacije završnih receptura u odnosu na preliminarne uzorke rezultirale su značajno višim udjelima topljivih vlakana unutar svih analiziranih serija, osim kod uzorka bez inulina. Dobivene vrijednosti su se kretale od 1.403 g/100 g suhe tvari u keksu bez inulina do 4.504 g/100 g suhe tvari u keksu s heljdinim brašnom. Usporedbom s referentnim uzorkom, značajno viši udjeli topljivih vlakana su postignuti dodatkom sojinog brašna, brašna amaranta i brašna heljde (porast od 7.34 %, 9.80 % i 22.83 %). Dodatak šećera nije rezultirao značajnim promjenama udjela topljive frakcije vlakana, a statistički značajan pad je zabilježen kod uzorka s brašnom rogača (19.77 %) i uzorka keksa bez inulina (57.51 %).

Obzirom da među istraživanim serijama nisu utvrđene statistički značajne razlike u udjelima netopljivih i topljivih vlakana, na slici 23 su prikazane srednje vrijednosti tri analizirane serije navedenih frakcija vlakana.



Slika 23. Udio netopljivih i topljivih vlakana u završnim uzorcima. Stupci označeni istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$), malim slovima označena su netopljiva vlakna, a velikim slovima topljiva.

Tablica 29. Udio sirovih vlakana, pepela i čistih vlakana unutar prve serije istraživanih uzoraka

uzorak	NETOPLJIVA VLAKNA			TOPLJIVA VLAKNA			UKUPNA VLAKNA*
	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	
	g/100g suhe tvari keksa						
referentni uzorak	4.787 ± 0.319	0.508 ± 0.024	4.279 ± 0.338	3.650 ± 0.152	0.244 ± 0.034	3.406 ± 0.160	7.685 ± 0.188
uzorak sa šećerom	4.468 ± 0.342	0.558 ± 0.060	3.910 ± 0.303	3.557 ± 0.293	0.239 ± 0.016	3.318 ± 0.293	7.228 ± 0.552
s heljdinim brašnom	5.854 ± 0.145	0.779 ± 0.036	5.075 ± 0.137	4.816 ± 0.181	0.392 ± 0.021	4.424 ± 0.186	9.498 ± 0.266
s brašnom amaranta	6.786 ± 0.094	0.945 ± 0.017	5.840 ± 0.100	4.469 ± 0.204	0.428 ± 0.013	4.041 ± 0.224	9.882 ± 0.128
s brašnom rogača	13.437 ± 0.428	1.162 ± 0.033	12.275 ± 0.451	3.318 ± 0.206	0.407 ± 0.016	2.911 ± 0.196	15.186 ± 0.602
sa sojinim brašnom	8.208 ± 0.143	0.901 ± 0.011	7.307 ± 0.143	4.535 ± 0.157	0.443 ± 0.019	4.092 ± 0.187	11.399 ± 0.337
bez inulina	5.331 ± 0.117	0.641 ± 0.018	4.689 ± 0.121	1.704 ± 0.151	0.194 ± 0.034	1.510 ± 0.146	6.199 ± 0.215

* udio ukupnih vlakana određen je kao suma udjela netopljivih čistih vlakana i topljivih čistih vlakana

Tablica 30. Udio sirovih vlakana, pepela i čistih vlakana unutar druge serije istraživanih uzoraka

uzorak	NETOPLJIVA VLAKNA			TOPLJIVA VLAKNA			UKUPNA VLAKNA*
	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	
	g/100g suhe tvari keksa						
referentni uzorak	4.897 ± 0.223	0.567 ± 0.014	4.329 ± 0.248	3.937 ± 0.287	0.204 ± 0.021	3.733 ± 0.303	8.062 ± 0.089
uzorak sa šećerom	4.700 ± 0.137	0.587 ± 0.029	4.112 ± 0.121	3.654 ± 0.134	0.214 ± 0.007	3.440 ± 0.130	7.552 ± 0.229
s heljdinim brašnom	5.970 ± 0.402	0.860 ± 0.036	5.110 ± 0.395	5.038 ± 0.120	0.357 ± 0.028	4.680 ± 0.121	9.790 ± 0.452
s brašnom amaranta	6.844 ± 0.122	0.950 ± 0.052	5.894 ± 0.122	4.628 ± 0.129	0.393 ± 0.006	4.235 ± 0.127	10.129 ± 0.208
s brašnom rogača	14.223 ± 0.300	1.223 ± 0.024	13.000 ± 0.311	3.638 ± 0.178	0.388 ± 0.027	3.250 ± 0.155	16.250 ± 0.106
sa sojinim brašnom	8.329 ± 0.026	0.941 ± 0.017	7.388 ± 0.022	4.400 ± 0.283	0.408 ± 0.055	3.992 ± 0.302	11.380 ± 0.253
bez inulina	5.307 ± 0.163	0.634 ± 0.008	4.673 ± 0.156	1.603 ± 0.090	0.200 ± 0.014	1.403 ± 0.073	6.076 ± 0.105

* udio ukupnih vlakana određen je kao suma udjela netopljivih čistih vlakana i topljivih čistih vlakana

Tablica 31. Udio sirovih vlakana, pepela i čistih vlakana unutar treće serije istraživanih uzoraka

uzorak	NETOPLJIVA VLAKNA			TOPLJIVA VLAKNA			UKUPNA VLAKNA*
	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	sirova vlakna	pepeo	čista vlakna	
	g/100g suhe tvari keksa						
referentni uzorak	5.094 ± 0.212	0.555 ± 0.023	4.538 ± 0.223	4.151 ± 0.380	0.209 ± 0.002	3.942 ± 0.387	8.480 ± 0.187
uzorak sa šećerom	4.584 ± 0.049	0.579 ± 0.043	4.005 ± 0.042	4.022 ± 0.303	0.218 ± 0.030	3.804 ± 0.285	7.809 ± 0.254
s heljdinim brašnom	6.482 ± 0.175	0.842 ± 0.010	5.640 ± 0.164	4.858 ± 0.132	0.354 ± 0.006	4.504 ± 0.127	10.144 ± 0.304
s brašnom amaranta	6.846 ± 0.311	0.913 ± 0.021	5.933 ± 0.299	4.273 ± 0.265	0.384 ± 0.049	3.889 ± 0.265	9.822 ± 0.494
s brašnom rogača	13.531 ± 0.384	0.234 ± 0.035	13.297 ± 0.386	3.142 ± 0.076	0.414 ± 0.063	2.728 ± 0.074	16.025 ± 0.362
sa sojinim brašnom	8.301 ± 0.055	0.941 ± 0.059	7.360 ± 0.020	4.217 ± 0.259	0.409 ± 0.035	3.809 ± 0.248	11.169 ± 0.257
bez inulina	5.680 ± 0.043	0.641 ± 0.036	5.039 ± 0.281	2.017 ± 0.201	0.224 ± 0.008	1.794 ± 0.206	6.832 ± 0.444

* udio ukupnih vlakana određen je kao suma udjela netopljivih čistih vlakana i topljivih čistih vlakana

4.2.5. Organoleptička analiza završnih uzoraka

Rezultati organoleptičke analize završnih uzoraka (tablica 32) ukazuju da je modifikacija završnih keksa kod svih uzoraka, osim kod uzorka sa sojinim brašnom rezultirala povećanjem ukupne prihvatljivosti u odnosu na referentni uzorak. Keks pripremljen s brašnom heljde ocijenjen je najboljim ocjenama (13.59 ponderirana boda) među ispitivanim uzorcima što je dovoljno za ocjenu ukupne prihvatljivosti dobar. U kategoriji vanjskog izgleda s najnižim ocjenama je ocijenjen referentni uzorak, a statistički značajno više ocjene su zabilježene kod uzorka sa šećerom, odnosno keksa s amarantom koji je najbolje ocijenjen od ispitivanih uzoraka. Modifikacija referentne recepture nije statistički značajno utjecala na kategoriju mirisa, iako su najviše ocjene utvrđene kod uzorka sa šećerom, a najniže kod keksa s brašnom rogača. U kategoriji strukture keksa, samo je uzorak sa sojinom brašnom ocijenjen značajno nižim ocjenama odnosu na referentni uzorak. Najvišim ocjenama, u kategoriji okusa, su ocijenjeni referentni uzorak i uzorak s brašnom rogača, a najnižim uzorak sa sojinim brašnom, no nije utvrđena statistički značajna razlika među ispitivanim uzorcima.

4.2.6. Određivanje glikemijskog indeksa

Rezultati određivanja glikemijskog indeksa završnih uzoraka keksa prikazani su u tablici 33. Najviše razine glukoze u krvi dobrovoljaca primijećene su 30 – 45 minuta nakon unosa ispitivanih uzoraka (slika 24), a utvrđeno je da u tim vremenima postoje i statistički značajne razlike. Najviši porast koncentracije glukoze u krvi postignut je nakon unosa keksa sa šećerom (nakon 30 min), iako uspoređujući s referentnim uzorkom ta razlika nije statistički značajna. Unos keksa sa sojinim brašnom rezultirao je prosječno najnižim vrijednostima glukoze u krvi, koja se pokazala i statistički značajnom uspoređujući s uzorkom sa šećerom (nakon 30 i 45 min), odnosno statistički značajnom usporedbom s uzorkom bez inulina (nakon 45 min). Uzevši u obzir da se hrana može klasificirati prema svom glikemijskom učinku [77] kao ona koja ima visok GI (≥ 70), srednji (56 – 69) i niski (≤ 55) u odnosu na standard (otopina glukoze, GI = 100) i ispitivani uzorci su

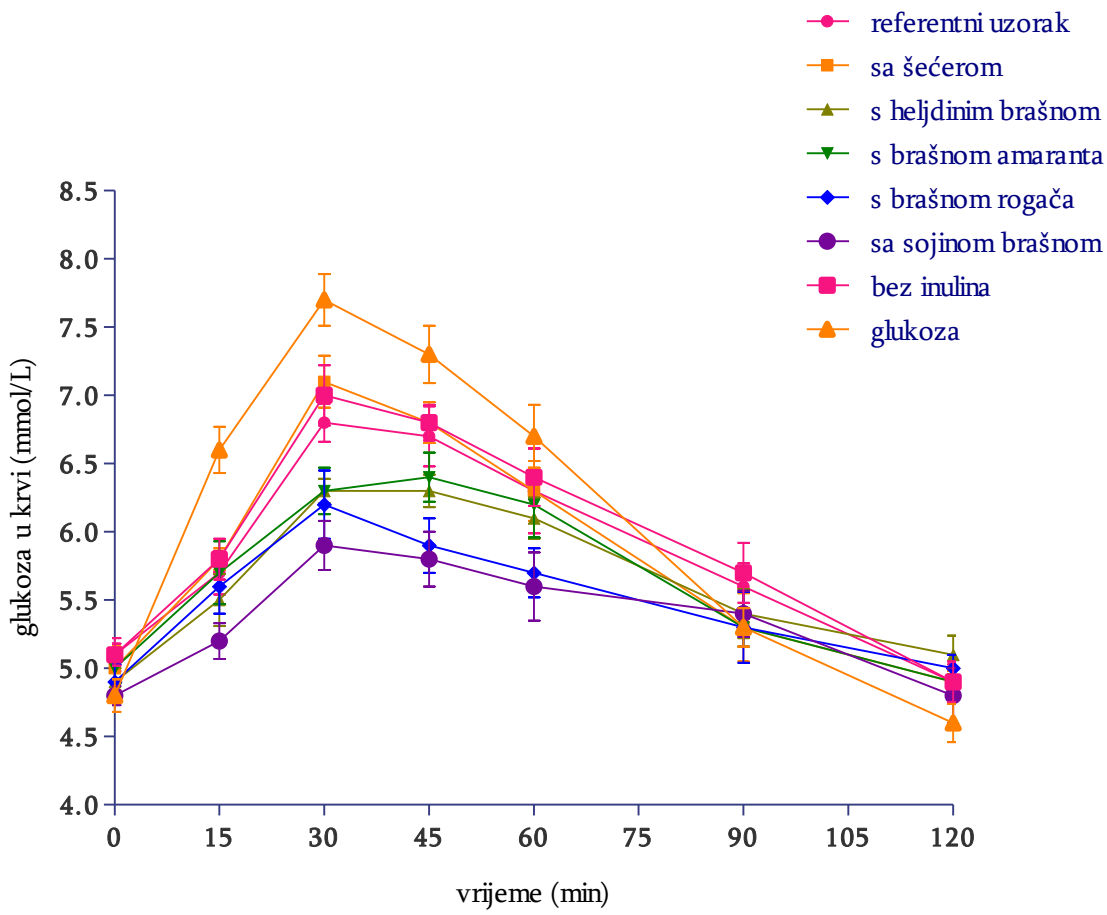
Tablica 32. Procjena organoleptičke kvalitete završnih uzoraka

uzorak	vanjski izgled (f = 0.8)		miris (f = 0.3)		struktura (f = 1.4)		okus (f = 1.5)		ukupni ponderirani bodovi**
	ocjena	ponderirani bodovi*	ocjena	ponderirani bodovi*	ocjena	ponderirani bodovi*	ocjena	ponderirani bodovi*	
referentni uzorak	2.83 ± 0.53^{A}	2.27	3.03 ± 0.71^{A}	0.91	3.33 ± 0.62^{A}	4.67	3.12 ± 0.53^{A}	4.68	12.52
uzorak sa šećerom	3.77 ± 0.71^{BC}	3.01	3.58 ± 0.68^{A}	1.08	3.42 ± 0.49^{A}	4.78	2.83 ± 0.68^{A}	4.25	13.12
s heljdinim brašnom	3.67 ± 0.48^{AB}	2.93	3.37 ± 0.55^{A}	1.01	3.58 ± 0.49^{A}	5.02	3.08 ± 0.66^{A}	4.63	13.59
s brašnom amaranta	3.92 ± 0.60^{B}	3.13	3.03 ± 0.71^{A}	0.91	3.05 ± 0.71^{A}	4.27	3.00 ± 0.75^{A}	4.50	12.81
s brašnom rogača	3.42 ± 0.78^{AB}	2.73	2.63 ± 0.79^{A}	0.79	3.17 ± 0.93^{A}	4.43	3.12 ± 0.68^{A}	4.68	12.63
sa sojinim brašnom	3.07 ± 0.55^{AB}	2.45	2.88 ± 0.54^{A}	0.87	1.92 ± 0.93^{B}	2.68	2.50 ± 0.77^{A}	3.75	9.75
bez inulina	3.00 ± 0.55^{AC}	2.40	2.75 ± 0.83^{A}	0.83	3.48 ± 0.82^{A}	4.88	3.03 ± 0.48^{A}	4.55	12.65

* ponderirani bodovi dobiveni su umnoškom ocjene i pripadajućeg faktora važnosti za pojedinu organoleptičku značajku; vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

** ukupni ponderirani bodovi određeni su kao suma ponderiranih bodova pojedine organoleptičke karakteristike

kategorizirani, tako da referentni uzorak, uzorak sa šećerom, sa heljdom i bez inulina imaju srednji GI, dok niski GI imaju keksi pripremljeni sa brašnom amaranta, soje ili rogača. Niti jedan ispitivani uzorak keksa nema visok glikemijski indeks. Iako je vidljivo da postoji širok raspon vrijednosti GI među analiziranim keksima, statističkom analizom ta razlika nije potvrđena zbog velikog rasipanja među rezultatima.



Slika 24. Razine glukoze u krvi deset zdravih dobrovoljaca tijekom 120 minuta nakon konzumacije glukoze i ispitivanih keksa

Tablica 33. Koncentracije glukoze u krvi zdravih dobrovoljaca tijekom 120 min nakon unosa ispitivanog keksa i glikemijski indeks (GI) uzoraka keksa uz glukozu kao standard (GI = 100)

uzorak	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min	GI*
	glukoza u krvi ($mmolL^{-1}$)*							
referentni uzorak	5.1 ± 0.1^{A}	5.7 ± 0.2^{A}	6.8 ± 0.2^{AB}	6.7 ± 0.1^{AB}	6.3 ± 0.2^{A}	5.6 ± 0.3^{A}	4.9 ± 0.2^{A}	60.1 ± 4.8^{A}
uzorak sa šećerom	5.0 ± 0.2^{A}	5.8 ± 0.1^{A}	7.1 ± 0.2^{A}	6.8 ± 0.2^{B}	6.3 ± 0.2^{A}	5.3 ± 0.3^{A}	4.9 ± 0.1^{A}	65.8 ± 5.6^{A}
s heljdinim brašnom	4.9 ± 0.1^{A}	5.5 ± 0.2^{A}	6.3 ± 0.3^{AB}	6.3 ± 0.1^{AB}	6.1 ± 0.2^{A}	5.4 ± 0.2^{A}	5.1 ± 0.2^{A}	58.7 ± 6.2^{A}
s brašnom amaranta	5.0 ± 0.1^{A}	5.7 ± 0.3^{A}	6.3 ± 0.2^{AB}	6.4 ± 0.2^{AB}	6.2 ± 0.3^{A}	5.3 ± 0.2^{A}	4.9 ± 0.2^{A}	52.5 ± 5.9^{A}
s brašnom rogača	4.9 ± 0.1^{A}	5.6 ± 0.2^{A}	6.2 ± 0.3^{AB}	5.9 ± 0.3^{AB}	5.7 ± 0.2^{A}	5.3 ± 0.3^{A}	5.0 ± 0.1^{A}	46.8 ± 6.0^{A}
sa sojinim brašnom	4.8 ± 0.2^{A}	5.2 ± 0.1^{A}	5.9 ± 0.2^{B}	5.8 ± 0.2^{A}	5.6 ± 0.3^{A}	5.4 ± 0.2^{A}	4.8 ± 0.2^{A}	44.9 ± 5.3^{A}
bez inulina	5.1 ± 0.1^{A}	5.8 ± 0.2^{A}	7.0 ± 0.3^{AB}	6.8 ± 0.3^{B}	6.4 ± 0.2^{A}	5.7 ± 0.2^{A}	4.9 ± 0.2^{A}	66.9 ± 4.6^{A}

*srednja vrijednost ± standardna greška aritmetičke sredine (n = 10), vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

5. RASPRAVA

Keksi su namirnica koja se konzumira širom svijeta unutar svih populacija zahvaljujući ugodnom okusu, dostupnosti, prihvatljivoj cijeni, mogućnosti duljeg korištenja i neposrednoj upotrebi [112]. Energijski gledano, keks je vrlo bogata namirnica jer sadrži visok udio masti i šećera kako bi bio privlačniji okusom, te njegova redovita konzumacija može dovesti do pretilosti, a time i povećanog rizika za razvoj dijabetesa tipa 2, visokog kolesterola i koronarnih bolesti. Danas, u doba velikog interesa i potražnje za funkcionalnom hranom i nutraceuticima postavljeni su novi zahtjevi za konditorske proizvode, uključivši kekse, kao što su dodatni pozitivni učinci na zdravlje uz zadržavanje tradicionalnih nutritivnih i organoleptičkih aspekata hrane.

Do danas postoje brojna istraživanja koja se bave ispitivanjem tehnoloških mogućnosti u stvaranju proizvoda sa smanjenim udjelom masti i šećera, ali zadržanih organopleptičkih svojstava obzirom da redukcija spomenutih sastojaka nužno negativno utječe na teksturu i organoleptiku konditorskih proizvoda. Mast osigurava aromu, te doprinosi izgledu, teksturi i okusu, dok je saharoza jedan od najvažnijih sastojaka koji osigurava volumen, teksturu, boju i slatkoću [113]. Sudha i suradnici su određen dio masti zamijenili maltodekstrinom ili polidekstrozom te utvrdili da se dodatkom glicerola ili guar gume može postići kakvoća tijesta i keksa jednaka onoj originalne recepture [114]. Nadalje, Conforti i suradnici [115] ispitivali su utjecaj djelomične do potpune zamjene masti s tri različite sirovine (Slendid, TrimChoice-5 i Kel-Lite BK) na senzorsku kvalitetu tradicionalnog keksa. U iste svrhe se istražuje i upotreba sirovina kao što su pire bijelog graha [116] i pire avokada [117], sirovine koje su se pokazale ne samo kao prihvatljive zamjene za masti, već i kao sirovine visoke nutritivne vrijednosti, niske cijene i dostupnosti. Također, istražuju se i načini smanjenja udjela šećera u keksima korištenjem različitih zamjena kao što su oligofruktoza [118] i polioli. Zoulias i suradnici [119] zaključili su da se saharoza u keksu s niskim udjelom masti može zamijeniti poliolima (maltitolom, laktitolom ili sorbitolom) u svrhu dobivanja prihvatljivih karakteristika završnog proizvoda, no nešto niže slatkoće, a dodatkom acesulfama-K u takav proizvod postiže se veća slatkoća i ukupna prihvatljivost keksa. Mnoga istraživanja su usmjerena na kreiranje keksa poboljšanih i nutritivnih, a ne samo teksturalnih i organoleptičkih karakteristika. Ispitana je mogućnost korištenja prebiotika arabinoksilan oligosaharida kao zamjene za saharozu u keksima čime se ne samo smanjuje udio šećera, već i povećava udio

prehrambenih vlakana [120]. Brojna poboljšanja nutritivne kvalitete keksa temelje se na zamjeni određenog udjela pšeničnog brašna različitim sirovinama visoke nutritivne vrijednosti. Uvođenje do 20 % odmašćenog sojinog brašna umjesto rafiniranog pšeničnog brašna rezultira poboljšanim nutritivnim statusom zahvaljujući visokom sadržaju proteina, ali i sniženom udjelu ukupnih ugljikohidrata uz istovremeni porast ukupne prihvatljivosti i fizikalnih karakteristika keksa [121]. Mishra i Chandra [122] su suplementacijom 30 % sojinog brašna i rižinih mekinja (1:1) poboljšali nutritivnu kvalitetu keksa povišenjem udjela proteina, prehrambenih vlakana i minerala bez negativnog utjecaja na senzorske parametre, a isti rezultati dobiveni su i uvođenjem 15 % brašna gorušice u standardnu recepturu keksa [123]. Srivastava i Yadav [124] su korištenjem 50 % brašna slatkog krumpira umjesto pšeničnog brašna u proizvodnji keksa postigli ne samo viši udio prehrambenih vlakana, već i višu ukupnu prihvatljivost. Suplementacija keksa s heljdinim brašnom [125] rezultirala je značajnim porastom količine proteina, cinka, ukupnih polifenola i antioksidativne aktivnosti, dok je dodatak amaranta rezultirao boljom senzoričkom kvalitetom keksa i značajno višim udjelom lizina, limitirajućom aminokiselinom u žitaricama [126]. Uvođenje mekinja (pšenice, riže, zobi ili ječma) pokazalo se kao dobar izvor prehrambenih vlakana [112], a istraživan je i učinak dodatka čistih prehrambenih vlakana različitog porijekla na probavljivost proteina, udio polifenola, fitinske kiseline i antioksidativni potencijal keksa na bazi pšeničnog brašna [127]. Kreiranje funkcionalnog keksa nastoji se postići i uvođenjem vitamina (B_6, B_{12}, folna kiselina i vitamin C) i prebiotskih vlakana u tradicionalnu recepturu keksa uz smanjenje udjela masti i šećera [128], a kliničkim pokusima dokazano je i da takav modificirani keks dovodi do nižih postprandijalnih razina glukoze i homocisteina u serumu ispitanika čije visoke razine predstavljaju faktor rizika za razvoj koronarnih bolesti [129].

Razvoj funkcionalne hrane posljednjih je godina u punom zamahu, a obzirom na rastuću epidemiju pretilosti i dijabetesa tipa 2 širom svijeta sve se više pažnje posvećuje kreiranju proizvoda niskog glikemijskog indeksa. U tu svrhu su Maragoni i Poli [130] obogatili tradicionalni keks mješavinom prehrambenih vlakana čime su smanjili glikemijski indeks konačnog proizvoda za 41 %, a Jenkins i suradnici [131] su zaključili da mješavina viskoznih vlakana (PGX®) dodana u recepturu keksa snižava njegov glikemijski indeks za 74 % kod zdravih ispitanika i 63 % kod ispitanika s dijabetesom. Obzirom na

saznanja o postojanju čvrste veze između stupnja probavljivosti škroba i GI, do danas postoje rijetki pokušaji da se promjenom njegove hidrolize utječe na glikemijski indeks namirnice. Implementacija eksperimentalnih sastojaka bogatih rezistentnim škrobom [132, 133] u recepturu keksa rezultirala je sniženjem probavljivosti škroba, kao i *in vitro* predviđenim glikemijskim indeksom. Agama-Acevedo i suradnici [134] istraživali su utjecaj zamjene različitih udjela pšeničnog brašna u recepturi keksa brašnom nezrelih banana što je dovelo do višeg udjela prehrambenih vlakana i nižeg predviđenog glikemijskog indeksa, ali je negativno utjecalo na udio proteina.

U okviru ovog doktorskog rada, istraživana je mogućnost poboljšanja tradicionalne recepture dijetalnog keksa uvođenjem novih sirovina baziranih na integralnim žitaricama, pseudožitaricama, leguminozama ili čistim prehrambenim vlaknima uz istovremeno održanje zadovoljavajućih organoleptičkih karakteristika. Predložene modifikacije usmjerene su prvenstveno na smanjenje glikemijskog indeksa uz istovremeno povećanje nutritivne kvalitete i funkcionalnih svojstava konačnog proizvoda povišenjem udjela prehrambenih vlakana, rezistentnog škroba i udjela proteinske komponente uz istovremeno smanjenje lipidne komponente i ukupne energijske vrijednosti.

U laboratorijskim uvjetima pripremljeno je devet tipova keksa (u tri serije) baziranih na integralnom pšeničnom brašnu dodatno obogaćenih različitim integralnim sirovinama ili prehrambenim vlaknima. Na temelju njihovog makronutritivnog sastava (udio proteina, lipida, pepela, ugljikohidrata i prehrambenih vlakana), utvrđene ukupne energijske vrijednosti i energijskih doprinosa pojedinih makronutritivnih sastavnica, procjene glikemijskog učinka (*in vitro* probavljivost škroba) i organoleptičke procjene izabrane su i dodatno modificirane preliminarne recepture. Završni uzorci (sedam tipova u tri serije) pripremljeni su s osnovnim ciljem ispitivanja mogućnosti dobivanja keksa nižeg glikemijskog indeksa i ukupne energijske vrijednosti uz istovremeno održanje nutritivne i organoleptičke kvalitete što se nastojalo postići smanjenjem udjela masti, smanjenjem udjela izomalta/šećera, te dodatkom 10 % inulina. U svrhu procjene funkcionalnosti završnog proizvoda, u završnim uzorcima određen je makronutritivni sastav, procjenjen energijski doprinos, određena *in vitro* probavljivost proteina i škroba, utvrđen glikemijski indeks, te ispitan utjecaj promjene sirovinskoga sastava na organoleptičku kvalitetu.

5.1. UTJECAJ SIROVINSKOGA SASTAVA NA MAKRONUTRITIVNE SASTAVNICE UZORAKA I NJIHOVU ENERGIJSKU VRIJEDNOST

Utjecaj sirovinskoga sastava na makronutritivne komponente eksperimentalnih keksa i energijska vrijednost pojedinih makronutritivnih sastavnica istraživanih uzoraka prikazani su u tablicama 34 i 35. Energijski doprinosi pojedinih makronutrijenata izračunati su prema preporukama FAO primjenom sistema Atwaterovih konverzijskih faktora [99]. Faktori konverzije koji su korišteni iznosili su 4 $kcalg^{-1}$ za ugljikohidrate, odnosno proteine, 9 $kcalg^{-1}$ za lipide i 2 $kcalg^{-1}$ za prehrambena vlakna. Energijska vrijednost izomalta, korištenog kao zamjena za šećer iznosi 2.1 $kcalg^{-1}$ [55], a inulina 1.5 $kcalg^{-1}$ [135].

Tablica 34. Makronutritivni sastav, energijski doprinosi pojedinih sastavnica i ukupna energijska vrijednost (UE) preliminarnih uzoraka

uzorak		proteini	lipidi	pepeo	izomalt	PV*	DUH**	UE kcal/100g
referentni uzorak	g/100 g	9.68	18.64	1.84	15.0	6.60	48.25	444.2
	% UE	8.7	37.8	0.0	7.1	3.0	43.4	
uzorak sa šećerom	g/100 g	9.64	18.49	1.85	0.0	6.30	63.72	472.5
	% UE	8.2	35.2	0.0	0.0	2.7	54.0	
sa zobenim brašnom	g/100 g	9.95	19.30	2.10	15.0	8.43	45.22	442.7
	% UE	9.0	39.2	0.0	7.1	3.8	40.9	
s ječmenim brašnom	g/100 g	10.61	18.62	2.02	15.0	9.41	44.35	437.7
	% UE	9.7	38.3	0.0	7.2	4.3	40.5	
s heljdinim brašnom	g/100 g	10.82	18.58	2.03	15.0	8.17	45.40	439.9
	% UE	9.8	38.0	0.0	7.2	3.7	41.3	
s brašnom amaranta	g/100 g	10.96	19.46	2.19	15.0	7.60	44.79	444.8
	% UE	9.9	39.4	0.0	7.1	3.4	40.3	
sa sojinim brašnom	g/100 g	14.67	22.81	2.82	15.0	10.57	34.14	453.1
	% UE	12.9	45.3	0.0	7.0	4.7	30.1	
sa zobenim vlaknima	g/100 g	7.98	18.42	1.91	15.0	16.18	40.51	423.6
	% UE	7.5	39.1	0.0	7.4	7.6	38.3	
s jabučnim vlaknima	g/100 g	8.68	18.88	1.93	15.0	12.57	42.94	433.0
	% UE	8.0	39.2	0.0	7.3	5.8	39.7	

* udio prehrambenih vlakana; ** udio dostupnih ugljikohidrata

Prikazani rezultati ukazuju da obogaćivanje referentnog keksa različitim integralnim sirovinama ili prehrambenim vlaknima rezultira značajnim povećanjem udjela određenih nutritivnih parametara. Količina ukupnih proteina je značajno povećana u svim uzorcima obogaćenim integralnim brašnima (naročito sojinim), kao što se i očekivalo, zahvaljujući višim udjelima proteina u korištenim sirovinama u odnosu na bijelo pšenično brašno. Nasuprot tome, uvođenje čistih zobenih, odnosno jabučnih vlakana u referentnu recepturu značajno snižava udjele proteina u konačnom proizvodu, no istovremeno rezultira najvećim povećanjem udjela ukupnih prehrambenih vlakana. Važno je naglasiti da svi eksperimentalni keksi (preliminarni i završni) sadrže više od 6 g vlakana u 100 g suhe tvari uzorka čime se svrstavaju u namirnice bogate prehrambenim vlaknima prema EU regulativi 1924/2006 [136]. Konzumacija preliminarnih keksa zadovoljava od 25.2 do 64.7 %, a završnih od 30.1 do 63.4 % preporučenog dnevnog unosa prehrambenih vlakana (25 g dnevno) te se time mogu smatrati vrlo dobrim izvorom vlakana u svakodnevnoj prehrani. Može se primijetiti da, iako u završnim recepturama više nisu korištena čista prehrambena vlakna, dobrim odabirom sirovina postignut je podjednak učinak što se tiče udjela ukupnih prehrambenih vlakana, s tim da su značajno povećani udjeli topljive frakcije koja ima više pozitivnih učinaka na ljudsko zdravlje od netopljive. Dobiveni rezultati ukazuju da kod kreiranja proizvoda s višim udjelima prehrambenih vlakana korištenje integralnih sirovina nudi više prednosti u odnosu na upotrebu pročišćenih vlakana. Naime, uz povećanje udjela prehrambenih vlakana postižu se i brojna nutritivna i protektivna poboljšanja, kao što su porast udjela proteina, povećani udjeli i biodostupnost mikroelemenata i elemenata u tragovima, poboljšana antioksidativna aktivnost, te povećani udjeli polifenola i drugih bioaktivnih sastojaka [137, 138].

Kalorijska vrijednost preliminarnih uzoraka varira od 423.6 kcal/100 g u keksu sa zobenim vlaknima do 472.5 kcal/100 g u keksu sa šećerom, a imajući u vidu prihvatljive doprinose makronutrijenata ukupnoj energiji namirnice, odnosno razinu unosa za određeni izvor energije koji je povezan sa smanjenim rizikom od kroničnih bolesti uz osiguranje unosa esencijalnih nutrijenata [139] možemo zaključiti da preliminarni keksi ne predstavljaju uravnotežen izvor energije obzirom da je doprinos energije od proteina niži (osim uzorka sa sojom), a od lipida nešto viši od preporučenih. Na temelju rezultata

preliminarnih uzoraka kreirane su recepture za završne uzorke u kojima je smanjen udio lipida i izomalta/šećera, a u recepturu je uveden i inulin, sirovina niskog energijskog doprinosa.

Tablica 35. Makronutritivni sastav, energijski doprinosi pojedinih sastavnica i ukupna energijska vrijednost (UE) završnih uzoraka

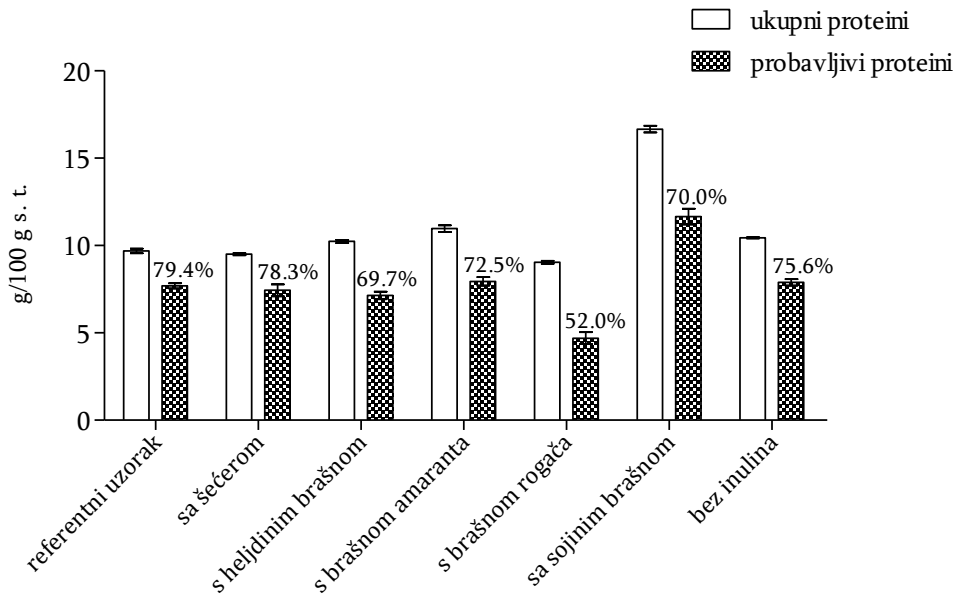
uzorak		proteini	lipidi	pepeo	inulin*	izomalt	PV**	DUH***	UE kcal/100g
referentni uzorak	g/100g	9.69	12.36	1.84	10.4	10.0	8.08	47.63	393.3
	% UE	9.9	28.3	0.0	4.0	5.3	4.1	48.4	
uzorak sa šećerom	g/100g	9.50	12.39	1.75	10.4	0.0	7.53	58.43	413.9
	% UE	9.2	26.9	0.0	3.8	0.0	3.6	56.5	
s heljdinim brašnom	g/100g	10.24	12.25	2.06	10.4	10.0	9.81	45.24	388.4
	% UE	10.5	28.4	0.0	4.0	5.4	5.1	46.6	
s brašnom amaranta	g/100g	10.97	13.54	2.30	10.4	10.0	9.94	42.85	393.6
	% UE	11.1	31.0	0.0	4.0	5.3	5.1	43.5	
s brašnom rogača	g/100g	9.04	11.96	2.26	10.4	10.0	15.82	40.52	374.1
	% UE	9.7	28.8	0.0	4.2	5.6	8.5	43.3	
sa sojinim brašnom	g/100g	16.66	17.61	2.80	10.4	10.0	11.32	31.21	409.2
	% UE	16.3	38.7	0.0	3.8	5.1	5.5	30.5	
bez inulina	g/100g	10.44	13.05	1.81	0.0	15.0	6.37	53.33	416.8
	% UE	10.0	28.2	0.0	0.0	7.6	3.1	51.2	

* udio inulina u uzorcima prikazan je zasebno obzirom da se inulin ne može odrediti metodom korištenom za određivanje udjela prehrambenih vlakana (PV); **udio prehrambenih vlakana; ***udio dostupnih ugljikohidrata (DUH)

Rezultati analize pokazali su značajno smanjenje ukupne energijske vrijednosti završnih uzoraka, te je tako ona kod referentnog završnog uzorka u odnosu na referentni preliminarni uzorak snižena za 11.5 % (kalorijske vrijednosti završnih uzoraka kreću se od 374.1 kcal/100 g u keksu sa brašnom rogača do 416.8 kcal/100 g u keksu bez inulina). Također, ostvareno je povećanje doprinosa energije od proteina za približno 14 % i sniženje doprinosa energije od masti za 25 % čime je postignut gotovo optimalno uravnotežen izvor energije od pojedinih makronutrijenata. Uvođenje sojinog brašna bogatog proteinima visoke biološke vrijednosti, pokazalo se dobrim izborom za osiguranje unosa tog važnog makronutrijenta u svakodnevnu prehranu, ali je zamijećeno i da uzorci sa sojinim brašnom sadrže i najviše udjele lipida, što je posljedica korištenja punomasnog

sojinog brašna, koje je međutim bogato nezasićenim masnim kiselinama te se njegovim korištenjem ne narušava nutritivna vrijednost proizvoda.

Jedan od ciljeva obogaćivanja referentne recepture, osim poboljšanja nutritivne vrijednosti keksa obzirom na udio ukupnih proteina, bio je i poboljšanje njegove probavljivosti. Dok je udio ukupnih proteina značajno povećan u odnosu na referentni uzorak u svim keksima osim u uzorcima sa šećerom i brašnom rogača, udio probavljivih veći je samo u uzorcima bez inulina, s brašnom amaranta i uzorku s brašnom soje (slika 25).



Slika 25. Udio ukupnih i probavljivih proteina u ispitivanim uzorcima. Brojčane vrijednosti predstavljaju probavljivost proteina koja je izračunata kao postotak probavljivih u odnosu na udio ukupnih proteina za pojedini uzorak.

Najveće sniženje udjela probavljivih proteina u odnosu na ukupne za pojedini keks utvrđeno je kod uzorka sa sojinim brašnom (30.0 %), heljdinim brašnom (30.3 %) i brašnom rogača (48.0 %) što je u skladu s literaturnim podacima za slične tipove proizvoda [140, 141]. Na probavljivost proteina negativno utječu visoke razine netopljivih vlakana (keks s brašnom rogača), ali i/ili visoke razine antinutritivnih faktora kao što su inhibitor tripsina prisutan u soji [142], odnosno inhibitor proteaze i tanini prisutni u heljdi [22], te naročito u rogaču [143] što objašnjava dobivene rezultate.

5.2. Nutritivno značajne frakcije škroba u preliminarnim uzorcima

Obzirom da je razina i stupanj probavljivosti škroba većinom pod utjecajem njegovog botaničkog porijekla koje određuje omjer amiloza – amilopektin, kao i strukturni tip granula škroba [144], mijenjanjem recepture keksa uvođenjem integralnog brašna različitog porijekla umjesto bijelog pšeničnog brašna nastojalo se promijeniti stupanj hidrolize škroba, odnosno posljedično smanjiti glikemijski indeks konačnog proizvoda.

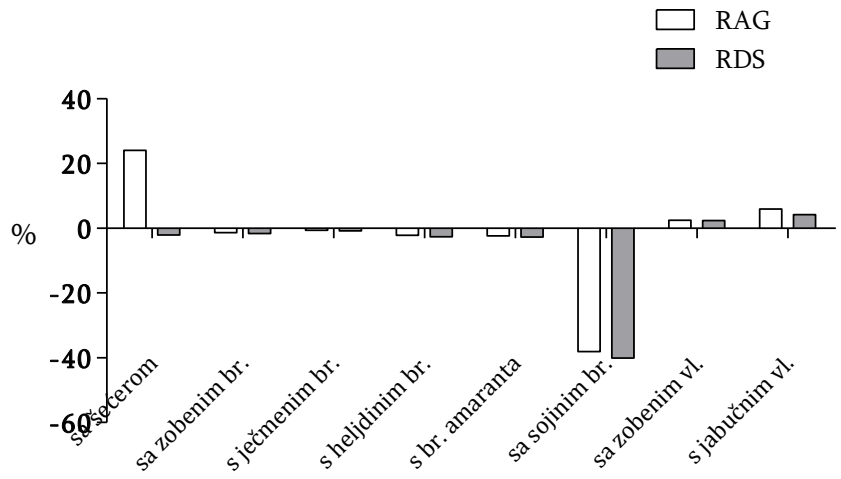
Analizom rezultata utvrđene su značajne razlike između pojedinih frakcija škroba, kao i udjelima ukupnog škroba među ispitivanim keksima (tablica 36).

Tablica 36. *In vitro* probavljivost škroba i udio ukupnog škroba u ispitivanim uzorcima

uzorak	tehnološka faza	RDS	SDS	RS	TS
		g/100 g suhe tvari*			
referentni uzorak	tijesto	23.86 ± 0.57^{ae}	19.41 ± 0.20^{a}	2.06 ± 0.86^{ab}	45.32 ± 0.53^{a}
	keks	28.72 ± 0.30^{A}	14.23 ± 0.52^{A}	3.05 ± 0.23^{A}	46.00 ± 0.77^{A}
uzorak sa šećerom	tijesto	22.98 ± 0.42^{b}	19.95 ± 0.93^{a}	2.37 ± 0.26^{ac}	45.30 ± 0.27^{a}
	keks	28.11 ± 0.19^{BG}	14.00 ± 0.56^{A}	3.16 ± 0.12^{A}	45.28 ± 0.44^{AE}
sa zobenim brašnom	tijesto	23.97 ± 0.08^{ae}	16.34 ± 0.97^{be}	2.86 ± 0.71^{a}	43.16 ± 0.37^{b}
	keks	28.23 ± 0.17^{BG}	12.59 ± 0.25^{BD}	3.33 ± 0.26^{A}	44.14 ± 0.17^{BD}
s ječmenim brašnom	tijesto	24.60 ± 0.36^{cf}	15.91 ± 0.54^{bd}	2.79 ± 0.67^{a}	43.30 ± 0.54^{b}
	keks	28.46 ± 0.10^{AB}	11.76 ± 0.65^{C}	3.80 ± 0.08^{B}	44.02 ± 0.83^{BD}
s heljdinim brašnom	tijesto	24.95 ± 0.23^{c}	18.46 ± 0.40^{c}	1.96 ± 0.66^{ab}	45.38 ± 0.58^{a}
	keks	27.96 ± 0.09^{G}	12.80 ± 0.43^{D}	4.07 ± 0.28^{B}	44.82 ± 0.35^{DE}
s brašnom amaranta	tijesto	25.16 ± 0.12^{c}	15.37 ± 0.42^{d}	1.99 ± 0.17^{ab}	42.52 ± 0.37^{b}
	keks	27.93 ± 0.31^{G}	11.85 ± 0.27^{BC}	3.79 ± 0.17^{B}	43.56 ± 0.22^{B}
sa sojinim brašnom	tijesto	13.40 ± 0.27^{d}	16.97 ± 0.29^{e}	1.03 ± 0.79^{b}	31.40 ± 0.85^{c}
	keks	17.21 ± 0.23^{C}	12.96 ± 0.51^{D}	1.37 ± 0.24^{C}	31.54 ± 0.47^{C}
sa zobenim vlaknima	tijesto	23.48 ± 0.36^{ab}	15.57 ± 0.14^{bd}	1.69 ± 0.94^{cb}	40.74 ± 0.46^{d}
	keks	29.40 ± 0.29^{E}	9.08 ± 0.53^{E}	2.10 ± 0.42^{D}	40.58 ± 0.76^{F}
s jabučnim vlaknima	tijesto	24.25 ± 0.73^{ef}	14.13 ± 0.29^{f}	1.88 ± 0.55^{ab}	40.25 ± 0.64^{d}
	keks	29.90 ± 0.28^{F}	8.81 ± 0.50^{E}	2.18 ± 0.20^{D}	40.89 ± 0.39^{F}

* vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$), malim slovima označena su tijesta, a velikim slovima keksi

Na slici 26 prikazan je utjecaj modifikacije referentne recepture na udio brzo dostupne glukoze (RAG = G_{20}) i brzo probavljivog škroba (RDS).



Slika 26. Promjene udjela RAG i RDS (%) u odnosu na referentni uzorak. Kod svih uzoraka (osim kod uzorka s ječmenim brašnom) utvrđena je statistički značajna promjena ($p < 0.05$).

Vidljivo je da je najviši porast udjela RAG u uzorku sa šećerom (24.06 %) što je i očekivano obzirom da je glukoza sastavni dio saharoze. Implementacija integralnih sirovina u referentnu recepturu rezultirala je sniženjem udjela RAG i RDS, s najvećim utjecajem kod uzorka sa sojinim brašnom (38.07 % i 40.07 %), djelomično i kao rezultat sniženja količine ukupnog škroba. Dobiveni podaci u skladu su sa činjenicom da prisutnost proteina i lipida na površini granule škroba (od istraživanih sirovina sojino brašno je najbogatije navedenim sastojcima) smanjuje stupanj enzimske hidrolize smanjujući dostupnu površinu blokiranjem adsorpcijskih mjesta [145]. Navedene tvrdnje potkrijepljene su analizom povezanosti između udjela proteina i lipida s pojednim frakcijama škroba (tablica 37) u preliminarnim uzorcima koja dokazuje vrlo jaku negativnu povezanost navedenih makronutrijenata s RAG ($p < 0.01$), a posebno s RSD ($p < 0.001$). Dodatno, leguminoze imaju viši omjer amiloza/amilopektin u granulama škroba u odnosu na žitarice te su stoga manje podložne amilolitičkom djelovanju obzirom da molekula amiloze sadrži više vodikovih veza što je čini manje osjetljivom na djelovanje probavnih enzima nego molekula amilopektina koja ima razgranatu strukturu [146].

Tablica 37. Korelacije proteina i lipida s pojedinim frakcijama škroba (g/100 g suhe tvari) u preliminarnim uzorcima

		RAG	RDS	SDS	RS	TS
proteini	r	-0.8174*	-0.9196*	0.4594	-0.1884	-0.6372**
	p	0.0071	0.0004	0.2135	0.6274	0.0649
lipidi	r	-0.8805*	-0.9632*	0.1752	-0.5863**	-0.8803*
	p	0.0017	< 0.0001	0.6520	0.0971	0.0017

* korelacija je značajna na razini $p < 0.05$

** korelacija značajna na razini $p < 0.1$

No, interesantan je podatak da je dodatak čistih prehrambenih vlakana (zobenih i jabučnih) rezultirao značajnim porastom udjela i RAG (2.42 % i 5.89 %) i RDS (2.36 % i 4.12 %) u odnosu na referentni uzorak iako literaturni podaci ukazuju suprotno, odnosno da viši udio vlakana može smanjiti probavljivost škroba i sniziti postprandijalnu glikemiju [147]. Dobiveni rezultati mogu se objasniti činjenicom da uzorci obogaćeni prehrambenim vlaknima zahtijevaju veće količine vode tijekom pripreme tijesta čime se povećava dostupnost vode za vrijeme pečenja što potiče želatinizaciju škroba. Spomenuti učinak u skladu je s podacima Garsetti i suradnika [148] koji su istraživali odnos između inzulinemijskog, odnosno glikemijskog indeksa običnog slatkog keksa i *in vitro* probavljivosti škroba. Navedeni zaključak potvrđuje i analiza povezanosti između pojedinih frakcija škroba i ukupnih, topljivih i netopljivih prehrambenih vlakana uz isključenje uzoraka pripremljenih sa čistim vlaknima (tablica 38) gdje je dobivena značajna negativna korelacija između udjela ukupnih vlakana, odnosno njegove netopljive frakcije i RAG, odnosno RDS vrijednosti ($p < 0.05$).

Sporo probavljivi škrob (SDS), za razliku od RDS koji zajedno s RAG direktno korelira s postprandijalnom glikemijom, nudi prednost sporog porasta postprandijalne glukoze, održanih razina glukoze u krvi i dužeg osjećaja sitosti [149]. Modifikacija referentne recepture rezultirala je značajnim sniženjem SDS-a kod svih uzoraka, osim kod keksa sa šećerom od 8.99 do 38.13 % (slika 27), djelomično i kao posljedica sniženja udjela ukupnog škroba. Kod uzoraka pripremljenih s integralnim žitaricama i pseudožitaricama do pada udjela SDS-a dolazi i uslijed porasta udjela rezistentnog škroba što je u skladu s rezultatima Ragaee i suradnika koji su određivali *in vitro* probavljivost škroba u kruhu u

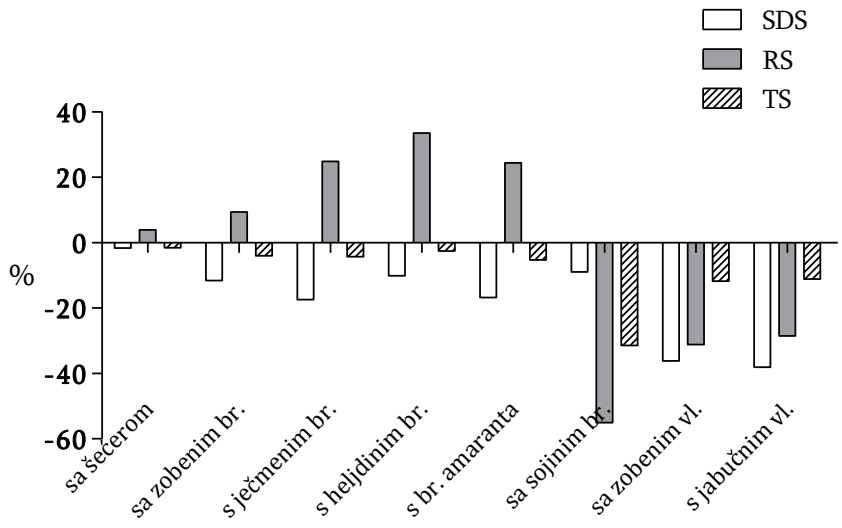
kojem su 30 % bijelog pšeničnog brašna zamijenili različitim integralnim žitaricama [150]. Najniže vrijednosti sporo probavljivog škroba imaju keksi pripremljeni sa čistim prehrambenim vlaknima (tablica 36), koje su rezultat ne samo nižih udjela ukupnog škroba, nego i povećanja *in vitro* probavljivosti škroba, odnosno povećanja brzo probavljive frakcije nauštrb sporo probavljive frakcije škroba.

Tablica 38. Korelacije pojedinih frakcija škroba s ukupnim, topljivim i netopljivim prehrambenim vlaknima (g/100 g suhe tvari) u preliminarnim uzorcima (keksi sa čistim vlaknima su isključeni)

		RAG	RDS	SDS	RS	TS
TDF	r	-0.7863*	-0.7111**	-0.5751	-0.4415	-0.7805*
	p	0.0360	0.0732	0.1768	0.3214	0.0383
SDF	r	-0.2392	0.0691	-0.8681*	0.3628	-0.0435
	p	0.6054	0.8830	0.0113	0.4239	0.9262
IDF	r	-0.8285*	-0.8204*	-0.4329	-0.5892	-0.8708*
	p	0.0213	0.0238	0.3319	0.1639	0.0107

* korelacija je značajna na razini $p < 0.05$

** korelacija značajna na razini $p < 0.1$



Slika 27. Promjene udjela SDS, RS i TS (%) u odnosu na referentni uzorak. Promjene udjela SDS i TS kod svih uzoraka (osim kod uzorka sa šećerom) su statistički značajne ($p < 0.05$). Promjene udjela RS su statistički značajne kod svih uzoraka osim uzorka sa šećerom, odnosno zobenim brašnom ($p < 0.05$).

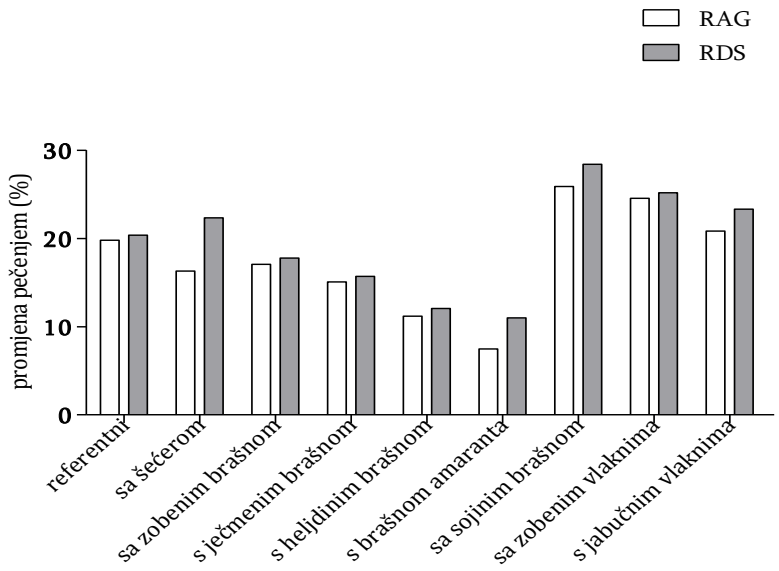
Rezistentni škrob (RS) osim što ima pozitivne učinke na gastrointestinalni sustav, glikemijski odgovor, osjećaj sitosti i prevenciju pretilosti, ima i fizikalne karakteristike koje ga čine funkcionalnim sastojkom koje poboljšavaju karakteristike tijesta i teksturu konačnog proizvoda [151]. Kao što je već spomenuto, do značajnog porasta udjela RS u odnosu na referentni uzorak došlo je u uzorcima pripremljenim s integralnim žitaricama ili pseudožitaricama (od 9.34 do 33.49 %), s najvećim učinkom u uzorku s heljdinim brašnom kao rezultat korištenja integralnih sirovina bogatih rezistentnim škrobom. Najveći pad udjela RS (u usporedbi s referentnim keksom) utvrđen je u uzorku sa sojinim brašnom (55.06 %) što se može objasniti činjenicom da se želatinizirana amiloza (tijekom hlađenja) veže za lipide (sojino brašno sadrži najviše udjele ukupnih lipida) čime se ometa njezina retrogradacija [152] i time stvaranje rezistentnog škroba.

U usporedbi s drugim namirnicama bogatih škrobom, uključujući kekse [147, 153], ispitivani uzorci imaju niže udjele RDS, odnosno više udjele SDS i RS što je rezultat nekoliko faktora. Naime, temelj recepture svih istraživanih keksa je integralno pšenično brašno (60 %), odnosno brašno niskog stupnja izmeljave gdje se granule škroba nalaze zarobljene unutar staničnih stijenki što usporava njihovu degradaciju. Dodatno, razgradnja strukture granule škroba mljevenjem povećava osjetljivost na enzimsku razgradnju [149]. Također, istraživani uzorci sadrže visoke udjele prehrambenih vlakana i pečeni su pod uvjetima niske vlage što smanjuje razinu želatinizacije škroba i rezultira djelomično intaktnim granulama škroba koje su manje osjetljive na djelovanje amilolitičkih enzima [153].

5.2.1 Utjecaj tehnološkog postupka (pečenja) na *in vitro* probavljivost škroba

Dobro je poznato da na želatinizaciju i retrogradaciju škroba utječe dostupna vlaga i temperatura [154]. Tijekom retrogradacije škroba stvaraju se različite kristalinične strukture koje su, ovisno o strukturi, manje ili više otporne na djelovanje α-amilaze [155]. Obzirom da promjene uvjeta procesuiranja namirnica (vlaga, temperatura i vrijeme) utječu na želatinizaciju i retrogradaciju škroba, samim time utječu i na probavljivost škroba i udjele RDS, SDS i RS u konačnom proizvodu. Perera i suradnici [152] su dali pregled

nedavnih publikacija koje opisuju utjecaj različitih metoda procesuiranja na udio RS u škrobu žitarica različitog porijekla, međutim vrlo su limitirani podaci o utjecaju uvjeta koji se javljaju tijekom pečenja (niska količina vode i visoka temperatura) na *in vitro* probavljivost škroba. Stoga je u uzorcima tijesta i pripadajućih keksa određen udio različitih frakcija škroba, a primijećene razlike računate su kao postoci u odnosu na početnu koncentraciju (tijesto) te prikazane na slikama 28 i 29.



Slika 28. Utjecaj tehnološkog postupka (pečenja) na udjele RAG i RDS. Kod svih uzoraka utvrđena je statistički značajna promjena ($p < 0.05$)

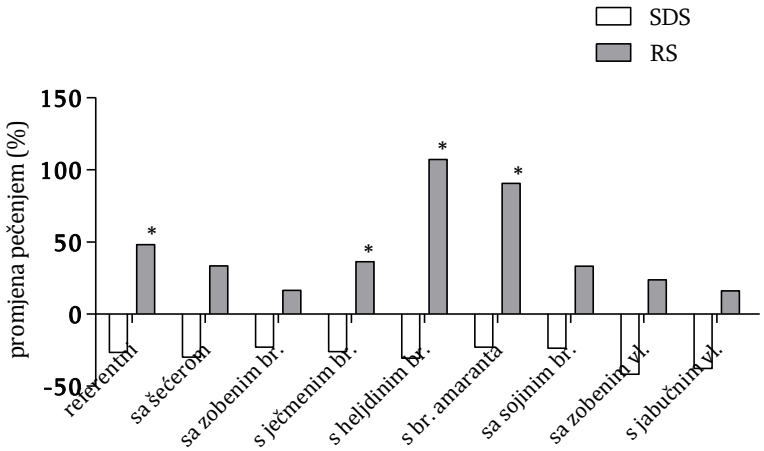
Vidljivo je da pečenje u svim uzorcima, neovisno o formulaciji keksa, značajno povisuje RAG i RDS vrijednosti čiji porast varira od 7.47 % i 11.00 % u keksu s brašnom amaranta do 25.90 % i 28.41 % u keksu sa sojinim brašnom. Dobiveni rezultati mogu se objasniti činjenicom da je škrob u svom nativnom obliku (tijesto) vrlo otporan na digestiju, dok grijanje u prisutnosti vode dovodi do razaranja inter- i intramolekularnih vodikovih veza između lanaca škroba što rezultira njihovim razdvajanjem čime postaju dostupniji probavnim enzimima [156]. Slične rezultate koji ukazuju na značajan porast RAG i RDS vrijednost tijekom pečenja keksa baziranih na integralnom piru i pšenici dobili su El-Sayed i suradnici [157]. Najveće promjene RAG i RDS vrijednosti nastale pečenjem utvrđene su kod uzoraka sa sojinim brašnim, te uzoraka sa čistim prehrambenim vlaknima, odnosno u keksima za čiju su pripremu tijesta bile potrebne najveće količine

vode (za pripremu tijesta sa sojinim brašnom, odnosno s prehrambenim vlaknima korišteno je 40 %, odnosno 80 % više vode nego za pripremu referentnog uzorka). Tako je primjenjeni tehnološki proces (veća količina vode, a u slučaju uzoraka sa čistim prehrambenim vlaknima i duže vrijeme pečenja) poništio zaštitni učinak vlakana, odnosno u slučaju sojinog brašna i zaštitni utjecaj proteina i lipida na granule škroba što je rezultiralo višom *in vitro* probavljivošću škroba.

Vrijednosti za ukupni škrob su u svim uzorcima keksa nešto niže nego u uzorcima tijesta, ali je ta razlika minimalna i nije statistički značajna (tablica 33).

Tehnološki postupak (pečenje) rezultirao je značajno nižim udjelima sporo probavljivog škroba u svim ispitivanim uzorcima (slika 29) s najvećim učinkom u uzorcima sa zobenim (41.66 %) i jabučnim vlaknima (37.65 %). Navedeno se može objasniti ranije spomenutim utjecajem veće količine vode za pripremu tijesta sa čistim prehrambenim vlaknima i dužim vremenom pečenja što povećava želatinizaciju škroba odnosno povećava udio brzo probavljive frakcije nauštrub sporo probavljive frakcije škroba.

Dodatak heljdinog brašna i brašna amaranta u referentnu recepturu rezultirao je najvećim rastom udjela RS (107.19 % i 90.5 %), odnosno škroba koji je nastao retrogradacijom što je sukladno rezultatima Capriles i suradnika [158] koji su utvrdili da prženje sjemenki amaranta rezultira rastom udjela RS od 172 %.



Slika 29. Utjecaj tehnološkog postupka (pečenja) na udjele SDS i RS. Utjecaj pečenja na udio SDS je kod svih uzoraka statistički značajan, a na udio RS značajan je kod uzoraka obilježenih zvjezdicom ($p < 0.05$)

5.3. Nutritivno značajne frakcije škroba u završnim keksima

U recepture završnih uzoraka inkorporirano je 10 % inulina, te snižen udio izomalta/šećera i masti, a utjecaj dodatnih modifikacija na *in vitro* probavljivost škroba i udio ukupnog škroba prikazan je u tablici 39.

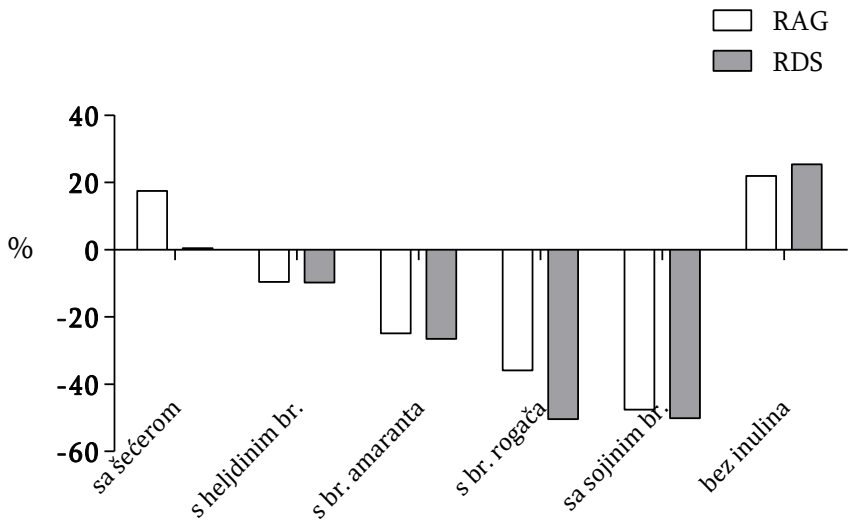
Tablica 39. *In vitro* probavljivost škroba i udio ukupnog škroba u ispitivanim keksima

uzorak	RDS*	SDS*	RS*	TS*
	g/100 g suhe tvari			
referentni uzorak	25.07 ± 0.41^{A}	15.75 ± 0.97^{A}	3.56 ± 0.80^{A}	44.37 ± 1.87^{A}
uzorak sa šećerom	25.17 ± 0.42^{A}	16.29 ± 1.03^{A}	3.47 ± 0.67^{AD}	44.93 ± 1.21^{A}
s heljdinim brašnom	22.62 ± 0.97^{B}	13.22 ± 1.17^{BC}	5.55 ± 0.14^{B}	41.40 ± 0.40^{B}
s brašnom amaranta	18.41 ± 0.38^{C}	13.78 ± 0.87^{BD}	5.10 ± 0.08^{B}	37.30 ± 0.46^{C}
s brašnom rogača	12.44 ± 0.37^{D}	12.63 ± 0.93^{BC}	2.51 ± 0.22^{C}	27.57 ± 1.21^{D}
sa sojinim brašnom	12.52 ± 0.46^{D}	11.81 ± 1.34^{C}	2.51 ± 0.55^{C}	26.83 ± 0.93^{D}
bez inulina	31.42 ± 0.83^{E}	15.11 ± 1.06^{AD}	2.74 ± 0.69^{DC}	49.27 ± 1.10^{E}

* vrijednosti unutar iste kolone označene istim slovom pripadaju istom statističkom skupu ($p > 0.05$)

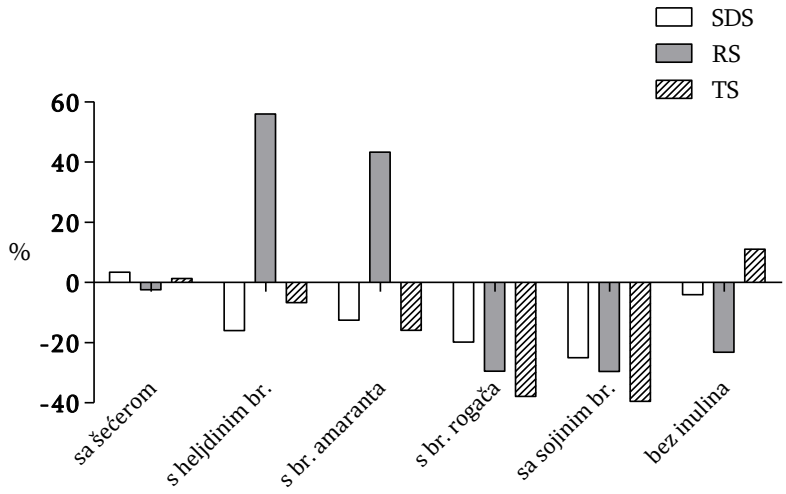
Vidljiv je značajan pad udjela RAG i RDS u uzorcima obogaćenim integralnim sirovinama u odnosu na referentni keks (slika 30) što odgovara rezultatima dobivenim u preliminarnim uzorcima s tim da su navedene promjene u završnim keksima puno izraženije. Dobiveni rezultati mogu se objasniti činjenicom da je kod završnih uzoraka za obogaćivanje referentne recepture korišteno brašno nižeg stupnja mljevenja, a osim već spomenutog manjeg oštećenja granula škroba i intaktne stanične stijenke, opseg mljevenja (veličina čestica) dodatno utječe na probavljivost škroba žitarica i leguminoza obzirom da krupnije čestice imaju manju površinu koja je dostupna za amilolitičko djelovanje [159]. Najznačajnije sniženje udjela RAG i RDS u usporedbi s referentnim uzorkom postignuto je dodatkom brašna amaranta (24.86 % i 26.56 %), rogača (35.87 % i 50.39 %) i soje (47.55 % i 50.08 %). Rogač i soja su leguminoze s visokim amiloza/amilopektin omjerom koje sadrže i visoke količine prehrambenih vlakana (naročito rogač) što snižava *in vitro* probavljivost škroba. Dodatno, kao što je već ranije navedeno, sojino brašno je bogato proteinima i lipidima koji imaju zaštitni učinak na amilolitičko djelovanje, dok je rogač vrlo bogat

taninima koji imaju antinutritivno djelovanje [143] što objašnjava dobivene rezultate. Iako amarant ima relativno visok udio škroba, malu veličinu granule škroba i nizak sadržaj amiloze [158], odnosno faktore koji povisuju probavljivost škroba, dodatak brašna amaranta u referentnu recepturu rezultirao je njegovim sniženjem. Dobiveni rezultat može se objasniti relativno visokim udjelima proteina i lipida u brašnu amaranta, visokim udjelom prehrambenih vlakana te niskim stupnjem izmeljave. Statistički značajan rast udjela RAG u odnosu na referentni uzorak utvrđen je kod uzoraka sa šećerom (17.43 %) i bez inulina (21.96 %) uz napomenu da je uklanjanje inulina iz referentne recepture imalo značajniji učinak na navedeni parametar nego dodatak šećera (saharoze). Također, značajan rast RDS vrijednosti utvrđen je samo u keksu bez inulina (25.35 %), djelomično i kao rezultat višeg udjela ukupnog škroba.



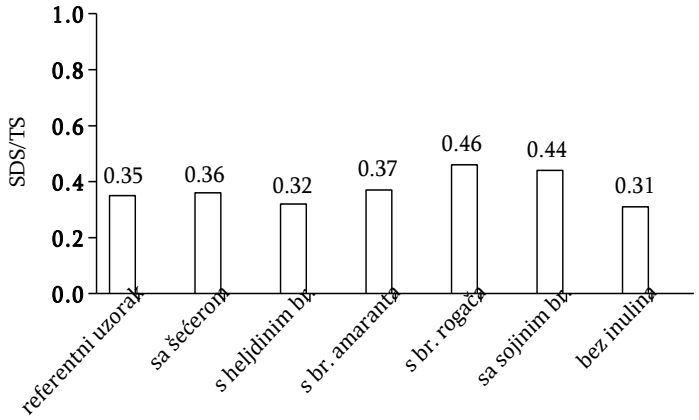
Slika 30. Promjene udjela RAG i RDS (%) u odnosu na referentni uzorak. Promjene udjela RAG kod svih uzoraka su statistički značajne ($p < 0.05$). Promjene udjela RDS su statistički značajne kod svih uzoraka osim uzorka sa šećerom ($p < 0.05$).

Modifikacija referentne recepture rezultirala je statistički značajnim sniženjem udjela SDS kod svih uzoraka obogaćenim integralnim sirovinama (slika 31), a najveći utjecaj utvrđen je u keksima suplementiranim s brašnom rogača (19.82 %) i sa sojinim brašnom (25.03 %) kod kojih su zabilježena i najveća sniženja udjela ukupnog škroba (37.85 % i 39.53 %).



Slika 31. Promjene udjela SDS, RS i TS (%) u odnosu na referentni uzorak. Promjene udjela SDS statistički su značajne ($p < 0.05$) kod svih uzoraka osim keksa sa šećerom i bez inulina. Promjene udjela RS i TS su statistički značajne kod svih uzoraka osim uzorka sa šećerom ($p < 0.05$).

Iako je uvođenje navedenih sirovina rezultiralo najnižim udjelima SDS, uspoređujući omjere SDS/TS (slika 32) vidljiv je relativni porast sporo probavljive frakcije škroba korištenjem brašna rogača (0.46), odnosno sojinog brašna (0.44) u odnosu na referentni keks (0.35).



Slika 32. Omjeri SDS i TS u završnim uzorcima keksa

Do porasta udjela RS (slika 31) došlo je samo kod uzoraka sa heljdinim brašnom (55.94 %) i brašnom amaranta (43.32 %), kako je dobiveno i kod preliminarnih uzoraka što se može objasniti višim udjelima rezistentnog škroba u navedenim integralnim brašnima nego u pšeničnom brašnu visokog stupnja izmeljave (T550).

Dobiveni rezultati vezani uz utjecaj promjene sirovinskoga sastava završnih uzoraka u odnosu na referentnu recepturu u skladu su sa zaključcima donesenim na temelju analiziranih rezultata preliminarnih uzoraka.

5.4. Utjecaj promjene sirovinskoga sastava na glikemijski indeks keksa(GI)

Iako je određivanje probavljivosti i apsorpcije ugljikohidrata *in vivo* u svrhu određivanja glikemijskog indeksa namirnica učinkovitije i efikasnije nego *in vitro* metode, ono je istovremeno dugotrajno, invazivno i skupo. Stoga su razvijene analitičke metode [51] koje karakteriziraju prehrambene ugljikohidrate obzirom na kemijski sastav i vjerojatnu gastrointestinalnu sudbinu (tablica 2). U svrhu utvrđivanja odnosa između *in vitro* probavljivosti škroba, kao i makronutritivnog sastava i *in vivo* odgovora glukoze nakon unosa ispitivanog uzorka keksa, vrijednosti glikemijskog indeksa su korelirane s onom količinom frakcija škroba, odnosno makronutrijenta koja je sadržana u 50 g dostupnih ugljikohidrata (DUH) što je količina koju sadrži porcija korištena za određivanje glikemijskog indeksa (tablica 40).

Tablica 40. Veličina porcije, nutritivno značajne frakcije škroba, udio ukupnog škroba i glikemijski indeks ispitivanih keksa

uzorak	porcija	RAG	RDS	SDS	RS	TS	GI
	g/50 g DUH						
referentni uzorak	105.0	30.4	26.3	16.5	3.7	46.6	60.1
uzorak sa šećerom	85.6	29.1	21.5	13.9	3.0	38.5	65.8
s heljdinim brašnom	110.5	28.9	25.0	14.6	6.1	45.8	58.7
s brašnom amaranta	116.7	25.4	21.5	16.1	6.0	43.5	52.5
s brašnom rogača	123.4	22.9	15.3	15.6	3.1	34.0	46.8
sa sojinim brašnom	160.2	24.3	20.1	18.9	4.0	43.0	44.9

bez inulina	93.8	33.1	29.5	14.2	2.6	46.2	66.9

RAG = brzo dostupna glukoza (G_{20}); RDS = brzo probavljivi škrob; SDS = sporoprobavljivi škrob; RS = rezistentni škrob; TS = ukupni škrob; GI = glikemijski indeks; DUH = dostupni ugljikohidrati

Iz rezultata određivanja GI (tablica 33) vidljivo je da je uvođenje bezglutenskih pseudožitarica (brašno heljde i amaranta) te posebno leguminoza (brašno rogača i soje) rezultiralo sniženjem odgovora glukoze *in vivo* iako nije dobivena statistički značajna razlika. Korelacija između GI i RAG vrijednosti (tablica 41) pokazala se najznačajnijom između ispitivanih frakcija škroba što je u skladu s literaturnim podacima obzirom da RAG određuje i RDS vrijednosti i udio slobodne glukoze [51]. Također, utvrđena je jaka negativna korelacija između SDS vrijednosti i GI ($p = 0.04$) što ukazuje na reducirajući utjecaj sporo probavljivog škroba na GI. Dobiveni rezultati sugeriraju da kreiranje namirnica niskog udjela RAG i RDS, odnosno visokog udjela SDS predstavlja kvalitetan pristup u snižavanju njihovog GI.

Tablica 41. Korelacije pojedinih frakcija škroba završnih uzoraka keksa (g/50 g DUH) s vrijednostima glikemijskog indeksa

	RAG*	RDS**	SDS*	RS	TS
r	0.8731	0.6805	-0.7755	-0.2978	0.2959
p	0.0103	0.0925	0.0405	0.5165	0.5193

* korelacija značajna na razini $p < 0.05$

** korelacija značajna na razini $p < 0.1$

Iako *in vitro* metode ne mogu u potpunosti oponašati uvjete *in vivo*, kao što su stupanj želučanog pražnjenja, utjecaj intestinalnih hormona, odnosno sve procese probave u ljudskom organizmu, utvrđena je vrlo dobra korelacija među rezultatima dobivenih *in vitro* metodom i vrijednosti GI (tablica 41).

Analizom povezanosti između udjela pojedinih makronutrijenata i glikemijskog indeksa (tablica 42) utvrđena je značajna negativna korelacija između proteina ($p < 0.05$), odnosno lipida ($p < 0.1$) i glikemijskog indeksa što potvrđuje ranije navode o utjecaju navedenih komponenata na probavljivost škroba i posljedično na GI.

Tablica 42. Korelacije makronutritivnih sastavnica završnih uzoraka keksa (g/50 g DUH) s vrijednostima glikemijskog indeksa

	proteini**	lipidi*	prehrambena vlakna		
			topljiva**	netopljiva*	ukupna*
r	-0.7020	-0.7553	-0.7250	-0.8717	-0.9500
p	0.0787	0.0496	0.0653	0.0106	0.0010

* korelacija značajna na razini $p < 0.05$

** korelacija značajna na razini $p < 0.1$

Dobiveni rezultat u skladu je s istraživanjima Garsetti i suradnika [148] koji su slične negativne korelacije utvrdili između GI i udjela proteina, odnosno lipida, kao i GI i SDS vrijednosti u običnom slatkom keksu. Također, vrlo jaka negativna korelacija prisutna je između vrijednosti GI i udjela ukupnih prehrambenih vlakana (p=0.00) i njegovih frakcija (topljivih vlakana, p=0.07 i netopljivih vlakana, p=0.01) što potvrđuje rezultate dobivene *in vitro* metodom. Dobivene vrijednosti donekle su u skladu s istraživanjem povezanosti udjela prehrambenih vlakana i GI različitih namirnica gdje je utvrđena značajna povezanost s ukupnim vlaknima, kao i netopljivom frakcijom ($p < 0.05$), dok negativna povezanost sa topljivom frakcijom nije bila statistički značajna [160]. Navedena razlika u razini povezanosti između udjela topljivih vlakana i vrijednosti GI može se objasniti činjenicom da su istraživani završni uzorci sličnog sastava (keksi bazirani na pšeničnom brašnu) i uvjeta procesuiranja čime utjecaj pojedinih faktora na GI dolazi do izražaja.

Jenkins i suradnici [161] ispitivali su utjecaj interakcije između škroba i proteina u pšeničnom kruhu, te utvrdili da uklanjanje glutena iz brašna pšenice povećava amilolitičku digestiju *in vitro* i glikemijski odgovor *in vivo* obzirom da kompleks glutena i proteina stvara mrežu koja ometa djelovanje amilaze. S druge strane, Berti i suradnici [162] ispitujući iste parametre na tjestenini i kruhu sa i bez glutena zaključili su da primjenjeni tehnološki proces ima veći učinak na *in vitro* probavljivost nego prisustvo glutena. Do istih zaključaka došli su i Packer i suradnici [163] određujući GI u pšeničnom

kruhu sa i bez glutena, te utvrdili i da je dodatak sojinih mekinja u kruh bez glutena rezultirao sniženjem GI. Rezultati dobiveni analizom istraživanih keksa u skladu su s istraživanjima Sugiyama i suradnika [164] koji su utvrdili značajno sniženje vrijednosti GI dodatkom mljevene soje u miješanu prehranu. Iako u analiziranim keksima nije uklanjan gluten, nego su dodavana bezglutenska brašna u količini od 30 % u zamjenu za bijelo pšenično brašno, nisu se javili negativni učinci eventualnog razrjeđenja glutena na promatrane parametre. Štoviše, uvođenje navedenih brašana u referentnu recepturu rezultiralo je sniženjem *in vitro* probavljivosti škroba i *in vivo* odgovora glukoze s najvećim učinkom u keksu pripremljenim sa sojinim brašnom (25.3 % niži GI u odnosu na referentni uzorak) što je u skladu s istraživanjem Blaira i suradnika [165] koje ukazuje da hrana bazirana na soji ima niske ili srednje vrijednosti GI te je kao takva prikladna za regulaciju razina glukoze i inzulina u krvi.

Implementacija brašna amaranta u referentnu recepturu završnih uzoraka rezultirala je sniženjem GI za 12.6 % što je u suprotnosti sa zaključcima Chaturvedi i suradnika koji su utvrdili rast GI s porastom udjela brašna amaranta u prehrani pacijenata s dijabetes melitusom neovisnom o inzulinu što su objasnili fizikalnim karakteristikama škroba amaranta [166]. Imajući u vidu da je utvrđena čvrsta uzročno – posljedična veza između vrijednosti GI i udjela proteina (r=-0.70), lipida (r=-0.76) i prehrambenih vlakana (r=-0.95) u ispitivanim keksima, kao i činjenicu da je utvrđena i niža *in vitro* probavljivost škroba u keksima obogaćenih brašnom amaranta, može se zaključiti da su navedeni parametri, kao i upotreba integralnog brašna niskog stupnja izmeljave imali ključni učinak na odgovor glukoze *in vivo*.

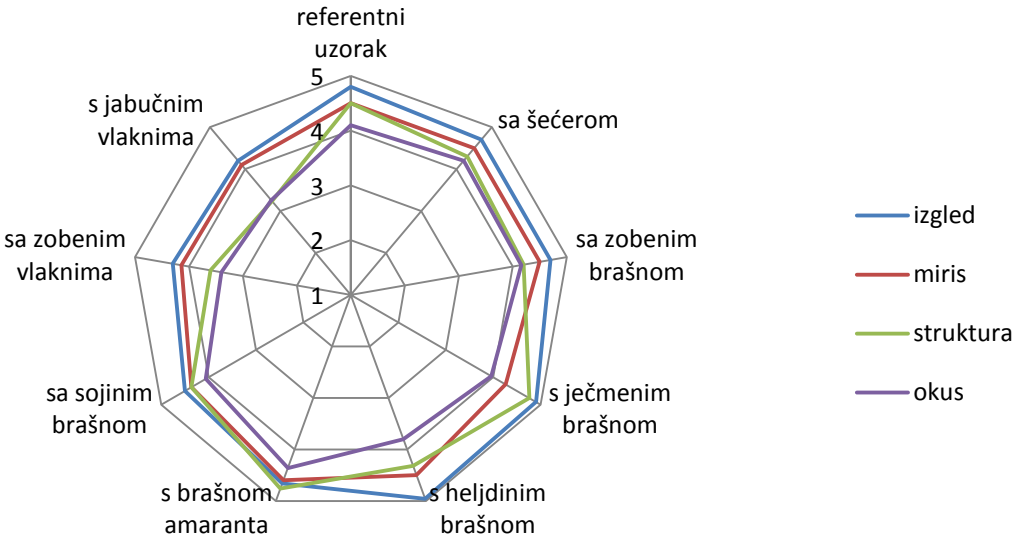
Uvođenje heljdinog brašna u referentnu recepturu rezultiralo je sniženjem glikemijskog indeksa za 2.33 % što iako nije značajno sugerira da dodatak heljdinog brašna u većim količinama može rezultirati nižim GI vrijednostima konačnog proizvoda na što ukazuju i rezultati Škrabanja i suradnika [167] koji su uvođenjem 50 % heljdinog brašna u recepturu pšeničnog kruha postigli značajno sniženje postprandijalne glukoze i inzulina.

Uklanjanje inulina iz referentne recepture rezultiralo je najvećim rastom vrijednosti GI i to za 11.31 % što predstavlja veći porast nego u uzorku koji sadrži inulin, ali i šećer (9.48 %). Navedeni učinak ukazuje na snažan utjecaj inulina na redukciju *in vitro* i *in vivo* odgovora glukoze što se objašnjava činjenicom da je inulin visoko

hidrofilan, te apsorbira prisutnu vodu što inhibira želatinaciju škroba i njegovu probavljivost [168]. Dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjem Brennan i suradnika koji su uvođenjem inulina do 10 % u recepturu tjestenine od pšeničnog brašna snizili probavljivost škroba proporcionalno količini dodanog inulina [169].

5.5. Utjecaj promjene sirovinskoga sastava na organoleptiku preliminarnih uzoraka

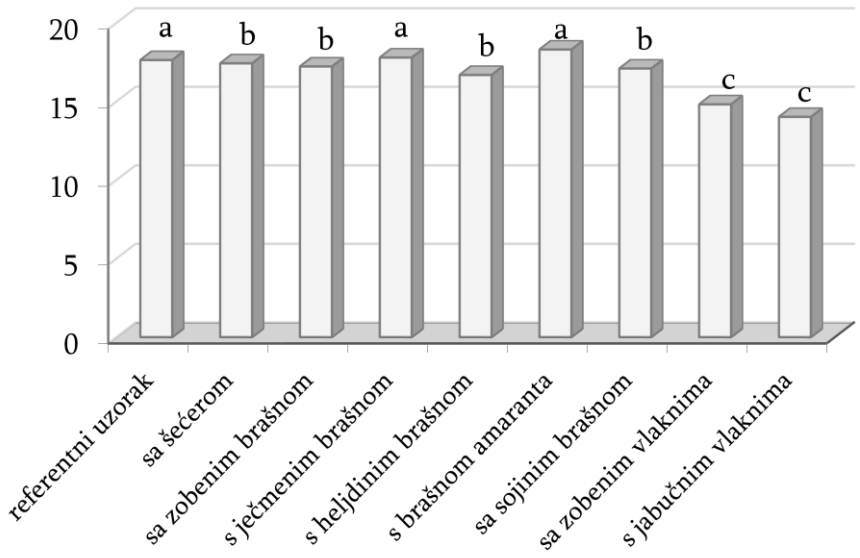
Podaci dobiveni organoleptičkom analizom preliminarnih uzoraka prikazani su na slikama 33 i 34. Vidljivo je da su ispitivani keksi najbolje ocjenjeni u kategoriji izgleda, a najveće zamjerke, odnosno najniže ocjene odnose se na kategoriju okusa, što se naročito odnosi na uzorke pripremljene dodatkom sojinog, ječmenog ili heljdinog brašna, odnosno dodatkom prehrambenih vlakana. Navedeni učinak u skladu je s podacima Dhingra i Jood koji su utvrdili sniženje ocjena za okus proporcionalno količini dodanog brašna ječma ili soje [170].



Slika 33. Prihvatljivost pojedinih organoleptičkih kategorija preliminarnih uzoraka.

Usprkos navedenom, vidljivo je da je specifični okus korištenih integralnih sirovina koje su suplementirane u količini od 30 %, imao mali ili nikakav utjecaj na ukupnu

prihvatljivost preliminarnih uzoraka (slika 34) obzirom da navedeni uzorci imaju odličnu ili vrlo dobru ukupnu prihvatljivost što je u skladu s literaturnim podacima [171]. Uvođenje zobenih, odnosno jabučnih vlakana u referentni keks rezultiralo je značajno nižim ocjenama u svim ispitivanim značajkama, što je sukladno podacima Dhingra i suradnika o negativnom utjecaju vlakana u hrani na konačni proizvod [172].

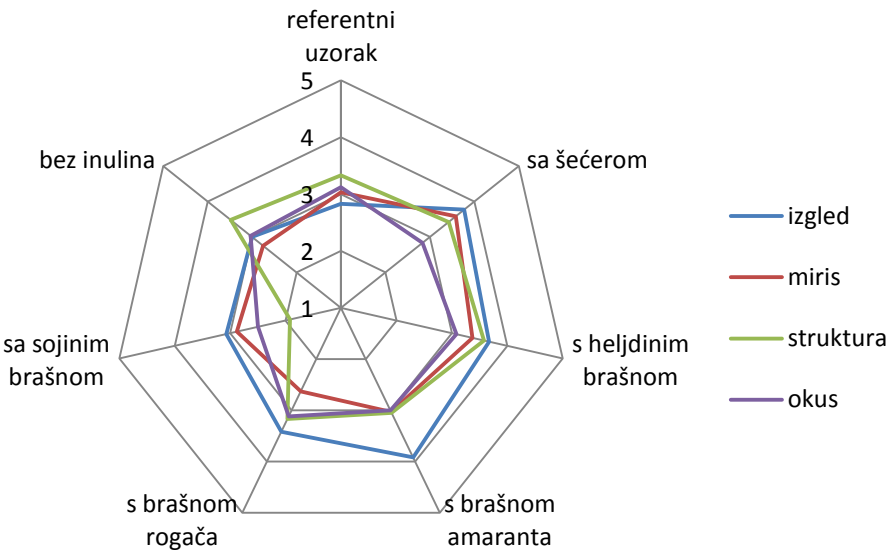


Slika 34. Ukupna prihvatljivost preliminarnih uzoraka, stupci označeni istim slovom pripadaju istoj statističkoj skupini ($p > 0.05$); a = odličan; b = vrlo dobar, c = dobar

5.6. Utjecaj promjene sirovinskoga sastava na organoleptiku završnih uzoraka

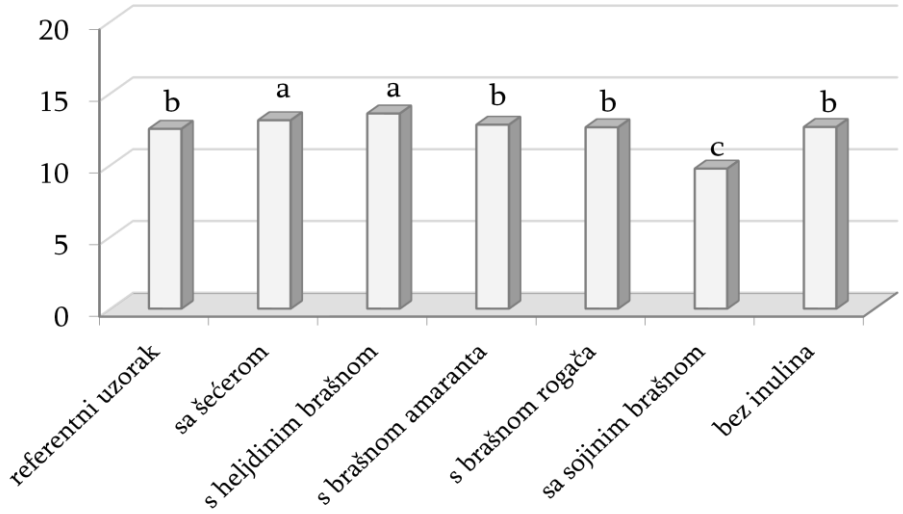
Dodatna modifikacija završnih uzoraka rezultirala je značajno nižim ocjenama svih parametara organoleptičke kvalitete u odnosu na preliminarne uzorke (slike 35 i 36) uz vrlo sličan obrazac, odnosno kategorija izgleda ocijenjena je najvišim, a kategorija okusa najnižim ocjenama.

Keks pripremljen dodatkom sojinog brašna, koji je jedini ocijenjen kao neprihvatljiv, najniže ocjene dobio je u kategoriji strukture i okusa što je u skladu s navodima Hana i suradnika [173] o neugodnom grahorastom okusu proizvoda od soje.



Slika 35. Prihvatljivost pojedinih organoleptičkih kategorija završnih uzoraka

Drewnowski i suradnici [174] utvrdili su da modifikacije recepture keksa kojima se smanjuje njihova slatkoća rezultiraju smanjenom ukupnom prihvatljivošću, no isti utjecaj je značajno manje izražen u slučaju smanjenja udjela masti, tj. dokle god je slatkoća keksa zadržana, potrošači toleriraju manja odstupanja od standardne recepture u teksturi i okusu.



Slika 36. Ukupna prihvatljivost završnih uzoraka, stupci označeni istim slovom pripadaju istoj statističkoj skupini ($p > 0.05$); a = dobar; b = još prihvatljiv, c = neprihvatljiv

Abdallah i suradnici [175] ispitivali su komercijalno dostupne kekse i kolače različitog makronutritivnog sastava i utvrdili da je najviša prihvatljivost zabilježena kod uzoraka s najvišim udjelima šećera i masti, no i da je percepcija sadržaja masti manje točna nego percepcija sadržaja šećera, te da količina šećera značajnije pridonosi ukupnoj prihvatljivosti nego količina masti. Iz navedenog se može zaključiti da je osnovni razlog niskih ocjena završnih uzoraka upravo sniženi udio izomalta/šećera za razliku od preliminarnih uzoraka. Imajući u vidu da je izomalt niske energijske vrijednosti, kao i činjenicu da ne posjeduje glikemijski učinak, njegova redukcija rezultirala je samo malim utjecajem na ukupni energijski doprinos keksa. U svrhu dodatnog sniženja ukupne energijske vrijednosti keksa organoleptički prihvatljivih karakteristika umjesto uklanjanja masti moguće je uvesti masti niže kalorijske vrijednosti kao što su salatrimi (5.2 kcal/g), tzv. alternativne masti razvijene za konditorsku industriju.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju istraživanja utjecaja sirovinskoga sastava preliminarnih i završnih uzoraka keksa na *in vitro* probavljivost škroba, te glikemijski indeks, kao i ostale aspekte nutritivne kvalitete završnog proizvoda, kao što je makronutritivni sastav (udio proteina, lipida, pepela, ugljikohidrata i prehrambenih vlakana) i energijski doprinos, te procjene organoleptičke kvalitete, moguće je zaključiti slijedeće:

1. Supstituiranjem integralnih žitarica (zobeno i ječmeno brašno), pseudožitarica (brašno amaranta i heljde), leguminoza (sojino brašno) ili čistih prehrambenih vlakna (zobena i jabučna vlakna) umjesto bijelog pšeničnog brašna moguće je dobiti keks značajno povećane makronutritivne, odnosno protektivne kvalitete. U preliminarnim uzorcima povećanje udjela proteina ostvareno je dodatkom svake od korištenih integralnih sirovina s najvećim učinkom od 51.55 % dodatkom brašna soje, a u istom uzorku došlo je i do najvišeg porasta ukupnih lipida (približno 22 %), ali obzirom da je sojino brašno bogato nezasićenim masnim kiselinama koje imaju protektivni učinak na kardiovaskularni sustav, time nije narušena nutritivna kvaliteta. Nasuprot tome, uvođenje čistih prehrambenih vlakana (zobenih, odnosno jabučnih vlakana) u referentnu recepturu značajno snižava udio proteina u konačnom prozvodu, no istovremeno rezultira, kao što se moglo i pretpostaviti, najvećim povećanjem udjela ukupnih prehrambenih vlakana. Konzumacijom tako pripremljenih keksa može se zadovoljiti od 25.2 do 64.7 % preporučenog dnevnog unosa prehrambenih vlakana (25 g/dne).

2. Obzirom da je razina i opseg probavljivosti škroba pod utjecajem njegovog botaničkog porijekla, uvođenje novih sirovina u klasičnu recepturu za tvrdi keks rezultiralo je promjenama *in vitro* probavljivosti škroba. Do značajnog sniženja od 1.71 do 40.07 % došlo je u preliminarnim uzorcima s dodatkom svih vrsta integralnih sirovina osim ječmenog brašna, dok je dodatkom čistih prehrambenih vlakana (zobenih ili jabučnih vlakana) došlo do povećanja frakcije brzo probavljivog škroba (2.36, odnosno 4.12 %). Modifikacija referentne recepture rezultirala je značajnim sniženjem sporo probavljivog škroba (SDS) kod svih uzoraka (osim kod keksa sa šećerom) od 8.99 do 38.13 % djelomično i kao posljedica sniženja ukupnog škroba. Udio rezistentnog škroba (RS) je značajno povišen u uzorcima s dodatkom integralnih žitarica i pseudožitarica (od 9.34 do 33.49 %), dok je uvođenje sojinog brašna ili čistih prehrambenih vlakana rezultiralo njegovim

sniženjem od 28.54 do 55.06 %. Promjena udjela brzo dostupne glukoze (RAG) pokazuje vrlo sličan obrazac promjenama koje se događaju kod brzo probavljivog škroba, te je dodatkom integralnih sirovina došlo do značajnog sniženja od 1.35 do 38.07 %, dok je dodatak čistih vlakana rezultirao povišenjem brzo dostupne glukoze za 2.42 % u keksu sa zobenim vlaknima, odnosno 5.89 % u keksu sa jabučnim vlaknima.

3. Tehnološkim postupkom (pečenjem) u svim preliminarnim uzorcima keksa u odnosu na tijesto, došlo je, neovisno o formulaciji, do značajnog povišenja brzo dostupne glukoze i brzo probavljivog škroba od 7.47 %, odnosno 11.00 % u uzorku s brašnom amaranta do 25.90 % odnosno 28.41 % u keksu s dodatkom sojinog brašna. Udio sporo probavljivog škroba je statistički značajno niži u svim uzorcima keksa u odnosu na tijesto (od 22.94 % u uzorku sa brašnom amaranta do 41.66 % u keksu sa zobenim vlaknima), za razliku od rezistentnog škroba koji je u keksima s dodatkom ječmenog brašna, brašna amaranta ili heljdinog brašna pečenjem statistički značajno povišen za 36.22, 90.50 i 107.19 %.

4. Uvođenjem ječmenog i brašna amaranta u referentnu recepturu održana su odlična organoleptička svojstva (17.80 i 18.31 ponderirana boda), dok je implementiranje ostalih integralnih sirovina rezultiralo tek neznatnim narušavanjem (od 16.69 do 17.23 ponderirana boda) pojedninih organoleptičkih karakteristika (prvenstveno okusa). Najniža ukupna prihvatljivost (ocjena dobar) dodijeljena je keksima koji su pripremljeni s jabučnim (14.02 boda) ili zobenim vlaknima (14.82 boda) koja se pokazala i statistički značajnom u kategoriji vanjskog izgleda i strukture keksa.

5. Obzirom da je uvođenje čistih prehrambenih vlakana u klasičnu recepturu tvrdog keksa rezultiralo jedino povišenjem udjela prehrambenih vlakana nauštrb ostalih nutritivnih karakteristika (udio proteina, *in vitro* probavljivost škroba) i organoleptičke kvalitete, očito je da prehrambena vlakna nisu sirovina izbora za kreiranje funkcionalnog keksa s dobrim nutritivnim svojstvima.

6. Dodatnom modifikacijom preliminarnih uzoraka, odnosno smanjenjem udjela lipidne komponente i izomalta, te uvođenjem inulina (sirovina niskog energetskog doprinosa) kod

završnih uzoraka smanjena je ukupna energijska vrijednost za 11.5 % (kalorijske vrijednosti završnih uzoraka kreću se od 374.1 kcal/100 g u keksu sa brašnom rogača do 416.8 kcal/100 g u keksu bez inulina za razliku od kalorijskih vrijednosti preliminarnih uzoraka koje variraju od 423.6 kcal/100 g u keksu sa zobenim vlaknima do 472.5 kcal/100 g u keksu sa šećerom). Ostvareno je povećanje doprinosa energije od proteina za približno 14 % i sniženje doprinosa energije od masti za 25 % te je tako postignut gotovo optimalno uravnotežen izvor energije od pojedinih makronutrijenata.

7. Uvođenje integralnih sirovina u referentnu recepturu završnih uzoraka rezultiralo je značajnim padom udjela brzo dostupne glukoze (od 9.62 % u uzorku s brašnom heljde do 47.55 % u keksu sa sojinim brašnom) i brzo probavljivog škroba (od 9.77 % u uzorku s brašnom heljde do 50.39 % u keksu s brašnom rogača). Statistički značajan porast udjela brzo dostupne glukoze u odnosu na referentni uzorak utvrđen je kod uzoraka sa šećerom (17.4 %) i bez inulina (21.96 %) uz napomenu da je uklanjanje inulina iz referentne recepture imalo značajniji učinak na navedeni parametar nego dodatak šećera (saharoze). Implementacija brašna rogača i sojinog brašna rezultirala je najvećim sniženjem udjela sporo probavljivog škroba (19.82 %, odnosno 25.03 %) kao rezultat sniženja udjela ukupnog škroba. Porast udjela rezistentnog škroba utvrđen je kod keksa u koje je suplementirano brašno pseudožitarica (brašna heljde i amaranta) kao posljedica viših udjela ove važne protektivne komponene u korištenim integralnim brašnima.

8. Rezultati određivanja glikemijskog indeksa (GI) pokazuju da niti jedan od istraživanih keksa nema visoki glikemijski indeks. Referentni uzorak, uzorak sa dodatkom šećera, te uzorci s heljdom i bez inulina imaju srednji GI (od 58.7 do 66.9), a keksi pripremljeni s brašnom amaranta, soje ili rogača imaju nizak GI (od 44.9 do 52.5). Uvođenjem bezglutenskih pseudožitarica (brašna heljde i amaranta), a osobito leguminoza (brašna rogača i soje) u referentnu recepturu rezultiralo je sniženjem odgovora glukoze *in vivo* iako nije dobivena statistički značajna razlika. Korelacija između glikemijskog indeksa i brzo dostupne glukoze najznačajnija je između ispitivanih frakcija škroba ($p = 0.01$). Jaka negativna korelacija između sporo probavljivog škroba i glikemijskog indeksa ($p = 0.04$) ukazuje na reducirajući utjecaj navedene frakcije škroba na *in vivo* odgovor glukoze.

Značajne negativne korelacije između GI i proteina ($p < 0.05$), odnosno lipida ($p < 0.1$) ukazuju na utjecaj tih makronutrijenata na probavljivost škroba i posljedično na GI.

9. Obzirom na organoleptička svojstva modifikacija završnih uzoraka keksa je kod svih uzoraka, osim kod uzorka sa sojinim brašnom, rezultirala povećanjem ukupne prihvatljivosti u odnosu na referentni uzorak iako su ocjene svih parametara organoleptičke kvalitete značajno niže u odnosu na preliminarne uzorke. Očito je da je dodatnim povećanjem nutritivnih i protektivnih karakteristika došlo do narušavanja organoleptičke kvalitete, isključivo kao posljedica redukcije udjela izomalta i lipidne komponenete. Preporuka je, u svrhu dodatnog sniženja ukupne energijske vrijednosti keksa organoleptički prihvatljivih karakteristika, umjesto redukcije udjela masti uvesti zamjene za masti niže kalorijske vrijednosti (salatrimi).

10. Iako *in vitro* metode ne mogu u potpunosti oponašati uvjete *in vivo*, odnosno sve procese probave u ljudskom organizmu, utvrđena je vrlo dobra korelacija između rezultata dobivenih *in vitro* metodom i vrijednosti GI, koji sugeriraju da kreiranje keksa niskog udjela brzo dostupne glukoze i brzo probavljivog škroba, odnosno visokog udjela sporo probavljivog škroba predstavlja kvalitetan pristup u snižavanju glikemijskog indeksa ove izuzetno popularne namirnice.

7. LITERATURA

[1] A.T. Diplock, P.J. Aggett, M. Ashwell, F. Bornet, E.B. Fern, M.B. Roberfroid, Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document; *Brit. J. Nutr.*, **81** (1999) S1 – S27.

[2] M.B. Roberfroid, Global view on functional foods: European perspectives, *Brit. J. Nutr.*, **88** (2002) S133 – S138.

[3] M.B. Roberfroid, Concepts and strategy of functional food science: the European perspective, *Am. J. Clin. Nutr.*, **71** (2000) 1660S – 1664S.

[4] H. Gambuś, F. Gambuś, D. Pastuszka, P. Wrona, R. Ziobro, R. Sabat, B. Mickowska, A. Nowotna, M. Sikora, Quality of gluten-free suplemented cakes and biscuits, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **60** (2009) 31 – 50.

[5] D. Charalampopoulos, R. Wang, S.S. Pandiella, C. Webb, Application of cereals and cereal components in functional foods: a review, *Int. J. Food Microbiol.*, **79** (2002) 131 – 141.

[6] R. H. Liu, Whole grain phytochemicals and health, *J. Cereal Sci.,* **46** (2007) 207 – 219.

[7] S. Ötles, Ö. Cagindi, Cereal based functional foods and nutraceuticals, *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, **5** (2006) 107 – 112.

[8] W. Pedrotti, Žitarice – svojstva i primjena, Trsat Polo, Zagreb, 2007.

[9] J.D. Mingus, S.J. Cox, R.T. Westercamp, D.L. Schlueter, B.M. Jayson, M.M. El Hmamsi, Whole grain products made with whole grain durum wheat, (2007), patent W02007136891.

[10] D.M. Peterson, Composition and nutritional characteristics of oat grain and products, u: *Oat science and technology*, (H. G. Marshall, M. E. Sorrels, urednici), American Society of Agronomy, Madison WI (1992) str. 265 – 292.

[11] D.M. Peterson, Oat antioxidants; *J. Cereal Sci.*, **33** (2001) 115 – 129.

[12] P.J. Wood, J.A. Braaten, F.D. Scott, K.D. Riedel, M.S. Wolynetz, M.W. Collins, Effect of dose and modification of viscous oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load, *Brit. J. Nutr.*, **72** (1994) 731 – 743.

[13] Å. Lia, G. Hallmans, A.S. Sandberg, B. Sundberg, P. Åman, H. Andersson, Oat β-glucan increases bile acid excretion and a fiber-rich barley fraction increases

cholesterol excretion in ileostomy subjects, *Am. J. Clin. Nutr.*, **62** (1995) 1245 – 1251.

[14] T.J. Braaten, P.J. Wood, F.W. Scott, M.S. Wolynetz, M.K. Lowe, P. Bradley-Whyte, Oat β-glucan reduces blood cholesterol concentration in hypercholesterolemic subjects, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **48** (1994) 465 – 474.

[15] Food and Drug Administration (FDA), Food labeling: Health claims; Oats and coronary heart disease; Rules and regulations. Federal register, **62** (1997) 3584 – 3601.

[16] J.W. Anderson, N.H. Gilinsky, D.A. Deakins, S.F. Smith, D.S. O'Neal, D.W. Dillon, P.R. Oeltgen, Lipid responses of hypercholesterolemic men to oat-bran and wheat intake, *Am. J. Clin. Nutr.*, **54** (1991) 678 – 683.

[17] S. Gill, T. Vasanthan, B. Ooraikul, B. Rossnagel, Wheat Bread Quality as influenced by the substitution of waxy and regular barley flours in their native and extruded forms, *J. Cereal Sci.*, **36** (2002) 219 – 237.

[18] I. Trogh, C.M. Courtin, A.A.M. Andersson, P. Åman, J.F. Sørensen, J.A. Delcour, The combined use of hull-less barley flour and xylanase as a strategy for wheat/hull-less barley flour breads with incresed arabinoxylan and (1>3,1>4)- β-D-glucans levels, *J. Cereal Sci.*, **40** (2004) 2579 – 267.

[19] A.S. Truswell. Cereal grains and coronary heart disease, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **56** (2002) 1 – 14.

[20] K. Oberteil, C. Lentz, Ljekovitost voća i povrća, (R. Veble urednik), Veble commerce, Zagreb, 2002.

[21] G. Bonafaccia, M. Marocchini, I. Kreft, Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat, *Food Chem.*, **80** (2003) 9 – 15.

[22] K. Ikeda, T. Sakaguchi, T. Kusano, K. Yasumoto, Endogenous factors affecting protein digestibility in buckwheat, *Cereal Chem.*, **68(4)** (1991) 424 – 427.

[23] B.O. Eggum, I. Kreft, B. Javornik, Chemical composition nad protein quality of buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench.*), *Qual. Plant. Plant. Foods Hum. Nutr.*, **30** (1981) 175 – 179.

[24] S. Li, Q.H. Zhang, Advances in the development of functional food from buckwheat, *Crit. Rev. Food Sci.*, **41** (2001) 451 – 464.

[25] P.L. Chao, S. Hsiu, Y. Hou, Flavonoids in herbs: biological fates and potential interactions with xenobiotics, *J. Food Drug Anal.* **10** (2002) 219 – 228.

[26] G. Wieslander, Review on buckwheat allergy, *Allergy*, **51** (1996) 661 – 665.

[27] K. Christa, M. Soral-Śmietana, Buckwheat grains and buckwheat products - nutritional and prophylactic value of their components-a review, *Czech J. Food Sci.*, **26** (2008) 153 – 162.

[28] B. Pedersen, L. Hallgreen, I. Hansen, B. Eggum, The nutritive value of amaranth grain, *Plant Food Hum. Nutr.*, **36** (1987) 325 – 334.

[29] C.K. Sen, S. Khanna, C. Rink, S. Roy, Tocotrienols: The emerging face of natural vitamin E, *Vitam Horm.*, **76** (2007) 203 – 261.

[30] A.A. Betschart, D.W. Irving, A.D. Sheperd, R.M. Saunders, *Amarantus cruentus:* milling characteristics, distibution of nutrients within seed components, and the effects of temperature on nutritional quality, *J. Food Sci.*, **46** (1981) 1181 – 1187.

[31] A. Redondo-Cuenca, M.J. Villanueva-Suarez, M.D. Rodriguez-Sevilla, I. Mateos-Aparicio, Comercial composition and dietary fibre of yellow and green commericial soybeans (*Glycine max*), *Food Chem.*, **101** (2006) 1216 – 1222.

[32] M.J. Messina, Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects, *Am. J. Clin. Nutr.*, **70** (1999) 439S – 450S.

[33] M. Singh, A. Mohamed, Influence of gluten-soy protein blends on the quality of reduced carbohydrates cookies, *Food Sci. Technol.*, **40** (2007) 353 – 360.

[34] R. Božanić, Proizvodnja, svojstva i fermentacija sojinog mlijeka, *Mljekarstvo, **56*** (2006) 233 – 254.

[35] I. Battle, J. Tous, Carob tree, Ceratonia siliqua L., (J. Heller, J. Engels, K. Hammer, urednici), IPGRI, Rim, Italija, 1997.

[36] M.M. Özcan, D. Arslan, H. Gökçalik, Some compositional properties and mineral contents of carob (*Ceratonia siliqua*), *Int. J. Food Sci, Nutr.*, **58** (2007) 652 – 658.

[37] H. Loeb, Y. Vandenplas, P. Würsch, P. Guesry, Tannin-rich carob pod for the treatment acute onset-diarrhea, *J. Pediatr. Gastroenerol. Nutr.*, **8** (1989) 480 – 485.

[38] B. Ruiz-Roso, J.C. Quintela, E. Fuente, J. Haya, L. Pérez-Olleros, Insoluble carob fiber rich in polyphenols lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic subjects, *Plant. food. Hum. Nutr.*, **65** (2010) 50 – 56.

[39] J.H. Cummings, A.M. Stephen, Carbohydrate terminonogy and classification, *Eur J Clin Nutr*, **61** (2007) S5 – S18.

[40] FAO, Food and nutrition paper 66, Carbohydrates in human nutrition: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation (1998), Rome, Italy.

[41] J.H. Cummings, M.B. Roberfroid, H. Andersson, C. Barth, A. Ferro-Luzzi, Y. Ghoos, M. Gibney, K. Hermonsen, W.P.T. James, O. Korver, D. Lairon, G. Pascal, A.G.S. Voragen, A new look at dietary carbohydrate: chemistry, physiology and health, *Eur J Clin Nutr*, **51** (1997) 417 – 423.

[42] N. Lindeboom, P.R. Chang, R.T. Tyler, Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review, *Starch/Stärke,* **56** (2004) 89 – 99.

[43] R. F. Tester, J. Karkalas, Y. Qi, Starch-composition, fine structure and architecture, *J. Cereal Sci.*, **39** (2004) 151 – 165.

[44] A. Buléon, P. Colonna. V. Planchot, S. Ball, Starch granules: structure and biosyntesis, *Int. J. Biol. Macromol.*, **23** (1998) 85 – 112.

[45] T. Brody, Digestion and absorption of carbohydrates, u *Nutritional Biochemistry* (T. Brody, urednik), Academic Press Inc., San Diego, New york, Boston, London, Sydney, Tokio, Toronto, 1994, str. 105.

[46] A. Regina, A. Bird, D. Topping, S. Bowden, J. Freeman, T. Barsby, B Kosar-Hashemi, Z. Li, S. Rahman, M. Morell, High-amylose wheat generated by RNA interference improves indices of large-bowel health in rats,*Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **103** (2006) 3546 – 3551.

[47] M.R. Debet, M.J. Gidley, Why do gelatinized starch granules not dissolve completely? Roles for amylose, protein, and lipid in granule „ghost" integrity, *J. Agr. Food Chem.*, **55** (2007) 4752 – 4760.

[48] J. Holm, I. Björck, S. Ostrowska, A.-C. Eliasson, N.-G. Asp, K. Larsson, I. Lundquist, Digestibility of amylose-lipid complexes in-vitro and in-vivo, *Starch/Stärke,* **35** (1983) 294 – 297.

[49] L. Copeland, J. Blazek, H. Salman, M. Chiming Tang, Form and functionality of starch, *Food Hydrocolloids.*, **23** (2009) 1527 – 1534.

[50] D.L. Topping, P.M. Clifton, Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant strach and nonstarch polysaccharides, *Physiol. Rev.*, **81** (2001) 1031 – 1064.

[51] H.N. Englyst, S.M. Kingman, J.H. Cummings, Classification and measurement of nutritionally important starch fractions, *Eur J Clin Nutr.*, **46** (1992) S33 - S50.

[52] J.M. Lattimer, M.D. Haub, Effects of dietary fiber and its components on metabolic health, *Nutrients*, **2** (2010) 1266 – 1289.

[53] N. Kaur, A.K. Gupta, Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition, *J. Biosci.*, **27** (2002) 703 -714.

[54] T. Rose, M. Kunz, Production of isomalt, *Landbauforsch. Völk.*, **241** (2002) 75 – 80.

[55] A.M. Langkilde, H. Andersson, T.F. Schweizer, P. Würsch, Digestion and absorption of sorbitol, maltitol and isomalt from the small bowel. A study in ileostomy subjects, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **48** (1994) 768 -775.

[56] A. Gostner, M. Blaut, V. Schäffer, G. Kozianowski, S. Theis, M. Klingeberg, Y. Dombrowski, D. Martin, S. Ehrhardt, D. Taras, A. Schwiertz, B. Kleessen, H. Lührs, J. Schauber, D. Dorbath, T. Menzel, W. Scheppach, Effect of isomalt consumption on faecal microflora and colonic metabolism in healthy volunteers, *Brit. J. Nutr.*, **95** (2006) 40 – 50.

[57] G.R. Gibson, M.B. Roberfroid, Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics, *J. Nutr.*, **125** (1995) 1401 – 1412.

[58] H.N. Englyst, J.H. Cummings, Resistant starch, a new food component: a classification of strach for nutritional purposes, u: *Cereals in a European Context* (I.D. Morton, urednik), Ellis Horwood, Chichester, 1987, str. 221 – 233.

[59] H.C. Trowell, D.P. Burkitt, Dietary fibre: a paradigm, u: *Dietary fibre, fibre-depleted foods and disease* (H.C. Trowell, D.P. Burkitt, K.W. Heaton, urednici), Academic Press, London, 1985, str. 21 – 30.

[60] AOAC International, Official methods of analysis of AOAC International, Method 985.29, 18th edition, Gaithersburg, MD, 2005.

[61] D.A.T. Southgate, The chemistry of dietary fibre, u: *Dietary fibre analysis* (P.S. Belton, urednik), The royal society of chemistry, Cambridge, 1995, str. 14 – 28.

[62] DRI-Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (2002/2005); www.nap.edu, pristupljeno 17.12.2012.

[63] T. Brody, Nutrients that escape or resist digestion, u *Nutritional Biochemistry* (T. Brody, urednik), Academic Press Inc., San Diego, New york, Boston, London, Sydney, Tokio, Toronto, 1994, str. 107 – 124.

[64] M.A. Galvin, M. Kiely, K.E. Harrington, P.J. Robson, R. Moore, A. Flynne, The North/South Ireland Food Consumption Survey: the dietary fibre intake of Irish adults,*Public Health Nutr.*, **4** (2001) 1061 – 1068.

[65] A. Perl, Lj. Primorac, M.L. Mandić, T. Klapec, D. Kenjerić, M. Mandić, Dietary fibre intake in eastern Croatia as determined by an enzymatic-gravimetric method in duplicated portions, *Eur. Food Res. Tech.*, **217** (2003) 207 – 210.

[66] M. Viuda-Martos, M.C. López-Marcos, J. Fernández-López, E. Sendra, J.H. López-Vargas, J.A. Pérez-Álvarez, Role of fiber in cardiovascular diseases: a review, *Compr. Rev. Food Sci. Food,* **9** (2010) 240-258.

[67] M.J. Hill, Cereals, cereal fibre and colorectal cancer risk: a review of epidemiological literature, *Eur. J. Canc. Prev.*, **6** (1997) 219 – 225.

[68] D. Aune, D.S.M. Chan, R. Lau, R. Vieira, D.C. Greenwood, E. Kampman, T. Norat, Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies, *Br. Med. J.*, (2011), DOI: 10.1136/bmj.d6617.

[69] J.W. Anderson, T.F. Garrity, C.L. Wood, S.E. Whitis, B.M. Smith, P.R. Oeltgen, Prospective, randomized, controlled comparison of the effects of low-fat and low-fat plus high-fiber diets on serum lipid concentrations, *Am. J. Clin. Nutr.*, **56** (1992) 887 – 894.

[70] J.W. Anderson, P. Baird, R.H. Davis, S. Ferreri, M. Knudtson, A. Koraym, V. Waters, C.L. Williams, Health benefits of dietary fiber, *Nutr. Rev.*, **67** (2009) 188 – 205.

[71] K.M. Behall, D.J. Scholfield, J.G. Hallfrisch, H.G.M. Liljeberg-Elmståhl, Consumption of both resistant starch and β-glucan improves postprandial plasma glucose and insulin in women, *Diabetes Care*, **29** (2006) 976 – 981.

[72] C.S. Brenan, Dietary fibre, glycemic response and diabetes, *Mol. Nutr. Food Res.*, **49** (2005) 560 -570.

[73] Y. Ma, J.A. Grifffith, L. Chasan-Taber, B.C. Olendzki, E. Jackson, E.J. Stanek III, W. Li, S.L. Pagoto, A.R. Hafner, I.S. Ockene, Association between dietary fiber and serum C-reactive protein, *Am. J. Clin. Nutr.*, **83** (2006) 760 – 766.

[74] N.C. Howarth, E. Saltzman, S.B. Roberts, Dietary fiber and weight regulation, *Nutr. Rev.*, **59** (2001) 129 – 139.

[75] D.J.A. Jenkins, T.M.S. Wolever, R.H. Taylor, H. Barker, H. Fielden, J.M. Baldwin, A.C. Bowling, H.C. Newman, A.L. Jenkins, D.V. Goff, Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange, *Am. J. Clin. Nutr.*, **34** (1981) 362 – 366.

[76] The University of Sidney, About glycemic index; www.glycemicindex.com, pristupljeno 06.10.2012.

[77] J. Brand-Miller, K. Foster-Powell, Diets with a low glycemic index: from theory to practice, *Nutr. Today*, **34** (1999) 64 – 72.

[78] J.C. Brand, S. Colagiuri, S. Crossman, A. Allen, D.C. Roberts, A.S. Truswell, Low-glycemic index foods improve long-term gycemic control in NIDDM, *Diabetes Care*, **14** (1991) 95 – 101.

[79] A.M. Fontvieille, S.W. Rizkalla, A. Penfornis, M. Acosta, F.R. Bornet, G. Slama, The use of low glycaemic index foods improves metabolic control of diabetic patients over five weeks, *Diabet. Med.*, **9** (1992) 444 – 450.

[80] D.J. Jenkins, T.M. Wolever, J. Kalmusky, S. Guidici, C. Giordano, R. Patten, G.S. Wong, J.N. Bird, M. Hall, G. Buckley, Low-glycemic index diet in hiperlipidemia: use of traditional starchy foods, *Am. J. Clin. Nutr.*, **46** (1987) 66 – 71.

[81] E.S. Ford, S. Liu, Glycemic index and serum high-density lipoprotein cholesterol concentration among us adults, *Arch. Intern. Med.*, **161** (2001) 572-576.

[82] S. Liu, W.C. Willett, M.J. Stampfer, F.B. Hu, M. Franz, L. Sampson, C.H. Hennekens, J.E Manson, A prospective study of dietary glycemic load,

carbohydrate intake and risk of coronary heart disease in US women, *Am. J. Clin. Nutr.*, **71** (2000) 1455 – 1461.

[83] J. Salmerón, A. Ascherio, E.B. Rimm, G.A. Colditz, D. Spiegelman, D.J. Jenkins, M.J. Stampfer, A.L. Wing, W.C. Willett, Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men, *Diabetes Care*, **20** (1997) 545 – 550.

[84] F.B. Hu, J.E Manson, S. Liu, D. Hunter, G.A. Colditz, K.B. Michels, F.E. Speizer, E. Giovannucci, Prospective study of adult onset diabetes mellitus (type 2) and risk of colorectal cancer in women, *J. Natl. Cancer I.*, **91** (1999) 542 – 547.

[85] L.S.A. Augustin, L. Dal Maso, C. La Vecchia, M. Parpinel, E. Negri, S. Vaccarella, C.W.C. Kendall, D.J.A. Jenkins, S. Franceschi, Dietary glycemic index and glycemic load, and breast cancer risk: a case-control study, *Ann. Oncol.*, **12** (2001) 1533 – 1538.

[86] A. Ceriello, N. Bortolotti, E. Motz, A. Crescentini, S. Lizzio, A. Russo, L. Tonutti, C. Taboga, Meal-generated oxidative stress in type 2 diabetic patients, *Diabetes Care*, **21** (1998) 1529 – 1533.

[87] D.E. Thomas, J.R. Brotherhood, J.C. Brand, Carbohydrate feeding before exercise: effect of glycemic index, *Int. J. Sports Med.*, **12** (1991) 180 – 186.

[88] D. Benton, M.-P. Ruffin, T. Lassel, S. Nabb, M. Messaoudi, S. Vinoy, D. Desor, V. Lang, The delivery rate of dietary carbohydrates affects cognitive performance in both rats and humans, *Psychopharmacology*, **166** (2003) 86 – 90.

[89] FAO/WHO, Diet, nutrition and prevention of chronic diseases: WHO Technical Report Series 916, 2003.

[90] D.J.A. Jenkins, D. Reynolds, A.R. Leeds, A.L. Waller, Hypocholesterolemic action of dietary fiber unrelated to fecal bulking effect, *Am. J. Clin. Nutr.*, **32** (1979) 2430 – 2435.

[91] H.J. Delargy, K.R. O'Sullivan, R.J. Fletcher, J.E. Blundell, Effects of amount and type of dietary fibre (soluble and insoluble) on short-term control of appetite, *Int. J. Food Sci. Nutr.*,**48** (1997) 67 - 77.

[92] S. Gorinstein, Z. Zachwieja, M. Folta, H. Barton, J. Piotrowitz, M. Zemser, M. Weisz, S. Trakhtenberg, O. Màrtin-Belloso, Comparative contents of dietary fiber,

total phenolics, and minerals in persimmons and apple, *J. Agric. Food Chem.,* **49** (2001) 952 - 957.

[93] J.K. Chavan, S.S. Kadam, Nutritional enrichment of bakery products by supplementation with nonwheat flours, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **33** (1993) 189 - 226.

[94] M. Duranti, Grain legume proteins and nutraceutical properties, *Fitoterapia*, **77** (2006) 67 – 82.

[95] A. Sindhuja, M.L. Sudha, A. Rahim, Effect of incorporation of amaranth flour on the quality of cookies, *Eur. Food Res. Technol.*, **221** (2005) 597 – 601.

[96] C.S. Brennan, L.J. Cleary, The potential use of cereal (1->3, 1->4)- β-D-glucans as a functional food ingredients, *J. Cereal Sci.*, **42** (2005) 1 – 13.

[97] F.S. Calixto, J. Cañellas, Components of nutritional interest in carob pods (*Ceratonia siliqua*), *J. Sci. Food Agric.*, **33** (1982) 1319 – 1323.

[98] Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, AACC, Method no. 46-12, Crude Protein—Kjeldahl Method, Boric Acid Modification (2000).

[99] FAO, Food energy - methods of analysis and conversion factors. *Food and nutrition paper 77*, (2003). Food and agriculture organization of united nations, Rome, Italy.

[100] J.M. Lynch, D.M. Barbano, Kjeldahl nitrogen analysis as a reference method for protein determination in dairy products, *J. AOAC Int.*, **82** (1999) 1389 - 1398.

[101] T. Kumagai, H. Kawamura, T. Fuse, T. Watanabe, Y. Saito, T. Masumura, R. Watanabe, M. Kadowaki, Production of rice protein by alkaline extraction improves its digestibility, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **52** (2006) 467 – 472.

[102] W.R. Akeson, M.A. Stahman, A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation, *J. Nutr.*, **83** (1964) 257 - 261.

[103] Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, AACC, Method no. 46-13, Crude Protein - Micro-Kjeldahl Method, (2000).

[104] Association of Official Analytical Chemists, AOAC, Method no. 920.39C; Fat (crude) or ether extract in food and animal feed, Soxhlet method (2000).

[105] Association of Official Analytical Chemists, AOAC, Method no. 942.05, Determination of ash in feeds (2000).

[106] Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, AACC, Method no. 44-15A, Moisture - Air-Oven Method (2000).

[107] J. Trajković, M. Mirić, J. Baras, S. Šiler, Metode određivanja vode, u: *Analize životnih namirnica* (O. Stojanović, urednik), Tehnološko – metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, 1983, str. 12 - 14.

[108] Association of Official Analytical Chemists, AOAC, Method no. 991.43, Determination of total, soluble and insoluble dietary fibre using MES/TRIS buffer (1991).

[109] F. Brouns, I. Bjorck, K.N. Frayn, A.L. Gibbs, V. Lang, G. Slama, T.M.S. Wolever, Glycaemic index methodology, *Nutr. Res. Rev.*, **18** (2005) 145 - 171.

[110] T.M.S. Wolever, D.J.A. Jenkins, A.L. Jenkins, R.G. Josse, The glycemic index methodology and clinical implications, *Am. J. Clin. Nutr.*, **54** (1991) 846 - 854.

[111] M. Filajdić, D. Viličić, Metode za organoleptičku procjenu namirnica, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 1983., str. 57 - 60.

[112] M.L. Sudha, R. Vetrimani, K. Leelavathi, Influence of fibre from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality, *Food Chem.*, **100** (2007) 1365 – 1370.

[113] E. Zoulias, V. Oreopoulou, E. Kounalaki, Effect of fat and sugar replacement on cookie properties, *J. Sci. Food Agric.*, **82** (2002) 1637 – 1644.

[114] M.L. Sudha, A.K. Srivastava, R. Vetrimani, K. Leelavathi, Fat replacement in soft dough biscuits: Its implications on dough rheology and biscuit quality, *J. Food Eng.*, **80** (2007) 922 – 930.

[115] F.D. Conforti, S.A. Charles, S.E. Duncan, Sensory evaluation and consumer acceptance of carbohydrate-based fat replacers in biscuits, *Int. J. Consum.*, **20** (1996) 285 – 296.

[116] L.L. Rankin, M. Bingham, Acceptability of oatmeal chocolate chip cookies prepared using pureed white beans as a fat ingredient substitute, *J. Am. Diet. Assoc.*, **100** (2000) 831 – 833.

[117] B. Wekwete, K.P. Navder, Effect of avocado puree as a fat replacer on the physical, textural and sensory properties of oatmeal cookies, J. Am. Diet. Assoc., **105** (2005) 47 – 47.

[118] E. Gallagher, C.M. O'Brien, A.G.M. Scannell, E.K. Arendt, Evaluation of sugar replacers in short dough biscuit production, *J. Food Eng.*, **56** (2003) 261 – 263.

[119] E.I. Zoulias, S. Piknis, V. Oreopoulou, Effect of sugar replacement by polyols and acesulfame-K on properties of low-fat cookies, *J. Sci. Food Agric.*, **80** (2000) 2049 – 2056.

[120] B. Pareyt, M. Goovaerts, W.F. Broekaert, J.A. Delcour, Arabinoxylan oligosaccharides (AXOS) as a potential sucrose replacer in sugar-snap cookies, *J. Food Sci. Tech.*, **44** (2011) 725 – 728.

[121] A. Zaker, T.R. Genitha, S.I. Hashimi, Effects of Defatted soy flour incorporation on physical, sensorial and nutritional properties of biscuits, J. Food Process Technol., **3** (2012) 1 – 4.

[122] N. Mishra, R. Chandra, Development of functional biscuit from soy flour & rice bran, *Int. J. Agric. Food Sci.*, **2** (2012) 14 – 20.

[123] S.K. Tyagi, M.R. Manikantan, H.S. Oberoi, G. Kaur, Effect of mustard incorporation on nutritional, textural and organoleptic characteristic of biscuits, *J Food Eng.*, **80** (2007) 1043 – 1050.

[124] S. Srivastava, T.R. Genitha, V. Yadav, Preparation and quality evaluation of flour and biscuit from sweet potato, *J. Food Process. Technol.*, **3:12** (2012) 1 – 5.

[125] B. Filipčev, O. Šimurina, M. Sakač, I. Sedej, P. Jovanov, M. Pestorić, M. Bodroža-Solarov, Feasibility of use of buckwheat flour as an ingredient in ginger nut biscuit formulation, *Food Chem.*, **125** (2011) 164 – 170.

[126] B. Hozová, V. Buchtová, L. Dodok, J. Zamanovič, Microbiological, nutritional and sensory aspects of stored amaranth biscuits and amaranth crackers, *Nahrung*, **41** (1997) 155 – 158.

[127] N. Bilgiçli, Ş. İbanoğlu, E.N. Herken, Effect of dietary fibre addition on the selected nutritional properties of cookies, *J. Food Eng.*, **78**, (2007) 86 – 89.

[128] W.J.Boobier, J.S. Baker, B. Davies, Development of a healthy biscuit: an alternative approach to biscuit manufacture, *Nutr. J.*, **5** (2006) 1 – 7.

[129] W.J. Boobier, J.S. Baker, D. Hullen, M.R. Graham, B. Davies, Functional biscuits and coronary heart disease risk factors, *Brit. Food J.*, **3** (2007), 260 – 267.

[130] F. Marangoni, A. Poli, The glycemic index of bread and biscuits is markedly reduced by the addition of a proprietary fiber mixture to the ingredients, *Nutr. Metab. Cardiovas.,* **18** (2008) 602 – 605.

[131] A.L. Jenkins, D.J.A. Jenkins, T.M.S. Wolever, A.L. Rogovik, E. Jovanovski, V. Božikov, D. Rahelić, V. Vuksan, Comparable postprandial glucose reductions with viscous fiber blend enriched biscuit in healthy subjects and patients with diabetes mellitus: acute randomized controlled clinical trial, *Croat. Med. J.*, **49** (2008) 772 – 782.

[132] L. Laguna, A. Salvador, T. Sanz, S.M. Fiszman, Performance of a resistant starch rich ingredient in the baking and eating quality of short-dough biscuits, *Food Sci. Technol.*, **44** (2011) 737 – 746.

[133] A. Aparicio-Saguilán, S.G. Sáyago-Ayerdi, A. Vargas-Torres, J. Tovar, T.E. Ascencio-Otero, L.A. Bello-Pérez, Slowly digestible cookies prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch, *J. Food Compos. Anal.*, **20**, 175 – 181.

[134] A. Agama-Acevedo, J.J. Islas-Hernández, G. Pacheco-Vargas, P. Osorio-Díaz, Starch digestibility and glycemic index of cookies partially substituted with unripe banana flour, *Food Sci. Technol.*, **46** (2012) 177 – 182.

[135] M.B. Roberfroid, Caloric value of inulin and oligofructose, J. Nutr., **129** (1999) 1436 – 1437.

[136] Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods: http://.eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1924:20080304:EN:PDF

[137] D. Vitali, I. Vedrina Dragojević, B. Šebečić, Bioacessibility of Ca, Mg, Mn and Cu from whole grain tea biscuits: Impact of proteins phytic acid and polyphenols. *Food Chemistry,* **110** (2008) 62 – 68.

[138] D. Vitali, I. Vedrina Dragojević, B. Šebečić, Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits, *Food Chemistry,* **114** (2009) 1462 – 1469.

[139] Food and Nutrition Board, Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients) (2005).

[140] P. Rayas-Duarte, C.M. Mock, D. Satterlee, Quality of spaghetti containing buckwheat, amaranth, and lupin flours, *Cereal Chem.*, **73(3)** (1996) 381 – 387.

[141] V. Rani, R.B. Grewal, N. Khetarpaul, Sensory and nutritional evaluation of soy supplemented nutritious baked products, *J. Dairying, foods & H.S.*, **27** (2008) 209 – 215.

[142] G.S. Gilani, C.W. Xiao, K.A. Cockell, Impact of antinutritional factors in food proteins on the digestibility of protein and the bioavailability of amino acids and on protein quality, *Brit. J. Nutr.*, **108** (2012) S315 – S332.

[143] R. Avallone, M. Plessi, M. Baraldi, A. Monzani, Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins, *J. Food Compost. Anal.*, **10** (1997)166 – 172.

[144] D.J. Gallant, B. Bouchet, A. Buléon, S. Pérez, Physical characteristic of starch granule and susceptibility to enzymatic degradation, *Eur. J. Clin. Nutr.* **46** (1992) 3 – 16.

[145] C.G. Oates, Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis, *Trends Sci. Food Tech.*, **8** (1997) 375 – 382.

[146] J. Singh, A. Dartois, L. Kaur, Starch digestibility in food matrix: a review, *Trends Sci. Food Tech.*, **21** (2010) 168 – 180.

[147] L. Bravo, H.E. Englyst, G.J. Hudson, Nutritional evaluation of carbohydrates in the Spanish diet: Non-starch polysaccharides and in vitro starch digestibility of breads and breakfast products, *Food Res. Int.*, **31** (1998) 129 – 135.

[148] M. Garsetti, S. Vinoy, V. Lang, S. Holt, S. Loyer, J.C. Brand-Miller, The glycemic and insulinemic index of plain sweet biscuits: relationships to *in vitro* starch digestibility. *J. Am. Coll. Nutr.*, **24** (2005) 441 – 447.

[149] U. Lehmann, F. Robin, Slowly digestible starch – its structure and health implications: a review, *Trends Food Sci. Tech.,* **18** (2007) 346 – 355.

[150] S. Ragaee, I. Guzar, N. Dhull, K. Seetharaman, Effects of fiber addition on antioxidant capacity and nutritional quality of wheat bread, *Food Sci. Technol.*, **44** (2011) 2147 – 2153.

[151] R. Baixauli, A, Salvador, S. Martínez-Cervera, S.M. Fiszman, Distinctive sensory features introduced by resistant starch, *Food Sci. Technol.*, **41** (2008) 1927 – 1933.

[152] A. Perera, V. Meda, R.T. Tyler, Resistant starch: a review of analytical protocols for determing resistant starch and of factors affecting the resistant starch of foods, *Food Res. Int.*, **43** (2010) 1959 – 1974.

[153] K.N. Englyst, S. Vinoy, H.N. Englyst, V. Lang, Glycaemic index of cereal products explained by their content of rapidly and slowly available glucose, *Brit. J. Nutr.*, **89** (2003) 329 – 339.

[154] R.C. Eerlingen, M. Deceuninck, J.A. Delcour, Enzyme-resistant starch. II. Influence of amylose chain length on resistant starch formation, *Cereal Chem.*, **70(3)** (1993) 345 – 350.

[155] S. Zabar, E. Shimoni, H. Bianco-Peled, Development of nanostructure in resistant starch type III during thermal treatments and cycling, *Macromol. Biosci.*, **8** (2008) 163 – 170.

[156] H.-M. Chung, H.S. Lim, S.-T. Lim, Effect of partial gelatinization and retrogradation on the enzymatic digestion of waxy rice starch, *J. Cereal Sci.*, **43** (2006) 353 – 359.

[157] M.A.-A. El-Sayed, I. Rabalski, Effect of baking on nutritional properties of starch in organic spelt whole grain products, *Food Chem.*, **11** (2008) 150 – 156.

[158] V.D. Capriles, K.D. Coelho, A.C. Guerra-Matias, J.A.G. Arêas, Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index, *J. Food Sci.*, **73** (2008) 160 – 164.

[159] B. Svihus, A.K. Uhlen, O.M. Harstad, Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: a review, *Anim. Feed Sci. Tech.*, **122** (2005) 303 – 320.

[160] T.M.S. Wolever, Relationship between dietary fiber content and composition in foods and glycemic index, *Am. J. Clin. Nutr.*, **51** (1990) 72 – 75.

[161] D.J.A. Jenkins, M.J. Thorne, T.M.S. Wolever, A.L. Jenkins, R. Venketschwer, L.U. Thompson, The effect of starch-protein interaction in wheat on the glycemic response and rate of in vitro digestion, *Am. J. Clin. Nutr.*, **45** (1987) 496 – 451.

[162] C. Berti, P. Riso, L.D. Monti, M. Porrini, *In vitro* digestibility and in vivo glucose response of gluten-free foods and their gluten counterparts, *Eur. J. Nutr.*, **43** (2004) 198 – 204.

[163] S.C. Packer, A. Dornhorstt, G.S. Frost, The glycaemic index of a range of gluten-free foods, *Diabetic Med.*, **17** (2000) 657 – 660.

[164] M. Sugiyama, A.C. Tang, Y. Wakaki, W. Koyama, Glycemic index of single and mixed meal foods among common Japanese foods with white rice as a reference food, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **57** (2003) 743 – 752.

[165] R.M. Blair, E.C. Henley, A. Tabor, Soy foods have low glycemic and insulin response indices in normal weight subjects, *Nutr. J.*, **5**:35 (2006) 1 – 10.

[166] A. Chaturvedi, G. Sarojini; G. Nirmala, N. Nirmalamma, D. Satyanarayana, Glycemic index of grain amaranth, wheat and rice in NIDDM subjects, *Plant Food Hum. Nutr.*, **50** (1997) 171 – 178.

[167] V. Škrabanja, H.G.M. Liljeberg Elmståhl, I. Kreft, I.M.E. Björck, Nutritional properties of starch in buckwheat products: studies in vitro and in vivo, *J. Agric. Food Chem.*, **49** (2001) 490 – 496.

[168] C.M. Tudorica, V. Kuri, C.S. Brennan, Nutritional and physicochemical characteristics of dietary fiber enriched pasta, *J. Agr. Food Chem.*, **50** (2002) 347 – 356.

[169] C.S. Brennan, V. Kuri, C.M. Tudorica, Inulin-enriched pasta: effects on textural properties and starch degradation, *Food Chem.*, **86** (2004) 189 – 193.

[170] S. Dhingra, S. Jood, Organoleptic and nutritional evaluation of wheat breads supplemented with soybean and barley flour, *Food Chem.*, **77** (2001) 479 – 488.

[171] B. Filipčev, O. Šimurina, M. Sakač, I. Sedej, P. Jovanov, M. Pestorić, M. Bodroža-Solarov, Feasibility of use of buckwheat flour as an ingredient in ginger nut biscuit formulatiom, *Food Chem.*, **125** (2011) 164 – 170.

[172] D. Dhingra, M. Michael, H. Rajput, R.T. Patil, Dietary fibre in foods: a review, *J. Food Sci. Technol.*, **49** (2012) 255 – 266.

[173] B.-Z. Han, F.M. Rombouts, M.J.R. Nout, A chinese soybean food, *Int. J. Food Microbiol.*, **65** (2001) 1 – 10.

[174] A. Drenowski, K. Nordensten, J. Dwyer, Replacing sugar and fat in cookies: impact on product quality and preference, *Food Qual. Prefer.*, **9** (1998) 13 – 20.

[175] L. Abdallah, M. Chabert, B. Le Roux, J. Louis-Sylvestre, Is pleasantness of biscuits and cakes related to their actual or to their perceived sugar and fat contents?, *Appetite*, **30** (1998) 309 – 324.

8. ŽIVOTOPIS

Lovorka Vujić, mag. med. biochem., rođena je 23. ožujka 1977. godine u Rijeci. Nakon završene osnovne škole i prirodoslovno–matematičke gimnazije u Zagrebu, 1995. godine upisuje Farmaceutsko–biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, smjer medicinska biokemija. U sklopu stipendije CEEPUS programa boravila je na Karlovom Sveučilištu u Pragu, Češka, a diplomski rad izradila je u Zavodu za medicinsku biokemiju i hematologiju, te diplomirala u srpnju 2001. godine.

Pripravnički staž odradila je na Klinici za dijabetes, endokrinologiju i bolesti metabolizma „Vuk Vrhovac“, a u travnju 2003. godine položila je stručni ispit.

Tijekom 2003. godine radila je u tvrtci „Kemolab“, a od 01. listopada 2003. zaposlena je u Zavodu za kemiju prehrane Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta kao mlađa asistentica. Iste godine upisala je poslijediplomski studij na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, smjer „Medicinska biokemija“, a 2007. godine nakon stečenih uvjeta upisuje i doktorski studij „Farmaceutsko-biokemijske znanosti“. U Zavodu za kemiju prehrane sudjeluje u izvođenju praktične nastave iz kolegija „Biokemija prehrane“ za studente VI semestra Studija farmacija i studente VIII semestra Studija medicinska biokemija, također sudjeluje u izvođenju seminara iz kolegija „Dijetoterapija“ za studente IX semestra Studija farmacija (modul ljekarništvo i modul istraživanje i razvoj lijekova) i studente IX semestra Studija medicinska biokemija, te u praktičnom radu diplomanada. U akademskoj godini 2010/2011. sudjelovala je u izvođenju nastave iz kolegija „Zdravstvena ekologija“ za studente III semestra Studija farmacija i Studija medicinska biokemija.

Član je Hrvatskog društva medicinskih biokemičara, kao i Hrvatske komore medicinskih biokemičara.

U navedenom razdoblju objavila je 15 znanstvenih radova, od toga 4 znanstvena rada u časopisima zastupljenim u Current Contents bazi, 2 znanstvena rada u časopisima sa naznačenom kategorizacijom, 9 znanstvenih radova u zbornicima skupova s međunarodnom recenzijom, te je aktivno sudjelovala s 23 posterska ili usmena priopćenja na međunarodnim znanstvenim skupovima i domaćim znanstvenim skupovima s međunarodnim sudjelovanjem.

POPIS OBJAVLJENIH RADOVA:

Znanstveni radovi zastupljeni u Current Contents bazi:

1. **L. Vujić**, D. Vitali Čepo, B. Šebečić, I. Vedrina Dragojević, Effect of pseudocereals, legumes and inulin addition on selected nutritional properties and glycaemic index of whole grain wheat based biscuits. *Journal of Food and Nutrition Research* (u tisku).
2. V. Dunkić, D. Kremer, I. Dragojević Müler, E. Stabentheiner, S. Kuzmić, R. Jurišić Grubešić, **L. Vujić,** I. Kosalec, M. Randić, S. Srečec, N. Bezić, Chemotaxonomic and micromorphological traits of Satureja montana L. and S. subspicata Vis. (Lamiaceae). *Chemistry & Biodiversity*. **9** (2012) 12, 2825 – 2842.
3. D. Kremer, E. Stabentheiner, V. Dunkić, I. Dragojević Müller, **L. Vujić,** I. Kosalec, D. Ballian, F. Bogunić, N. Bezić, Micromorphological and Chemotaxonomical Traits of Micromeria croatica (Pers.) Schott. *Chemistry & Biodiversity*. **9** (2011) 4, 755 – 768.
4. D. Vitali, I. Vedrina Dragojević, B. Šebečić, **L. Vujić,** Impact of modifying tea-biscuit composition on phytate levels and iron content and availability. *Food Chemistry*. **102** (2007) 1, 82 – 89.

Znanstveni radovi u časopisima s naznačenom kategorizacijom:

1. **L. Vujić,** B. Šebečić, K. Gali, M. Babić, D. Vitali, Macronutrients content and energy value of fiber rich biscuits. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. **72** (2007) 3, 271 – 275.
2. D. Juretić, A. Motejlkova, B. Kunović, B. Rekić, Z. Flegar-Meštrić, **L. Vujić,** R. Mesić, J. Lukač-Bajalo, V. Simeon-Rudolf, Paraoxonase/arylesterase in serum of patients with type II diabetes mellitus. *Acta Pharmaceutica*. **56** (2006) 1, 59 – 68.

Znanstveni radovi u zbornicima skupova s međunarodnom recenzijom:

1. **L. Vujić**, I. Vedrina Dragojević, D. Vitali, Influence of technological processing on available methionine stability in dietetic tea biscuits, 7th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists, Opatija, 20.-23. 9. 2011. Book of

proceedings of 7th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists (2011) 191 – 194.

2. D. Vitali Čepo, M. Vasung, **L.Vujić**, The effect of extraction of the total phenolic content, tannin content and antiradical activity of carob extract, 7th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists, Opatija, 20.-23. 9. 2011. Book of proceedings of 7th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists (2011) 185 – 190.
3. **L. Vujić**, D. Vitali, M. Vasung, I. Vedrina-Dragojević, Effect of dietary fiber on in vitro starch digestibility in dietetic biscuits, 5th Central European Congress on Food, CEFood Congress, Bratislava, Slovačka, 19-22.05.2010. Proceedings of 5th Central European Congress on Food (2010) 14 – 19.
4. D. Vitali, **L. Vujić**, M. Vasung, I. Vedrina-Dragojević, Different approaches (physiological vs. chemical) to estimation of antioxidant activity of breakfast cereals. 5th Central European Congress on Food, CEFood Congress, Bratislava, Slovačka, 19-22.05.2010. Proceedings of 5th Central European Congress on Food (2010) 7 – 13.
5. M. Vasung, D. Vitali, **L. Vujić**, I. Vedrina Dragojević: „Optimization of extraction conditions for determination of Oxygen Radical Scavenging Activity in amaranth. 5th Central European Congress on Food, CEFood Congress, Bratislava, Slovačka, 19-22.05.2010. Proceedings of 5th Central European Congress on Food (2010) 1 – 6.
6. I. Vedrina Dragojević, D. Vitali, **L. Vujić**, Effect of drying and freezing on degradation degree of beta carotene in different vegetable species, EurofoodChem XV, Kopenhagen, 5-8. 7. 2009. Food for the future - the contribution of chemistry to improvement of food quality (2009) 165 – 168.
7. I. Vedrina Dragojević, D. Vitali, B. Šebečić, **L. Vujić**, Ca and P content in dietetic biscuits enriched with different dietary fiber, EurofoodChem XIII, Hamburg, Njemačka, 21-23.09.2005. Macromolecules and Their Degradation Products in Food-Physiological, Analytical and Technological Aspects (2005) 284 – 287.
8. D. Vitali, I. Vedrina Dragojević, B. Šebečić, **L. Vujić**, I. Šimić, Effect of phytic acid on iron availability in dietary fiber-rich biscuits, EurofoodChem XIII, Hamburg, Njemačka, 21-23.09.2005. Macromolecules and Their Degradation Products in Food-Physiological, Analytical and Technological Aspects (2005) 280 – 283.

9. **L. Vujić**, B. Šebečić, I. Vedrina Dragojević, D. Vitali, M. Kostreš, Intake of dietary fibers by enriched dietetic biscuits, EurofoodChem XIII, Hamburg, Njemačka, 21-23.09.2005. Macromolecules and Their Degradation Products in Food-Physiological, Analytical and Technological Aspects (2005) 288 – 290.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu **Doktorski rad**
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za kemiju prehrane
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

UTJECAJ SIROVINSKOGA SASTAVA NA GLIKEMIJSKI INDEKS KEKSA KAO FUNKCIONALNE NAMIRNICE

Lovorka Vujić

SAŽETAK

Obzirom na porast svjesnosti o preventivnoj i protektivnoj ulozi prehrane kod mnogih oboljenja, u okviru ovog rada istraživane su mogućnosti razvoja keksa nižeg glikemijskog indeksa kao funkcionalnog proizvoda na bazi žitarica. Istraživanja su provedena na šesnaest vrsta laboratorijski pripremljenih keksa u kojima je suplementiran određeni udio bijelog pšeničnog brašna s integralnim žitaricama (zobeno i ječmeno brašno), integralnim pseudožitaricama (brašno heljde i amaranta), leguminozama (brašno rogača i soje) ili čistim prehrambenim vlaknima (zobena i jabučna vlakna). Preliminarna istraživanja bila su temelj za odabir najoptimalnijih receptura u koje je dodatno još uveden i inulin. Makronutritivne komponente (proteini, lipidi, dostupni ugljikohidrati, prehrambena vlakna) određene su standardnim analitičkim metodama, a *in vitro* probavljivost škroba kontroliranom enzimskom simulacijom gastrointestinalne digestije. U svrhu određivanja tehnološkog utjecaja (pečenja) na promatrane parametre, istraživanja su provedena i u uzorcima poluproizvoda (tijesta). Svim uzorcima keksa procijenjene su organoleptičke karakteristike iskazane ponderiranim bodovima. Glikemijski indeks (GI) završnih uzoraka keksa određen je sa zdravim dobrovoljcima oba spola i različite dobi.

Rezultati kemijskih analiza pokazali su da je supstituiranjem integralnih žitarica, pseudožitarica i leguminoza moguće dobiti keks bolje makronutritivne kvalitete i protektivnih svojstava. Uvođenje čistih zobenih i jabučnih vlakana rezultiralo je povećanom protektivnom, ali smanjenom nutritivnom kvalitetom keksa, osobito obzirom na proteinsku komponentu. Očito je da čista prehrambena vlakna nisu sirovina izbora za kreiranje funkcionalnog keksa dobrih nutitivnih karakteristika. Smanjenjem udjela izomalta i lipidne komponente, te uvođenjem inulina smanjena je ukupna energijska vrijednost za 11.5%, te postignut gotovo optimalno uravnotežen izvor energije od pojedinih makronutrijenata. Uvođenje pseudožitarica i leguminoza rezultiralo je značajnim padom brzo dostupne glukoze (9.62-47.55%) i brzo probavljivog škroba (9.77-50.39%). Značajan porast udjela rezistentnog škroba postignut je uvođenjem pseudožitarica (43.32-55.94%). Utvrđeno je da pečenje značajno povećava probavljivost škroba i udio brzo dostupne glukoze. Provedene modifikacije rezultirale su povećanjem ukupne organoleptičke prihvatljivosti, u odnosu na referentni uzorak, kod svih istraživanih keksa osim uzorka s dodatkom brašna soje. Analiza rezultata pokazuje da niti jedan od istraživanih keksa nema visok glikemijski indeks. Referentni uzorak, uzorak s dodatkom šećera, te uzorci s heljdom i bez inulina imaju srednji GI (58.7-66.9), a s brašnom amaranta, soje ili rogača imaju nizak GI (44.9-52.5). Utvrđena je vrlo dobra korelacija između rezultata dobivenih *in vitro* metodom i vrijednosti GI koja ukazuje da je kreiranje keksa s nižim stupnjem probavljivosti škroba dobar pristup u snižavanju glikemijskog indeksa keksa, a time i povećanja njegovih funkcionalnih svojstava. Kao rezultat ovog istraživanja može se zaključiti da je uvođenjem odabranih sirovina moguće poboljšati nutritivni sastav, sniziti kalorijsku (energijsku) vrijednost, te sniziti glikemijski indeks, odnosno poboljšati funkcionalna svojstva keksa uz istodobno održavanje zadovoljavajućih organoleptičkih svojstava.

Rad je pohranjen u Centralnoj knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Rad sadrži: 147 stranica, 36 grafičkih prikaza, 42 tablice i 175 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: funkcionalna hrana, keks, integralne sirovine, prehrambena vlakna, *in vitro* probavljivi škrob, glikemijski indeks

Mentorica: **Dr. sc. Irena Vedrina Dragojević**, *redoviti profesor, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.*

Povjerenstvo: **Dr. sc. Dubravka Vitali Čepo**, *docent, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.*

Dr. sc. Zdenka Kalođera, *redoviti profesor, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.*

Dr. sc. Donatella Verbanac, *docent, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.*

Rad prihvaćen: 13. studenog 2013.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Food Chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Doctoral thesis

EFFECT OF RAW MATERIAL COMPOSITION ON GLYCAEMIC INDEKS OF BISCUIT AS A FUNCTIONAL FOOD

Lovorka Vujić

SUMMARY

Considering the increasing awareness of preventive and protective role of diet in many diseases, in the framework of this work, the possibilities of developing biscuits with lower glycaemic index as functional cereal-based products were investigated. Sixteen types of laboratory prepared biscuits were investigated, where a certain proportion of white wheat flour in the recipe was substituted with whole grain cereals (oat- and barley flour), whole grain pseudocereals (buckwheat- and amaranth flour), legumes (soy- and carob flour) or pure fibre (oat- and apple fibre). Preliminary investigations were the basis for selecting the most optimal formulation that was additionally supplemented with inulin. Macronutritive components (proteins, lipids, available carbohydrates, dietary fibre) were determined by standard methods of analysis, and *in vitro* digestibility of starch was determined by controlled enzymatic simulation of gastrointestinal digestion. To determine the impact of technological process (baking) on the observed parameters, investigations have been conducted in dough as well. All biscuits were conducted to organoleptic analysis and obtained results were presented by the weighted score. The glycaemic index (GI) of the final samples of biscuits was determined with healthy volunteers of both sexes and different ages. Results of the chemical analysis showed that by substitution of whole grain cereals, pseudocereals and legumes, it is possible to achieve a better macronutritive quality and protective characteristics of biscuit. Introducing pure oat and apple fibre resulted in increased protective, but decreased nutritional quality of biscuits, especially regarding protein component. It is obvious that pure dietary fibre are not raw materials of choice for creating functional biscuits with good nutritive characteristics. Reduction of isomalt content and lipid component and the introduction of inulin reduced the total energy value for 11.5%, and resulting in formulation with nearly optimally balanced energy source of each macronutrient. Introducing pseudocereals and legumes resulted in a significant decline of rapidly available glucose (9.62-47.55%), and rapidly digestible starch (9.77-50.39%). Significant increase of resistant starch content was achieved by pseudocereals implementation (43.32-55.94%). It was found that baking significantly increased the digestibility of starch and rapidly available glucose. Performed modifications resulted in an increase of overall organoleptic acceptability in all investigated samples, compared to the reference sample, except in biscuit supplemented with soy flour. The results show that none of the investigated biscuits had high glycaemic index. Reference sample, a sample with added sugar, and samples with buckwheat and without inulin had medium GI (58.7-66.9), while samples with amaranth-, soy- or carob flour had a low GI (44.9-52.5). A very good correlation between the results obtained by *in vitro* method and obtained GI values was determined indicating that the formulation of biscuits with lower starch digestibility represents good approach in lowering glycemic index of biscuits, and increasing its functional properties. As a result of this investigation it can be concluded that the introduction of selected raw materials to standard biscuit recipe can improve the nutritive composition, lower caloric (energy) value, lower the glycaemic index, and respectively improve the functional properties of biscuits while maintaining satisfactory organoleptic properties.

The thesis is deposited in the Central Library of Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 147 pages, 36 figures, 42 tables i 175 references. Original is in Croatian language.

Key words: functional food, biscuit, whole grain raw material, dietary fibre, *in vitro* digestible starch, glycaemic index

Supervisor: **Irena Vedrina Dragojević**, **Ph.D.** *Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb.*

Reviewers:: **Dubravka Vitali Čepo**, **Ph.D.** *Assistant Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb.*
Zdenka Kalođera, **Ph.D.** *Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb.*
Donatella Verbanac Ph.D. *Assistant Professor, School of Medicine, University of Zagreb.*

The thesis accepted: November 13, 2013