

# Trajnost keksa bez šećera s dodatkom nusproizvoda prosa i heljde

---

**Kuzmić, Ivana**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:877062>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-22**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2020

Ivana Kuzmić

1241/PI

**TRAJNOST KEKSA BEZ ŠEĆERA  
S DODATKOM NUSPROIZVODA  
PROSA I HELJDE**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju žitarica na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc. Nikoline Čukelj Mustač, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te uz pomoć Kristine Radoš, mag. ing.

Diplomski rad izrađen je u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta Hrvatske zaklade za znanost: Od nusproizvoda u preradi žitarica i uljarica do funkcionalne hrane primjenom inovativnih procesa (IP-2016-06-3789).

## ZAHVALA

*Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Nikolini Čukelj Mustač na vodstvu, stručnim savjetima i prenesenom znanju. Hvala na susretljivosti, strpljivosti i pomoći pri izradi diplomskog rada. Također zahvaljujem i Kristini Radoš, mag. ing. na pomoći prilikom izrade eksperimentalnog dijela.*

*Posebno zahvaljujem svojoj obitelji na omogućenoj prilici za nastavak školovanja i na bezuvjetnoj potpori tijekom cijelog razdoblja studiranja*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

### TRAJNOST KEKSA BEZ ŠEĆERA S DODATKOM NUSPROIZVODA PROSA I HELJDE

*Ivana Kuzmić, 1241/PI*

**Sažetak:** Nusproizvodi mlinske industrije mogu poboljšati nutritivna svojstva prehrambenog proizvoda, ali i značajno utjecati na njegovu trajnost i senzorska svojstva. Stoga je u ovom radu ispitan utjecaj dodatka 10 % posija prosa (dva različita stupnja usitnjenosti) i 2 % ljuski heljde na trajnost integralnih pšeničnih keksa bez šećera. Provodila se metoda ubranog kvarenja, a određivan je udio slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj, tekstura, senzorske karakteristike keksa i mikrobiološka ispravnost tijekom 43 dana skladištenja na 43 °C. Ustanovljeno je da dodatak nusproizvoda, i to prvenstveno prosa, povećava udio slobodnih masnih kiselina i peroksidni broj u odnosu na kontrolni uzorak. Senzorskim analizama utvrđeno je da nusproizvodi pozitivno utječu na teksturu keksa tijekom skladištenja, ali i na razvoj gorkog okusa zbog čega je smanjena ukupna prihvatljivost. Također je utvrđeno da utjecaj usitnjenih posija prosa na svojstva keksa nije značajno drugačiji od nativnih posija. Na temelju dobivenih rezultata rok trajnosti svih keksa procijenjen je na 5 mjeseci.

**Ključne riječi:** keks, posije prosa, senzorska svojstva, tekstura, trajnost

**Rad sadrži:** 42 stranice, 11 slika, 3 tablice, 68 literaturnih navoda, 0 priloga

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** doc. dr. sc. *Nikolina Čukelj Mustać*

**Pomoćpri izradi:** *Kristina Radoš, mag. ing.*

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. Doc.dr.sc. *Mario Ščetar*
2. Doc. dr. sc. *Nikolina Čukelj Mustać*
3. Izv. prof. dr. sc. *Dubravka Novotni*
4. Doc.dr.sc. *Marko Obranović* (zamjena)

**Datum obrane:** 24. rujna 2020.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Food Technology

### SHELF LIFE OF SUGAR-FREE BISCUIT WITH ADDITION OF MILLET AND BUCKWHEAT BY-PRODUCTS

*Ivana Kuzmić, 1241/PI*

**Abstract:** By-products of the milling industry can improve nutritional properties of food product, but also significantly affect its shelf life and sensory properties. Therefore, this study explored the effect of the addition of 10 % millet bran (two different size) and 2 % buckwheat husks on the shelf life of sugar-free integral wheat biscuit. Shelf life of biscuit was determined by accelerated shelf life testing method. The content of free fatty acids, peroxide value, texture, sensory properties and microbiological stability were determined during storage of 43 days at 43 °C. The addition of by-products, primarily millet, increase the free fatty acid content and peroxide value relative to the control sample. The results of a sensory analysis showed that addition of millet bran has positive effect on the texture of biscuits during storage, but also increase bitter taste which caused lower overall acceptability. It was also found that the influence of crushed millet bran on biscuit properties was not significantly different from native bran. Based on the obtained results, the shelf life of all biscuits was estimated at 5 months.

**Keywords:** biscuit, millet bran, sensory properties, shelf-life, texture

**Thesis contains:** 42 pages, 11 figures, 3 tables, 68 references, 0 supplements

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** *PhD. Nikolina Čukelj Mustač, Assistant professor*

**Technical support and assistance:** *Kristina Radoš, univ. mag. ing.*

**Reviewers:**

1. PhD. *Mario Ščetar*, Assistant professor
2. PhD. *Nikolina Čukelj Mustač*, Assistant professor
3. PhD. *Dubravka Novotni*, Associate professor
4. PhD. *Marko Obranović*, Assistant professor (substitute)

**Thesis defended:** 24 September 2020



## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
2.1. KEKSI.....	2
2.1.1. Prehrambena vrijednost keksa .....	2
2.1.2. Kvaliteta i trajnost keksa .....	3
2.2. POSIJE .....	4
2.3. PROSO.....	6
2.4. HELJDINE LJUSKE.....	7
2.5. KRIOGENO MLJEVENJE.....	8
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>9</b>
3.1. PRIPREMA KEKSA.....	9
3.1.1. Sirovine .....	9
3.1.2. Aparatura i pribor .....	9
3.1.3. Priprema sirovina za proizvodnju keksa .....	10
3.1.4. Pečenje i skladištenje keksa.....	10
3.1.5. Skladištenje.....	11
3.2. ANALIZE KEKSA .....	12
3.2.1. Određivanje mikrobiološke ispravnosti keksa .....	12
3.2.3. Ekstrakcija ulja iz keksa za određivanje slobodnih masnih kiselina i peroksidnog broja.....	13
3.2.4. Određivanje slobodnih masnih kiselina .....	14
3.2.5. Određivanje peroksidnog broja.....	15
3.2.6. Određivanje teksture keksa.....	17
3.2.7. Senzorska analiza .....	17
3.2.8. Statistička obrada podataka .....	19
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>20</b>
4.1. MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST .....	20
4.2. SLOBODNE MASNE KISELINE.....	20
4.3. PEROKSIDNI BROJ .....	22
4.4. TEKSTURA .....	23
4.5. SENZORSKO OCJENJIVANJE KEKSA TIJEKOM SKLADIŠTENJA .....	28
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>35</b>
<b>6. LITERATURA</b> .....	<b>36</b>

# 1. UVOD

Keksi se danas konzumiraju gotovo svakodnevno kao doručak, međuobrok ili desert, a njihovoj popularnosti doprinosi praktičnost, široki raspon okusa i dug rok trajanja. Tradicionalni keksi sadrže velike količine masti i šećera koje imaju negativan učinak na zdravlje ljudi. Međutim keksi proizvedeni od cjelovitih žitarica mogu biti baza za dodatna obogaćivanja i proizvodnju funkcionalnih keksa te keksa za potrošače s posebnim prehrambenim potrebama. Sve više ljudi obolijeva od šećerne bolesti stoga se javlja sve veća potreba za proizvodima prilagođenima toj skupini potrošača. Isto tako raste svijesti potrošača o utjecaju hrane na zdravlje te je povećana potražnja za obogaćenom i funkcionalnom hranom.

Proso i heljda idealne su žitarice za obogaćivanje keksa zbog svoje visoke prehrambene vrijednosti. Ne sadrže gluten i imaju nizak glikemijski indeks zbog čega su pogodne za proizvodnju hrane namijenjene osobama oboljelima od celijakije i šećerne bolesti. Osim toga izrazito su prilagodljive, otporne su na sušu, štetočine i bolesti zbog čega mogu rasti u ekstremnim uvjetima te su pogodne za ekološku proizvodnju. Posije prosa sadrže značajne količine proteina, masti, prehrambenih vlakana, vitamina, minerala i antioksidansa, dok su ljuske heljde dobar izvor esencijalnih aminokiselina, prehrambenih vlakana, vitamina, minerala, D-kiroinozitola i nezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina. Antioksidacijsko djelovanje doprinosi preventivnom djelovanju na razvoj kroničnih kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa tipa 2 i karcinoma.

Iako dodatak posija ima pozitivne učinke na nutritivni sastav keksa, one su podložne hidrolitičkim i oksidacijskim promjenama na mastima te doprinose razvoju negativnih senzorskih svojstava keksa čime skraćuju rok trajanja. Trajnost keksa najviše ovisi o prihvatljivosti kod potrošača budući da su mikrobiološki izrazito stabilni.

U ovom radu ispitat će se utjecaj dodatka ljuski heljde i posija prosa (dva različita stupnja usitnjenosti) na trajnost obogaćenih keksa. U tu svrhu određivao se udio slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj, tekstura, senzorske karakteristike keksa i mikrobiološka ispravnost.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. KEKSI

Prema pravilniku o žitaricama i proizvodima od žitarica (NN 81/2016) keks je proizvod dobiven pečenjem oblikovanog tvrdog tijesta, a sadrži najmanje 6 % masnoće i najviše 5 % vode računato na ukupnu masu gotovog proizvoda. Keksima se smatraju proizvodi određenih prehrambenih i senzorskih svojstava, dobiveni od mlinskih proizvoda, masnoća, šećera, škroba i drugih sirovina i aditiva, tehnološkim postupcima miješanja, gnjetenja, tučenja, oblikovanja, pečenja i drugim postupcima (NN 81/2013). Raznolikost okusa, cijena i dug rok trajanja čine kekse lako dostupnima širokoj populaciji zbog čega pripadaju najpopularnijim pekarskim proizvodima za užinu (Nagi i sur., 2012) te su uz kruh keksi najčešće konzumirani proizvod od žitarica.

#### 2.1.1. Prehrambena vrijednost keksa

Osnovni sastojci keksa su brašno, masnoća i šećer. Obično se koristi brašno meke pšenice koje ima udio proteina do 9 % jer veći udio proteina glutena može negativno utjecati na teksturu keksa. Keksi kojima je osnovni sastojak bijelo pšenično brašno su bogati ugljikohidratima, masnoćama i šećerom te su siromašni vlaknima, vitaminima i mineralima. U proizvodnji keksa često se koriste masnoće koje sadrže povećani udio zasićenih masnih kiselina koje se povezuju sa povećanjem razine kolesterola te kardiovaskularnim bolestima (Boobier i sur., 2006).

Dodatak posija i drugih žitarica u recepturu može doprinijeti poboljšanju nutritivnih i funkcionalnih svojstava proizvoda. Keksi mogu biti dobra osnova za proizvodnju funkcionalne hrane, u osnovnu recepturu mogu se dodavati sastojci bogati antioksidansima, prehrambenim vlaknima, prebioticima i drugim komponentama koje imaju pozitivan učinak na zdravlje ljudi (Rodríguez i sur., 2006). Također izborom sirovina moguće je proizvesti bezglutenske kekse i kekse sa niskim glikemijskim indeksom pogodne za osobe oboljele od celijakije i šećerne bolesti. Prehrambena vrijednost keksa može se povećati povećanjem sadržaja brašna od cjelovitih žitarica što dovodi do povećanja udjela prehrambenih vlakana, proteina i fitokemikalija (Vitali i sur., 2009) ili dodatkom suhog voća, sjemenki, orašastih plodova i mahunarki (Čukelj i sur., 2017).

### 2.1.2. Kvaliteta i trajnost keksa

Keks je proizvod koji sadrži nizak udio vode zbog čega ima relativno dug rok trajanja (nekoliko mjeseci) koji ovisi o kvaliteti sirovine korištene za proizvodnju keksa, udjelu i sastavu masnih kiselina, temperaturi i relativnoj vlazi skladištenja, aktivnosti enzima te o vrsti i načinu pakiranja. Keks zbog svog sastava, niskog udjela i aktiviteta vode nije dobar medij za rast i razmnožavanje mikroorganizama te je mikrobiološko kvarenje keksa rijetko. Promjene do kojih može doći tijekom skladištenja keksa vezane su uz navlačenje vode iz okoline što dovodi do gubitka hrskavosti te pojava užeglog okusa i mirisa kao posljedica oksidacije masti.

Za određivanje stabilnosti proizvoda i roka trajanja keksa određuju se vrijednosti produkata primarne i sekundarne oksidacije i senzorska analiza tijekom skladištenja pri različitim temperaturama i relativnom vlagom. Budući da se oksidacija lipida i ostale promjene odvijaju sporo na sobnoj temperaturi, rok trajanja upakiranih keksa tijekom stvarnih uvjeta skladištenja je dugotrajan proces. Proces procjene roka trajnosti može skratiti primjenom testova ubrzanog kvarenja (ASLT) u kojem se mijenjaju različiti parametri koji utječu na kvarenje, a najčešće se odabire povećanje temperature koja ubrzava sve reakcije koje dovode do kvarenja keksa. Najveći utjecaj na definiranje roka trajnosti keksa ima prihvatljivost od strane potrošača koja ovisi o senzorskim karakteristikama keksa.

Zbog visokog udjela masti promjene na njima su glavni uzrok kvarenja keksa. Tijekom skladištenja dolazi do hidrolitičke razgradnje masti i nastanka slobodnih masnih kiselina međutim na trajnost keksa značajnije utječu oksidacijske promjene na mastima. Oksidacija masnih kiselina se može podijeliti na primarnu oksidaciju u kojoj nastaju peroksidi te sekundarnu oksidaciju u kojoj dolazi do daljnje razgradnje peroksida na hlapljive produkte, aldehide, ketone, alkohole, organske kiseline i epokside koji uzrokuju neugodan, užegao miris i okus proizvoda. Keksi uglavnom sadrže čvrste, zasićene masti, ali i određeni udio nezasićenih masnih kiselina koje su podložne oksidacijskim promjenama koje dovode do promjene organoleptičkih svojstava keksa i neprihvatljivog proizvoda (Reddy i sur., 2005). Osim sadržaja lipida oksidacijsku stabilnost keksa smanjuje i njegova velika površina koja olakšava pristup zraka lipidima. Isto tako prisutnost prooksidansa u sirovini ubrzava oksidaciju proizvoda. Oksidacijsko kvarenje moguće je smanjiti dodatkom antioksidansa, u pekarskoj industriji koriste se tradicionalni antioksidansi BHA i BHT te prirodni antioksidansi poput alfa-tokoferola,  $\beta$ -karotena i askorbinske kiseline. Tradicionalni sintetički antioksidansi BHA i BHT pružaju dobru zaštitu od oksidacijskog kvarenja te su pogodni za kekse

neutralnog okusa jer slabo doprinose okusu krajnjeg proizvoda. Za razliku od njih prirodni antioksidansi imaju nešto nižu učinkovitost (Nanditha i Prabhasankar, 2009) i jak okus koji predstavlja problem u proizvodima neutralnog okusa zbog čega se koriste deodorizirani ekstrakti ili antioksidansi neutralne arome poput tokoferola (Hu i Jacobsen, 2016). Antioksidacijsku zaštitu pružaju i Maillardovi produkti nastali tijekom pečenja.

Tekstura je još jedno važno svojstvo koje utječe na kvalitetu keksa i prihvatljivost kod potrošača zbog čega se određuje prilikom određivanja roka trajanja. Tekstura keksa ovisi o sadržaju i preraspodjeli vode unutar uzorka te o interakciji proteina i škroba prilikom razvoja tijesta i pečenja (McWatters, 1978). Kvaliteta brašna, udio i sastav masti i škroba doprinose teksturi konačnog proizvoda. U proizvodnji keksa uglavnom se koristi brašno s nižim udjelom proteina i slabim nerastezljivim glutenom. Proteini glijadin i glutenin uz dodatak vode tvore glutensku mrežu tijekom razvoja tijesta koja je odgovorna za viskoelastična svojstva tijesta koja pridonose teksturi keksa (Gwirtz i sur., 2007). Proteini glutena imaju značajnu ulogu u tvorbi teksture, ali velika količina proteina ima negativan utjecaj na teksturu keksa zbog čega se koristi brašno sa 7,5 – 9,5 % proteina. Naime formiranje stabilne i rastezljive glutenske mreže dovelo bi do nepoželjnog skupljanja tijesta prilikom pečenja. Campbell i sur. (1994) izvijestili su da promjena udjela i vrste masti ima veći utjecaj na teksturu keksa od zamjene šećera ili brašna i to tako da veći udio masti doprinosi tanjim i mekšim proizvodom (Maache-Rezzoug i sur., 1998). Mast se veže hidrofobnim vezama na proteine i škrob otežavajući njihovu hidrataciju i formiranje glutenske mreže (Yener, 2008; Manely, 2000), tijesto s višim udjelom masti je više plastično nego elastično, ne skuplja se tijekom oblikovanja i pečenja nego dolazi do njegovog širenja i stanjivanja.

Na trajnost keksa utječu uvjeti skladištenja i vrsta ambalaže. Da bi se bolje očuvala trajnost i kvaliteta keksa korištena ambalaža mora biti nepropusna za svjetlost i kisik kako bi se smanjio njihov utjecaj na oksidacijske procese.

## 2.2. POSIJE

Posije ili mekinje nastaju prilikom mljevenja u kojem se odvajaju od endosperma. Sastoje se od vanjskog dijela zrna kojeg čine perikarp i omotač zrna te aleuronskog sloja, klice i dijela endosperma. Predstavljaju nusproizvod u proizvodnji brašna te čine 3-30 % ukupne mase zrna (Franz i Sampson, 2006). Iako su bogate topljivim i netopljivim

prehrambenim vlaknima i sadrže većinu vitamina B skupine i vitamina E prisutnih u zrnu te minerale (kalcij, kalij, magnezij, fosfor, željezo, selen, bakar, cink) rijetko se koriste u ljudskoj prehrani. Kemijski sastav posija ovisi o vrsti i sorti žitarice, okolišnim uvjetima te načinu obrade zrna. Posije su bogat izvor prehrambenih vlakana i glavni izvor lignana, celuloze i hemiceluloze (Elleuch i sur., 2011). Uz to sadrže fitokemikalije (fenolni spojevi, betaini, kolini, beta-glukani i fitosteroli) kojima se pripisuje antioksidacijska aktivnost i prevencija nastanka kardiovaskularnih bolesti, karcinoma i dijabetesa tipa 2 (Dykes i Rooney, 2007).

S posijama se uklanja i najveći udio lipida koji sadrže polinezasićene masne kiseline zbog čega se kvaliteta posija tijekom skladištenja smanjuje uslijed hidrolitičkog i oksidacijskog kvarenja lipida. Osim polinezasićenih masnih kiselina na trajnost posija utječe i sadržaj endogenih enzima (lipaze i lipooksigenaze) koje ubrzavaju kvarenje hrane bogate lipidima. Na stabilnost posija utječe sadržaj vlage i temperatura skladištenja. Kako bi se produžila trajnost posija potrebno je inaktivirati enzime koji sudjeluju u reakcijama oksidacije, a to je moguće mikrovalovima, ekstruzijom, smrzavanjem ili tretiranjem određenim kemijskim sredstvima. Nastali produkti imaju negativan utjecaj na okus posija i proizvoda u koje se dodaju (Yaday i sur., 2012), a povezuju se i s kardiovaskularnim bolestima, rakom i neurološkim poremećajima (Niki, 2009) zbog čega je njihova primjena u nativnom obliku u prehrambenoj industriji ograničena. Još jedan od problema je taj što su posije u direktnom kontaktu s pesticidima, metalima, bakterijama i plijesnima. Najvrjedniji dio posija je aleuronski sloj koji je bogat proteinima, mineralima, fosforom, fitatima fosfora, mastima i niacinom (Chinma i sur., 2015).

Tehnološka funkcionalnost posija proizlazi iz velikog sadržaja prehrambenih vlakana te najviše ovisi o veličini čestica. Promjenom veličine čestica mijenja se aktivna površina, sposobnost vezanja vode te dostupnost bioaktivnih i hranjivih sastojaka. Svojstva prehrambenih vlakana povezuju se s njihovom topljivosti i sposobnošću tvorbe gela te vezanjem vode, mineralnih tvari i organskih molekula (Tungland i Meyer, 2002). Netopljiva prehrambena vlakna imaju negativan utjecaj na glutensku mrežu, tvore fizičku barijeru te apsorbiraju veliku količinu vode potrebne za razvoj glutenske mreže. Osim prehrambenim vlaknima posije su bogate esencijalnim masnim kiselinama i nutritivnim tvarima poput tokoferola i derivata ferulinske kiseline (Sharif i sur., 2014). Posije povećavaju apsorpciju

vode prilikom miješanja, povećanje vremena razvoja tijesta i smanjenje stabilnosti što za posljedicu ima smanjenje elastičnosti (Ktenioudaki i Gallagher, 2012).

### 2.3. PROSO

Obično proso (*Panicum miliaceum* L.) pripada porodici trava (Poaceae), jedna je od najstarijih kultiviranih žitarica. Proso je zajednički naziv za brojne vrste koje nisu istoga roda, a zajedničko obilježje je iznimno mala veličina zrna. Najviše se konzumira u Aziji i Africi gdje je glavni sastojak nekih tradicijskih jela poput kruha, kaše, napitaka i grickalica (Saleh i sur., 2013; Kalinova, 2007) dok se u Europi i Sjevernoj Americi koristi uglavnom kao hrana za životinje, ali se sve češće koristi kao zamjena za pšenično brašno ili za obogaćivanje proizvoda od žitarica. Osim u prehrani ljudi koristi se za prehranu životinja te proizvodnju etanola (Habiyaremye i sur., 2016).

Proso ima visoku hranjivu vrijednost, oljušteno zrno sadrži 8,8-18,2 % proteina, 3-5 % masti, 59,3-69,5 % ugljikohidrata, 1,2-2,8 % vlakana, 1,5-2,7 % pepela i 2,0-2,7 % šećera (Baryeh, 2002). Proso je bogato aminokiselinama leucina, izoleucina i metionina te ima veći sadržaj esencijalnih aminokiselina u odnosu na kukuruz, pšenicu, ječam i zob (Kalinova i Moudry, 2006). Gotovo 90 % masnih kiselina prosa su nezasićene, od čega 42 % polinezasićeno što čini proso podložno oksidaciji. Glavne masne kiseline prosa su linolna, linolenska, oleinska i palmitinska. Dobar je izvor minerala kalcija, fosfora, kalija, natrija, magnezija, mangana, željeza i cinka. Proso je bogato antioksidansima koji djeluju preventivno na nastanak raka i kardiovaskularnih bolesti te smanjuju rizik od povišenog krvnog tlaka i kolesterola (Saleh i sur., 2013). U prehrani ljudi najčešće se koristi oljušteno zrno, brašno i pahuljice.

Prilikom prerade prosa kao nusprodukt nastaju posije na koje otpada oko 35 % ukupne težine zrna. Kemijski sastav posija prosa dosta se razlikuje od kemijskog sastava oljuštenog zrna. Prosječno sadrže 56 % ugljikohidrata, 11,5 % proteina, 10,5 % pepela i 8 % masti (Chinma i sur., 2015). Posije sadrže značajne količine proteina, masti, prehrambenih vlakana, vitamina, minerala i bioaktivnih spojeva unatoč tome veliki dio posija prosa još uvijek se ne iskorištava u prehrambenoj industriji nego se odbacuje kao otpad (Zhu i sur., 2018).

## 2.4. HELJDINE LJUSKE

Heljda (*Fagopyrum esculentum*) je pseudožitarica porijeklom iz Kine, a najviše se uzgaja na području Azije i Sjeverne Europe. Iako botanički ne pripada žitaricama koje su trave (Poaceae) već skupini dvornika (*Polygonaceae*) svojim kemijskim sastavom je sličnija žitaricama. Uglavnom se konzumira u obliku heljdine kaše, a brašno se koristi za izradu rezanaca, kruha, palačinki i dr. Heljda je pogodna za proizvodnju bezglutenskih proizvoda i proizvodnju obogaćene i funkcionalne hrane jer ne sadrži gluten i ima veliku nutritivnu vrijednost (Gulpinar i sur., 2012, Bonafaccia i sur., 2003).

Heljda sadrži značajnu količinu polifenola te je dobar izvor esencijalnih aminokiselina, prehrambenih vlakana, minerala (Se, Ca, Zn, Fe, K i Mg), vitamina (B, C i E), D-kiro-inozitola, karotenoida i fitosterola (Zhu, 2016) koji su različito raspoređeni u zrnu. D-kiro-inozitol jedan je od značajnijih spojeva koji povećava funkcionalnost heljde sudjelovanjem u regulaciji razine glukoze u krvi (Kawa i sur., 2003). Bioiskoristivost mineralnih tvari heljde veća je nego kod ostalih žitarica (Steadman i sur., 2001a). Heljda sadrži veću količinu rutina i kvarcetin-3-rutinozida u usporedbi s ostalim žitaricama što povećava njenu antioksidacijsku aktivnost. Zrno heljde ima oblik trostrane piramide, a sastoji se od ljuske (perikarpa), teste (omotač sjemena), endosperma i klice.

Heljdine ljuskice nastaju kao nusproizvod prerade heljde u procesu ljuštenja. Iako ljuske heljde predstavljaju izvor vlakana i bioaktivnih spojeva zbog čega im se pripisuju brojni pozitivni učinci na zdravlje najčešće se ne koriste u ljudskoj prehrani već kao hrana za životinje te kao biorazgradiva i antialergijska sirovina u proizvodnji terapijskih jastuka (Dillard, 2005). Prehrambena vlakna sačinjavaju više od 90 % ljuskica heljde, 89,1 % otpada na netopljiva prehrambena vlakna, a 2,7 % na topljiva prehrambena vlakna. Prehrambena vlakna heljde ne sadrže fitinsku kiselinu koja je glavni antinutrijent kod pšenice (Steadman i sur., 2001b). Osim prehrambenih vlakana ljuske heljde sadrže oko 3,7 % proteina, 0,5 % škroba, 0,4 % masti, 1,3 % mineralnih tvari i 0,3 % tanina (Skrabanja i sur., 2004). Heljda je bogata masnim kiselinama od kojih značajan udio otpada na nezasićene i polinezasićene masne kiseline (Steadman i sur., 2001).



## 2.5. KRIOGENO MLJEVENJE

Mljevenje je postupak usitnjavanja zrna tijekom kojega se uklanjaju vanjski slojevi zrna i klice dok se preostali škrobni endosperm melje u brašno. Kriogeno mljevenje je postupak mljevenja u kojem se usitnjavanje materijala provodi pri vrlo niskim temperaturama (do  $-196^{\circ}\text{C}$ ) i atmosferskom tlaku. Za hlađenje materijala koriste se kriogenici, najčešće tekući dušik zbog svoje prirodne inertnosti (Junghare i sur., 2017). Niska temperatura čini materijal krhkim te sprječava zagrijavanje uzrokovano trenjem prilikom mljevenja što rezultira lakšom lomljivošću materijala i nastankom sitnijih čestica (Kaur i Sryastar, 2018) te očuvanjem termolabilnih spojeva. Zbog navedenih karakteristika kriomljevenje se primjenjuje za proizvode poput kave, začina, bilja, kakaa, sjemenki i orašastih plodova te ostalih sirovina podložnih promjeni i gubitku arome prilikom tradicionalnog mljevenja.

Kriogeno mljevenje omogućava mikronizaciju materijala bez upotrebe kemikalija ili primjene visokih temperatura (oko  $200^{\circ}\text{C}$ ) koje bi dovele do razgradnje bioaktivnih tvari. Kriomljevenjem posija dolazi do pucanja staničnih stjenki i oslobađanja sadržaja stanica što poboljšava bioraspodivnost određenih spojeva tijekom probave (Hemery i sur., 2010). Također dolazi do povećanja aktivne površine čime spojevi s antioksidacijskim djelovanjem postaju dostupniji za ekstrakciju ili ulazak u reakciju (Mondragón i sur., 2013). Osim povećanja antioksidacijske aktivnosti mikronizacija može dovesti i do povećanja udjela topljivih vlakana naspram netopljivim (Zhu i sur., 2010). Hemery i sur. (2010) istraživali su utjecaj niske temperature na svojstva posija pšenice, primijetili su smanjenje elastičnosti slojeva i povećanje njihove krhkosti pri temperaturama ispod  $-46^{\circ}\text{C}$ . Smanjena rastezljivost slojeva i povećana krhkost slojeva posija uzrokuje istovremeno pucanje svih slojeva što otežava odvajanje slojeva.

Kriomljevenje ima mnogobrojne prednosti u odnosu na tradicionalno mljevenje. Osim već spomenutog očuvanja termolabilnih tvari i nastanka sitnijih čestica tijekom mljevenja je smanjeno lijepljenje uzoraka za stjenke i nastanak aglomerata što povećava iskorištenje mljevenja i poboljšava svojstva čestica. Veća krhkost materijala povećava produktivnost mljevenja i smanjuje trošenje mlina zbog čega je sam korak mljevenja ekonomičniji u usporedbi s mljevenjem na sobnoj temperaturu, međutim cijenu podiže proces smrzavanja materijala zbog visoke potrošnje energije (Wilczek i sur., 2004) i visoke cijene tekućeg dušika.

## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. PRIPREMA KEKSA

#### 3.1.1. Sirovine

Za proizvodnju keksa korištene su sljedeće sirovine:

- Integralno pšenično brašno (Farina, Granolio, Hrvatska)
- Maltitol (Sweet pearl P200, Roquette, Francuska)
- Maslac (Dukat, Hrvatska)
- Prašak za pecivo (Podravka, Hrvatska)
- Posije običnog prosa (frakcija veličine <500 µm, Mlinopek, Slovenija, sorta Sonček, godina 2017)
- Ljuske heljde (Mlin Pukanić, Hrvatska; *F. esculentum*, sorta Ljiljana, godina 2017)
- Voda (vodovodna voda)
- Fungalna ksilanaza VERON XL (AB Enzymes)

#### 3.1.2. Aparatura i pribor

- Tehnička vaga (Kern, Njemačka)
- kuglični mlin CryoMill (Retsch, Austrija)
- Vodena kupelj (Stuart,
- Kuhinjski mikser (EKM4000, Elecrolux, Švedska)
- Konvektomat (Bistror 664, BEST FOR, Italy)
- Termostatska komora (Memmert, Njemačka)
- PPmet/PE folija
- Plastične posude
- Laboratorijske boce
- Špatula, žlica
- Valjak, podloga za valjanje, kalup za izrezivanje

### 3.1.3. Priprema sirovina za proizvodnju keksa

Prije same proizvodnje keksa integralno brašno, maltitol i prašak za pecivo su prosijani kroz sito veličine pora  $<500 \mu\text{m}$ . Ljuske heljde su samljevene na ultracentrifugalnom mlinu kako bi se smanjila volumnioznost te su dodatno usitnjene na kugličnom kriomlinu (CryoMill, Retsch, Austrija). Mljevenje je trajalo 4 min pri frekvenciji od 30 Hz uz automatsko predhlađenje. Nakon mljevenja ljuskice su prosijane na veličinu čestica  $<56 \mu\text{m}$ .

Posija prosa su također usitnjavane na kriomlinu uz hlađenje tekućim dušikom ( $-196^\circ\text{C}$ ) budući da se pokazalo da kriomljevenje donekle povisuje antioksidacijsku vrijednost i topljiva vlakna (Čukelj i sur. 2020). Za mljevenje 8 grama posija koristila se jedna metalna kuglica promjera 25 mm. Mljevenje je trajalo 8 minuta uz automatsko predhlađenje. Posije su potom namakane u 2,5 puta većoj količini vode na masu posija s dodatkom enzima, u vodenoj kupelji, uz trešnju, tijekom 24 sata na temperaturi od  $30^\circ\text{C}$ . Fungalna ksilanaza je dodana u količini od  $0,0005 \text{ g g}^{-1}$  posija prosa. Posije su tretirane ksilanazom jer su preliminarna istraživanja pokazala da namakanje i dodatak enzima smanjuje njihovu gorčinu.

### 3.1.4. Pečenje i skladištenje keksa

Tijesto za kekse je pripravljeno u kuhinjskom mikseru prema modificiranoj AACC metodi 10-50D.

U kuhinjskom mikseru se prvo miješa prethodno prosijani maltitol i na komadiće usitnjeni hladni maslac kroz 3 minute na brzini 1, uz struganje stjenki svakih 30 sekundi. U mješavinu se doda odgovarajuća količina vode te se miješa 1 minutu na razini 1 te 1 minutu na razini 3. Ostale suhe komponente se pomiješaju te dodaju u smjesu nakon čega se miješa 2 minute na brzini 1 uz struganje stjenki svakih 30 sekundi. Pripravljeno tijesto se oblikuje i omota u foliju te stavi u hladnjak 30 minuta. Ohlađeno tijesto razvalja se na debljinu 3 mm te se izrezuju keksi okruglim kalupom promjera 6 cm koji se prije pečenja izbodu. Keksi se peku u konvektomatu 8 minuta na  $180^\circ\text{C}$ . Keksi ohlađeni na sobnu temperaturu se pakiraju i čuvaju na  $-18^\circ\text{C}$  do provođenja kemijskih analiza (prvi dan). Keksi su pripravljeno prema 3 različite recepture prikazane u tablici 1, pečeni i ohlađeni keksi prikazani su na slici 1.

Tablica 1. Recepture keksa

Sastojci	Integralni pšenični keks (0)	Keks s posijama Prosa Kriomljevenim i Enzimski tretiranim (PKE)	Keks s posijama Prosa Nativnim i Enzimski tretiranim (PNE)
<b>Integralno pšenično brašno (g)</b>	100	88	88
<b>Ljuske heljde (g)</b>	-	2	2
<b>Posije prosa (g)</b>	-	10	10
<b>Maltitol (g)</b>	30	30	30
<b>Maslac (g)</b>	25	23,9	23,9
<b>Prašak za pecivo (g)</b>	2,4	2,4	2,4
<b>Sol (g)</b>	0,2	0,2	0,2
<b>Voda (mL)</b>	25	25	25



Slika 1. Slika keksa nakon pečenja i hlađenja

### 3.1.5. Skladištenje

Trajnost keksa određena je metodom ubrzanog kvarenja (Hu i Jacobsen, 2016). Keksi su skladišteni u termostatskoj komori bez mogućnosti regulacije vlage na 43 °C. Vrijeme ubrzanog kvarenja na 43 °C računa se prema formulama [1] i [2]:

$$B(\text{trajanje testa ubrzanog kvarenja}) = \text{željena realna trajnost}/A \quad [1]$$

$$A(\text{brzina ubrzanog kvarenja}) = Q_{10}^{\left(\frac{T_1-T_0}{10}\right)} \quad [2]$$

Gdje je željena realna trajnost 6 mjeseci odnosno 180 dana. Faktor  $Q_{10}$  ukazuje na to koliko se puta brzina reakcije poveća ako se temperatura povisi za 10 °C te za većinu kemijskih reakcija iznosi 2.  $T_1$  označava povišenu temperaturu skladištenja, a  $T_0$  sobnu temperaturu. Ako se uzme u obzir da je sobna temperatura 22 °C, a povišena temperatura skladištenja 43 °C prema gore navedenim formulama izračunato je da svakih 7 dana testa ubrzanog kvarenja predstavlja 1 mjesec realnog vremena skladištenja na sobnoj temperaturi.

Keksi su nakon pečenja i hlađenja zapakirani u vrećice od PPmet (18 µm)/PE (50 µm) folije, zavarene sa svih strana.

## 3.2. ANALIZE KEKSA

### 3.2.1. Određivanje mikrobiološke ispravnosti keksa

Aparatura i pribor:

- Sterilne tikvice
- Sterilne pipete
- Tehnička vaga (Kern, Njemačka)
- Petrijeve zdjelice
- Termostat (Memmert 100-800, Njemačka)
- Magnetska miješalica (IKA, Njemačka)

Hranjive podloge

- *Yeast Mold (YM) agar* (Sigma Aldrich, SAD)
- *Plate Count Agar* (Biolife, Italija)

Mikrobiološka ispravnost keksa određena je prema Pravilniku o mikrobiološkim standardima za odabranu skupinu proizvoda (NN 2008) i Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu (2009). Ispitane su aerobne sporogene bakterije, *Enterobacteriaceae* te kvasci i plijesni na svježim keksima, keksima nakon 22 dana te nakon 43 dana testa ubrzanog kvarenja.

Postupak:

U sterilnu erlenmayerovu tikvicu odvažuje se 10 g prethodno samljevenog keksa i doda 90 g sterilne vode. Uzorak se homogenizira na magnetskoj miješalici 15 minuta. Nakon miješanja otpipetira se 1 mL uzorka u sterilnu petrijevu posudicu i prelije određenom hranjivom podlogom. Nacijepljene podloge inkubirane su u termostatu na 37 °C kroz 48 sati nakon čega je izbrojan broj naraslih kolonija.

### 3.2.3. Ekstrakcija ulja iz keksa za određivanje slobodnih masnih kiselina i peroksidnog broja

Aparatura i pribor:

- Mlinac za kavu
- Analitička vaga
- Falcon epruvete, 50 mL
- Menzura
- Vortex
- Centrifuga (Rotina 35, Njemačka)
- Okrugla tikvica s ravnim dnom, 250 mL
- Stakleni lijevak
- Filter papir
- Rotavapor (Heidolph, Njemačka)
- Komprimirani dušik (Messer, Hrvatska)

Kemikalije:

- n-heksan (95%), Panreac Quimica SLU, Španjolska

Postupak:

Keksi se samelju na mlincu za kavu. Oko 4 g uzorka keksa izvažuje se u plastičnu Falcon epruvetu od 50 mL. Dodaje se 40 mL heksana i stavi 20 minuta na tresilicu na maksimalnu brzinu. Dobivena suspenzija se centrifugira na 7000 rpm/10 minuta. Nakon centrifugiranja filtrira se na lijevak i običan filter papir u prethodno izvaganu tikvicu za uparavanje. Postupak ekstrakcije ponavlja se dva puta za svaki uzorak uz spajanje filtrata.

Dobiveni filtrat uparava se na rotavaporu na 60°C, vakuum je potrebno postepeno snižavati na 350-400 bara, a kada se upari smanji se do kraja da se izvuče sav heksan. Dobiveno ulje dodatno se posuši pod strujom dušika, ohladi i izvaže. Ukoliko se uzorak ne koristi odmah za daljnje analize, čuva se u zamrzivaču pokriveno parafilmom.

#### 3.2.4. Određivanje slobodnih masnih kiselina

Udio slobodnih masnih kiselina u ulju određuje se prema normi HRN EN ISO 660:2010 uz modifikaciju.

Reagensi:

- Neutralizirana smjesa dietileter (Macron, SAD)/etanol (apsolutni, J. T. Baker, SAD) (1/1)
  - otapala se pomiješaju u zadanim omjerima, doda 0,3 mL fenolftaleina (Gram Mol, Hrvatska)/100 mL smjese te titrira s 0,1 M NaOH do pojave blage ljubičaste boje (pokožica luka) nakon čega se puhne u smjesu da se obezboji
- Natrijev hidroksid 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pripremljen iz: NaOH, > 98 %, Lachner, Češka)

Aparatura i pribor:

- Okrugla tikvica s ravnim dnom
- Menzure
- Pipete
- Propipeta
- Laboratorijske čaše

Postupak:

Prethodno ekstrahirano ulje otopi se u 20 mL neutralizirane smjese dietil etera i etanola, u omjeru 1/1 (V/V) koja sadrži fenolftalein kao indikator (0,3 mL fenolftaleina na svakih 100 mL otopine). Otopina se titrira s otopinom natrijevog hidroksida molarne koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Zbog malog utroška za titraciju koristi se pipeta od 1-2 mL. Titracije su rađene u tikvicama za uparavanje obzirom da je ulje već bilo u njima. U slučaju da je uzorak bio smrznut otopi se pod mlazom tople vode.

Rezultat titracije izražava se kao udio dominantne masne kiseline ulja, a izračunava se prema jednadžbi [3]:

$$SMK = \frac{V \times c \times M}{10 \times m} (\% \text{ oleinske kiseline}) \quad [3]$$

Gdje je:

V – utrošak otopine natrijeva hidroksida za titraciju uzorka (mL)

c – koncentracija otopine natrijeva hidroksida, 0,1 mol L<sup>-1</sup>

M – molekulska masa oleinske kiseline, 282 g mol<sup>-1</sup>

m – masa uzorka ulja (g)

### 3.2.5. Određivanje peroksidnog broja

Peroksidni broj određen je metodom HRN EN ISO 3960:2017 uz modifikacije. Ova metoda je jodometrijska metoda kojom se određuje količina tvari koje oksidiraju kalijev jodid. Peroksidni broj određen je u ekstrahiranoj masti gdje su oksidirajuće tvari hidroksiperoksidi i peroksidi tj. primarni produkti oksidacije. Rezultat analize izražava se u milimolima aktivnog kisika po kilogramu ulja (mmol O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>).

Reagensi:

- Smjesa izooktana (Fisher Chemical, Italija) i octene (99,5 %, Macron, SAD) (2/3; V/V)
- Otopina škroba (Merck, Njemačka)
  - 0,5 g škroba otopi se u malo vode i doda u 50 mL zakuhale vode, kratko prokuha i ohladi
- Zasićena otopina kalijeva jodida (Gram Mol, Hrvatska)
  - 14 g kalijevog jodida dodaje se u 8 g prokuhane i ohlađene destilirane vode
- Natrijev tiosulfat (Gram Mol, Hrvatska)
  - koncentracija 0,01 mol L<sup>-1</sup>, ne čuva se duže od tjedan dana



Aparatura i pribor:

- Okrugla tikvica s ravnim dnom
- Laboratorijske čaše
- Menzure
- Pipete
- Propipeta
- Štoperica

Postupak:

Prethodno ekstrahiran uzorak se otopi u 5 mL smjese izooktana i octene kiseline (2/3; V/V). Doda se 0,05 mL zasićene otopine kalijevog jodida i smjesa se miješa točno 1 min ± 1 s u poklopljenoj tikvici. Reakcija se zaustavlja dodatkom 10 mL destilirane vode. Otopina se titrira do obezbojenja s otopinom natrijevog tiosulfata molarne koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> uz dodatak 0,5 mL otopine škroba kao indikatora. Zbog malog utroška natrijeva tiosulfata koristi se pipeta od 1 mL. Titracije su rađene u tikvicama za uparavanje obzirom da je ulje već bilo u njima. Ukoliko je uzorak bio smrznut otopi se pod mlazom tople vode.

Peroksidni broj se izračunava prema jednadžbi [4]:

$$PB = \frac{(V_1 - V_0)}{m} \times 5 \quad [4]$$

Gdje je:

V<sub>1</sub> – volumen (mL) otopine natrijevog tiosulfata utrošen za titraciju uzorka

V<sub>0</sub> – volumen otopine natrijevog tiosulfata utrošen za titraciju slijepe probe (mL)

m - masa uzorka (g)

### 3.2.6. Određivanje teksture keksa

Uređaji:

- Analizator teksture TA-HD Plus, Stable Microsystem, Velika Britanija

Tekstura keksa, odnosno tvrdoća i otpor keksa na lomljenje, izmjerena je na analizatoru teksture TA-HD Plus (Stable Microsystem, Velika Britanija) opremljenim s utegom od 30 kg. Za lomljenje keksa korištena je čelična sonda DHP/3PB (3-point bending rig). Dubina prodiranja namještena je na 5 mm uz brzinu slamanja  $2 \text{ mm s}^{-1}$ . Keksi su stajali na držaču razmaknutom 4 cm (Čukelj i sur., 2017). Test je proveden na najmanje 10 keksa svake vrste. Dobiveni dijagrami obrađeni su u Texture Exponent programu (Stable Micro Systems, Velika Britanija) te su izračunate vrijednosti za tvrdoću (g), lomljivost (mm) i otpor prema lomljenju ( $\text{g mm}^{-1}$ )

### 3.2.7. Senzorska analiza

U ovom radu 10 treniranih panelista, zaposlenika Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, provelo je deskriptivnu senzorsku analizu keksa prema ISO metodama 13299:2016 i 16779:2015. Na kontrolnom uzorku su kreatori testa prethodno definirali specifična svojstva keksa i njegove intenzitete, a prije same senzorske analize svaki je panelist bio upoznat sa skalom intenziteta. Svaka pojedina vrsta keksa ocijenjena je zasebno u različitim danima, a uzorci su označeni troznamenkastim brojevima. Keksi su ocijenjeni prije skladištenja te nakon 22, 29, 36 i 43 dana skladištenja. Keksi skladišteni 8 i 15 dana nisu senzorski ocijenjeni kako bi se zadržao broj analiziranih uzoraka ispod šest (ISO 13299: 2003) tako da je prva točka testiranja na polovici procijenjenog roka trajanja (ISO 16799: 2015). Ocjenjivana svojstva su: vanjski izgled (intenzitet smeđe boje i hrapavost površine), miris (cijelo zrno žitarice, maslac, užeglo), okus i aroma (slatko, gorko, mliječno, zemljano, užeglo, oporo i naknadni gorki okus) i tekstura u ustima (tvrdoća, hrskavost, zrnatost/granuliranost, topljivost i oblaganje zuba). Keksim je ocijenjena i prihvatljivost hedonističkom skalom (Sveukupni doživljaj) (tablica 2). Intenzitet pojedinog svojstva ocijenjen je ocjenom od 0 do 10, gdje je 0 za potpuno neizraženo svojstvo, 5 za srednje izražen intenzitet, a 10 za najjači intenzitet svojstva. Osim deskriptivnog testa provedeno je i hedonističko ocjenjivanje keksa za

„sveukupni doživljaj“ na ljestvici od 1 do 9 pri čemu ocjena 1 označava izrazito nesviđanje, a ocjena 9 izrazito sviđanje.

Tablica 2. Ocjenjivani senzorski atributi keksa

Senzorsko svojstvo	
Vanjski izgled	Intenzitet smeđe boje
	Hrapavost površine
Miris	Cijelo zrno žitarice
	Maslac
	Užeglo
Okus i aroma	Slatko
	Gorko
	Mliječno
	Zemljano
	Užeglo
	Oporo
	Naknadni gorki okus
Tekstura u ustima	Tvrdoća sila potrebna za pregristi keks prednji zubima
	Hrskavost zvuk koji nastaje tijekom žvakanja kutnjacima
	Zrnatost/granuliranost osjet veličine i oblika čestica (veće čestice-veća zrnatost)
	Topljivost potrebno žvakanje dok se keks ne raspadne (više žvakanja-manja topljivost)
	Oblaganje zuba sila potrebna za uklanjanje keksa zalijepljenih na zube

### 3.2.8. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu eksperimentalnih podataka korišten je program Statistica 10 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, SAD) i Microsoft Office Excel 2007. Podaci dobiveni senzorskom analizom obrađeni su Grubbsovim testom za outliere. Za usporedbu rezultata provedena je analiza varijance (ANOVA) s Tukey HSD post-hoc testom uz granicu statističke značajnosti  $p \leq 0,05$ . Za utvrđivanje razlika između uzoraka rezultati senzorskog ocjenjivanja obrađeni su metodom abalaze glavnih komponentata (Principal Component Analysis, PCA).

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu ispitana je trajnost integralnih keksa za dijabetičare (bez šećera) obogaćenih nusproizvodima prerade prosa i heljde. Uspoređeni su uzorci u kojima je 10 % integralnog pšeničnog brašna zamijenjeno nativnim (keks PNE) i kriomljevenim (keks PKE) posijama prosa te je 2 % brašna zamijenjeno kriomljevenim ljuskama heljde u odnosu na kontrolni uzorak koji nije sadržavao posije prosa i heljde (keks 0). Posije prosa prethodno su tretirane enzimima kako bi se umanjio negativan utjecaj na okus. Keksi su nakon pečenja ohlađeni i zapakirani te su skladišteni na povišenoj temperaturi 43 dana kako bi se ubrzao proces kvarenja. Tijekom skladištenja određivao se udio slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj i tekstura (1., 8., 15., 22., 29., 36. i 43. dan skladištenja). Senzorskom analizom keksi su ocijenjeni 1., 22., 29., 36. i 43. dan skladištenja, dok je mikrobiološka ispravnost određena 1., 22. i 43. dan skladištenja. Iako su u kekse dodavane i ljuske heljde, zbog manje dodane količine, njihovog sastava (pretežno prehrambena vlakna) i neutralnog okusa pretpostavka je da nisu značajno utjecale na ispitivana svojstva keksa tijekom skladištenja pa će u ostatku teksta glavni fokus biti na posije prosa. Buduća istraživanja trebala bi utvrditi koliki je stvarni utjecaj ljuski heljde na kvalitetu i trajnost keksa.

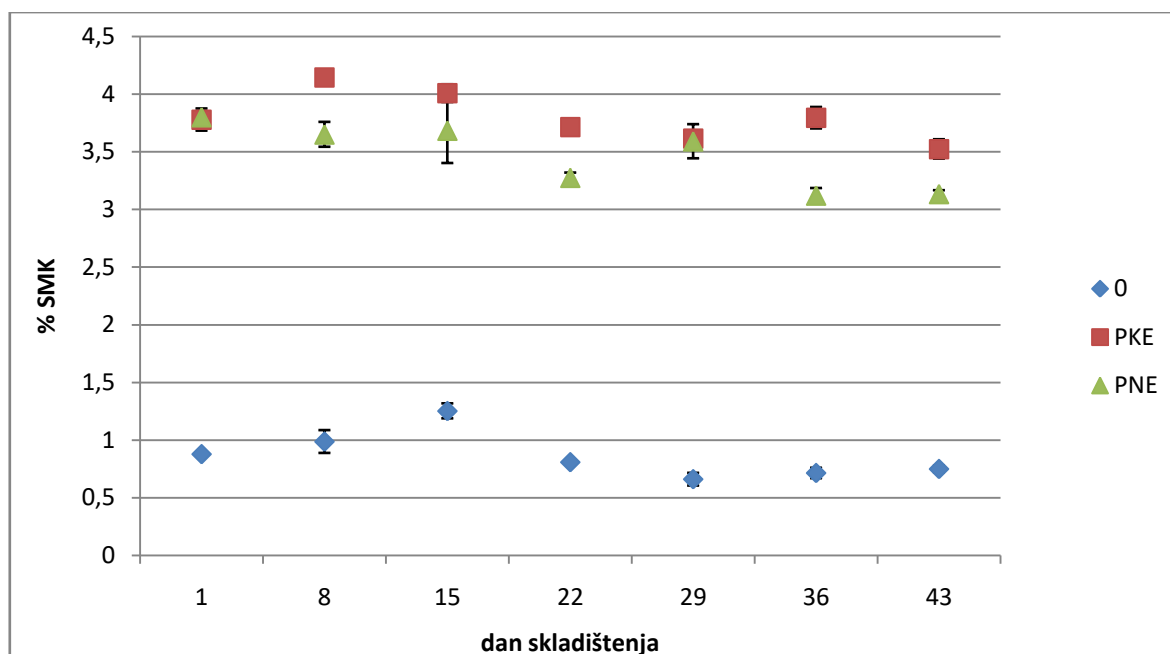
### 4.1. MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST

Mikrobiološka ispravnost kontrolnih keksa i keksa s dodatkom kriomljevenih i nativnih posija prosa određivana je na svježim keksima, nakon 22 dana te nakon 43 dana testa ubrzanog kvarenja. Ispitana je prisutnost aerobnih spirogenih bakterija, *Enterobacteriaceae*, kvasaca i plijesni. Niti u jednom uzorku keksa nije utvrđena prisutnost ispitivanih mikroorganizama.

### 4.2. SLOBODNE MASNE KISELINE

Udio slobodnih masnih kiselina izmjeren je nakon pečenja keksa i nakon svakog tjedna skladištenja, a izražen je kao udio dominantne oleinske kiseline. Iz dobivenih rezultata prikazanih na slici 2 vidimo da dodatak posija prosa uzrokuje značajno ( $p \leq 0,05$ ) povećanje sadržaja slobodnih masnih kiselina te da nema značajne razlike u udjelu SMK kod keksa s dodatkom nativnih i kriomljevenih posija prosa. Prosječni početni udio SMK u integralnom

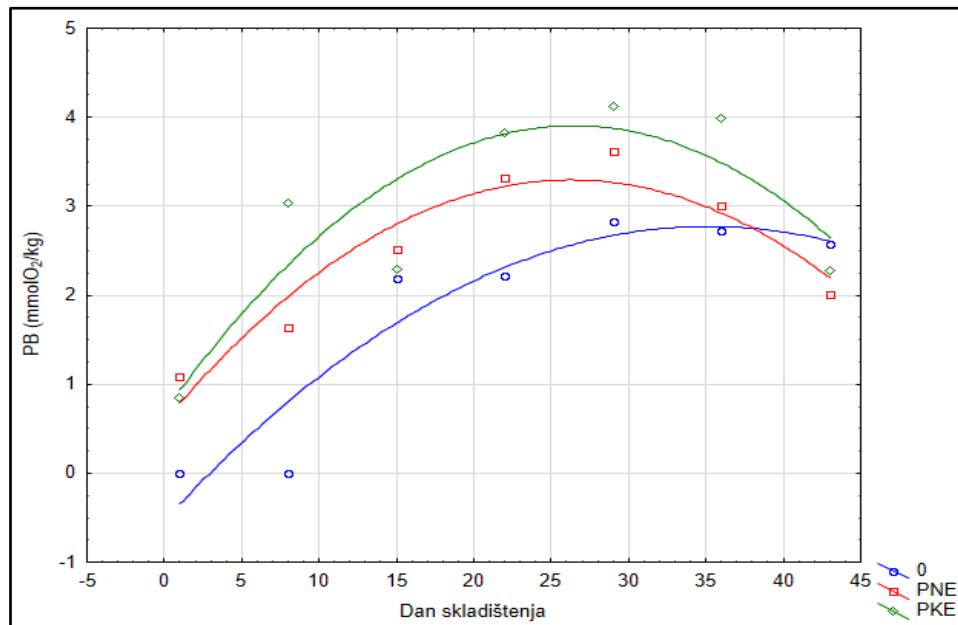
keksu je 0,877 %, dok u PNE iznosi  $3,801 \pm 0,043$  % i u PKE  $3,779 \pm 0,096$  %. Povećan sadržaj slobodnih masnih kiselina može se pripisati visokom udjelu masti u posijama prosa koje su podložne hidrolitičkim promjenama tijekom skladištenja. Čukelj i sur. (2020) promatrali su stabilnost posija prosa tijekom 180 dana skladištenja tijekom kojih je došlo do značajnog porasta udjela slobodnih masnih kiselina tijekom prvih 90 dana skladištenja kao rezultat hidrolize lipida. Skladištenjem keksa na povišenoj temperaturi nije došlo do značajnog porasta udjela slobodnih masnih kiselina u uzorcima keksa s dodatkom posija prosa, a u uzorku PNE došlo je do značajnog ( $p \leq 0,05$ ) smanjenja udjela SMK nakon 36 dana skladištenja. Tijekom skladištenja udio SMK bio je veći u keksu PKE u odnosu na PNE. Mogući uzrok je veći stupanj usitnjenosti i veća kontaktna površina lipida i vode. U uzorku bez dodanih posija udio SMK raste do 15 dana skladištenja kada postiže maksimum nakon čega se ponovno vraća na početnu vrijednost. Dobiveni rezultati su suprotni od prijašnjih rezultata u kojima je dodatak lanenih sjemenki uzrokovao porast SMK tijekom skladištenja (Čukelj i sur., 2017). Međutim toplinska obrada se pokazala učinkovitom u zaustavljanju nastanka slobodnih masnih kiselina u bisernom prosu (Meera i sur., 2003) i malom prosu (Patil i sur., 2014) te je smanjenje nastanka slobodnih masnih kiselina uslijed djelovanja topline pripisano je smanjenju udjela vode i inaktivaciji lipolitičkih enzima (Lehtinen i sur., 2003).



Slika 2. Udio slobodnih masnih kiselina (SMK) izražen u % u masnoj frakciji kontrolnog keksa (0), keksa s dodatkom kriomljevenih posija prosa (PKE) i keksa s dodatkom nativnih posija prosa (PNE) tijekom 43 dana skladištenja

### 4.3. PEROKSIDNI BROJ

Peroksidni broj predstavlja primarne produkte oksidacije lipida zbog čega služi kao indikator oksidacijskog kvarenja. Najzastupljenije masne kiseline prema Taylor-u (2016) u prosu su linolna kiselina C18:2 (39-45 %), oleinska kiselina C18:1 (21-27 %) i palmitinska kiselina C16:0 (20-21 %). Prisutnost nezasićenih masnih kiselina čini proso osjetljivim na oksidacijsko kvarenje. Keksi s dodatkom posija odmah nakon pečenja imaju značajno ( $p \leq 0,05$ ) veći peroksidni broj u odnosu na kontrolne kekse (slika 3.). Povećani početni peroksidni broj može biti zbog sastava masnih kiselina posija prosa koje su podložne oksidacijskim promjenama te prisutnosti enzima koji sudjeluju u oksidaciji lipida. Osim toga, iako su posije bile skladištene na  $-18\text{ }^\circ\text{C}$ , njihovo dulje vrijeme skladištenja mogući je razlog većeg peroksidnog broja u svježim keklima u odnosu na keks bez dodanih posija.



Slika 3. Peroksidni broj ( $\text{mmol O}_2 \text{ kg}^{-1}$  ulja) izražen na kilogram ulja prisutnog u keksu u masnoj frakciji kontrolnog kekca (0), kekca s dodatkom kriomljevenih posija prosa (PKE) i kekca s dodatkom nativnih posija prosa (PNE) tijekom 43 dana skladištenja. Krivulje prikazuju prilagodbu jednadžbi kao oksidacijski model ( $0 = -0,5324+0,1882x-0,0027x^2$ ,  $\text{PNE} = 0,5819+0,2067x-0,0039x^2$ ,  $\text{PKE} = 0,6928+0,2427x-0,0046x^2$ )

U uzorku 0 dolazi do statistički značajnog ( $p \leq 0,05$ ) porasta vrijednosti peroksidnog broja 8 dana skladištenja. Maksimalna vrijednost peroksidnog broja zabilježena je nakon 15 dana i tada iznosi  $2,828 \pm 0,162 \text{ mmol O}_2 \text{ kg}^{-1}$  ulja nakon čega ne dolazi do značajnije promjene do kraja mjerenja. Nema značajne razlike u početnim vrijednostima peroksidnog

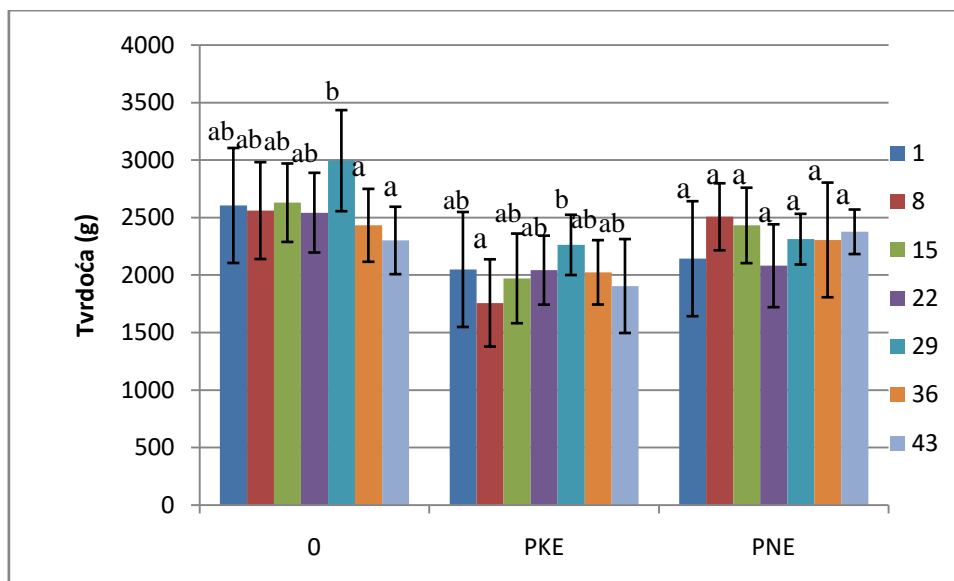
broja u keksima obogaćenima posijama prosa, a do značajnog ( $p \leq 0,05$ ) porasta peroksidnog broja u oba uzorka dolazi već nakon 8 dana skladištenja. Maksimalna vrijednost izmjerena je nakon 29 dana skladištenja, u uzorku PNE iznosi  $3,620 \pm 0,032$  mmol  $O_2$   $kg^{-1}$  ulja dok je u uzorku PKE viša i iznosi  $4,123 \pm 0,047$  mmol  $O_2$   $kg^{-1}$  ulja. U uzorku PNE zabilježen je značajni pad peroksidnog broja nakon 36 i 43 dana skladištenja dok je u uzorku PKE zabilježen nagli pad PB nakon 43 dana skladištenja. Dobiveni rezultati podudaraju se sa prijašnjim istraživanjima u kojima je dio brašna zamijenjen nekom drugom žitaricom (Čukelj i sur., 2017). Pad vrijednosti peroksidnog broja upućuje na razgradnju peroksida do sekundarnih produkata lipidne oksidacije, aldehida i ketona (Yadav i sur., 2012). Iako se u ovom diplomskom radu pokušalo odrediti anisidinski broj (pokazatelj sekundarne oksidacije), zbog nepouzdanih rezultata i neprikladnosti metode za ovaj tip proizvoda, istraživanje nije provedeno do kraja. Ipak, senzorskom analizom utvrđena pojava užeglog okusa i mirisa ukazuje upravo na pojavu sekundarnih produkata lipidne oksidacije.

Maksimalna određena vrijednost peroksidnog broja u keksima tijekom ubrzanog kvarenja iznosila je oko 4 mmol  $O_2$   $kg^{-1}$  ulja što je ispod dozvoljene vrijednosti od 7 mmola  $O_2$   $kg^{-1}$  koja je propisana za hladno prešana i rafinirana ulja u Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/ 2019). Na temelju vrijednosti preoksidnog broja se može zaključiti da su keksi obogaćeni posijama prosa prihvatljivi za konzumaciju nakon 5 mjeseci skladištenja, ali kako je nakon 36 dana skladištenja došlo do značajne razgradnje peroksida na sekundarne produkte trebale bi se provesti dodatne analize kako bi se utvrdilo da li su keksi sigurni za konzumaciju.

#### 4.4. TEKSTURA

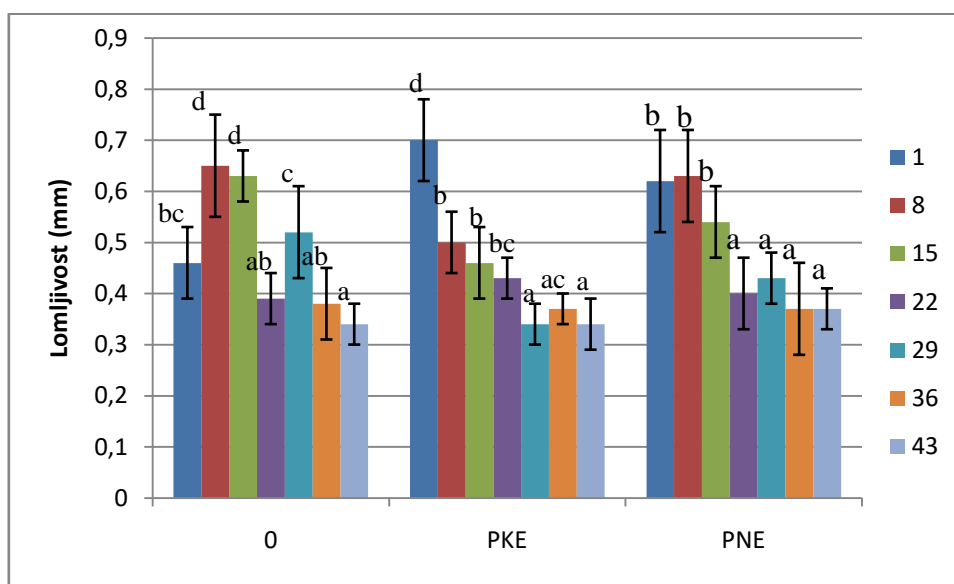
Tekstura je važno svojstvo keksa koje značajno utječe na potrošačku percepciju kvalitete. U ovom radu određena je sila koja je potrebna da sonda presječe keks (tvrdoća), put koji sonda prođe od trenutka doticaja s keksom do pucanja keksa (lomljivost), te otpor na lomljenje (žilavost). Osim instrumentalnom analizom tekstura keksa određena je i senzorski.





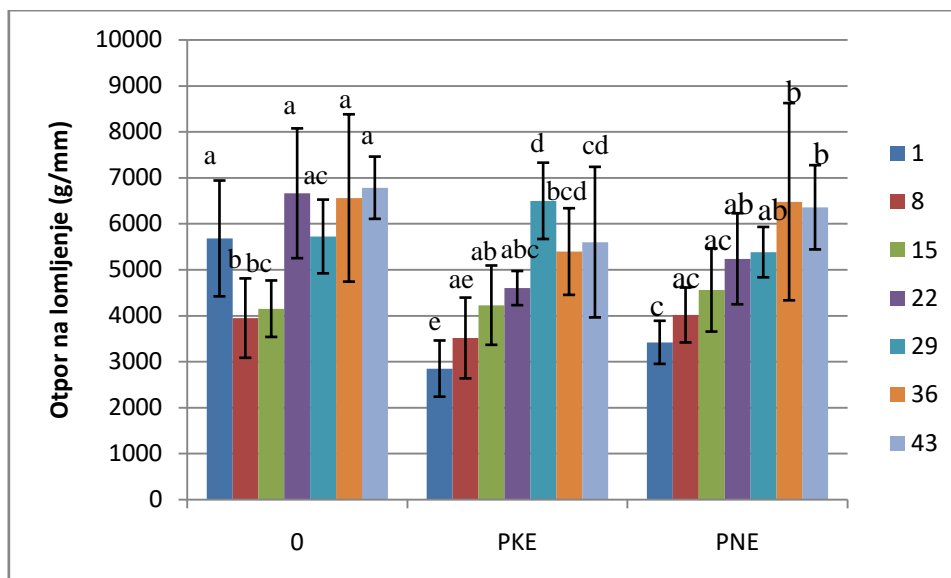
Različita slova označuju statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između uzoraka.

Slika 4. Instrumentalno određena tvrdoća (g) kekisa (0), kekisa s dodatkom kriomljevenih posija prosa (PKE) i kekisa s dodatkom nativnih posija prosa (PNE) tijekom 43 dana skladištenja



Različita slova označuju statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između uzoraka.

Slika 5. Lomljivost (mm) kontrolnog kekisa (0), kekisa s dodatkom kriomljevenih posija prosa (PKE) i kekisa s dodatkom nativnih posija prosa (PNE) tijekom 43 dana skladištenja

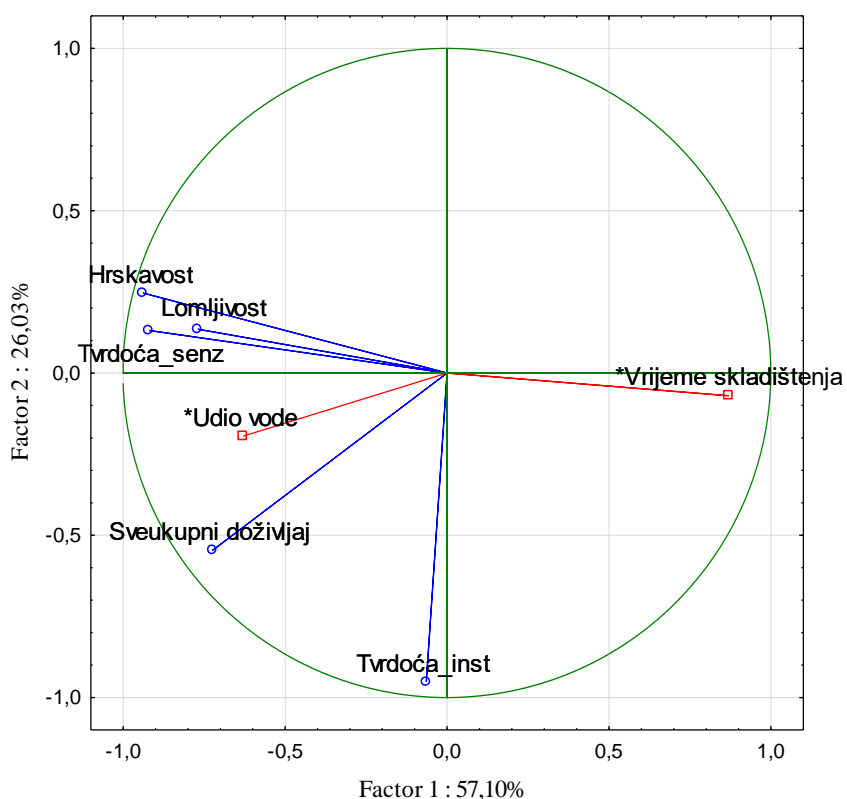


Različita slova označuju statistički značajnu razliku ( $p < 0,05$ ) između uzoraka.

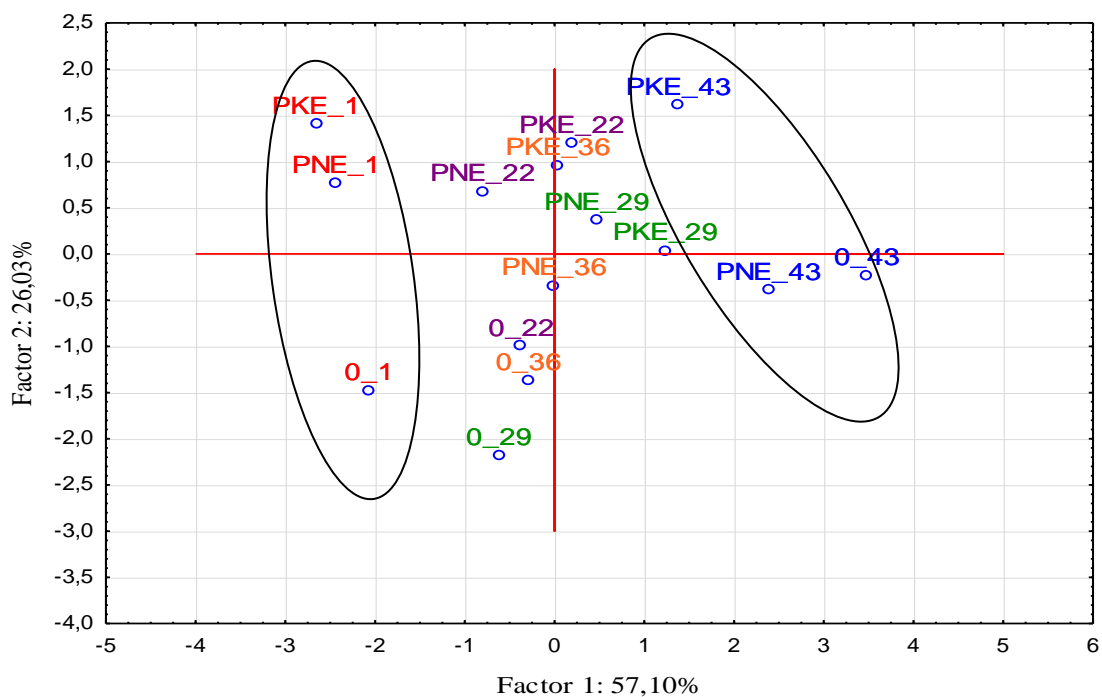
Slika 6. Otpor na lomljenje ( $\text{g mm}^{-1}$ ) kontrolnog keksa (0), keksa s dodatkom kriomljevenih posija prosa (PKE) i keksa s dodatkom nativnih posija prosa (PNE) tijekom 43 dana skladištenja

Na slikama 4., 5. i 6. prikazani su rezultati instrumentalno određene teksture za kekse s dodatkom kriomljevenih i nativnih posija i kontrolnog uzorka nakon 1., 8., 15., 22., 29., 36. i 43. dana skladištenja. Tukey HSD post-hoc testom utvrđena je značajno veća tvrdoća kontrolnog keksa u odnosu na kekse s dodanim posijama dok se tijekom skladištenja tvrdoća ne mijenja. Iznimka je kontrolni uzorak koji ima značajno veću tvrdoću nakon 22 dana skladištenja u odnosu na zadnja dva perioda.

a)



b)



Slika 7. Vrijednosti prve dvije glavne komponente a) faktorsko opterećenje (*loadings*) i b) faktorski bodovi (*scores*) određene analizom glavnih komponenti za instrumentalno i senzorski određenu teksturu i sveukupni doživljaj kontrolnog keksa (0), keksa s dodatkom nativnih posija prosa (PNE) i keksa s dodatkom kriomljevenih posija prosa (PKE) nakon 1, 22, 29, 36 i 43 dana skladištenja.

Slika 7. prikazuje rezultate analize glavnih komponenata (PCA) provedene za parametre teksture određene instrumentalno (lomljivost, tvrdoća\_inst) i senzorski (hrskavost, tvrdoća\_senz) te sveukupni doživljaj. U PCA analizi izostavljeni su rezultati za 8. i 15. dan skladištenja budući da tada nije određivana senzorika. Prve dvije komponente sa svojstvenim vrijednostima 2,85 i 1,30 objašnjavaju 83,13 % ukupne varijance. Komponenta 1 objašnjava 57 % varijance, a najviše se odnosi na hrskavost (-0,94), senzorski određena tvrdoća (-0,92), lomljivost (-0,77) i sveukupni doživljaj (-0,72) te vrijeme skladištenja (0,87). Komponenta 2 određuje 26 % varijance i negativno je korelirana (-0,95) s tvrdoćom određenom instrumentalno i sveukupnim doživljajem (-0,55) (slika 7a). Što znači da su parametri teksture u negativnoj korelaciji s vremenom skladištenja i u pozitivnoj sa sveukupnim doživljajem keksa.

Na slici 7b je vidljivo jasno grupiranje te odvajanje keksa nakon prvog dana i zadnjeg dana skladištenja povezano s faktorima prve komponente, dok su uzorci u danima međuskladištenja međusobno isprepleteni. Usprkos tome, vidljivo je odvajanje kontrolnog uzorka nula koji se svi nalaze ispod x-osi. Iz čega možemo zaključiti da se tvrdoća i prihvatljivost uzorka 0 razlikuje u odnosu na uzorke PKE i PNE (veća je) te da dodatak posija prosa utječe na navedena svojstva keksa. Prvi dan uzorak PNE ima slična teksturalna svojstva kao uzorak PKE dok je zadnji dan sličniji kontrolnom uzorku. Isto tako tijekom skladištenja vidljiva je razlika između početne i konačne hrskavosti, lomljivosti, senzorske tvrdoće i sveukupnog doživljaja koji se smanjuju u svim uzorcima keksa.

Instrumentalno određena tvrdoća (sila potrebna da izazove pucanje keksa) najveća je u kontrolnom uzorku dok između keksa PKE i PNE ne postoji značajna razlika. Tijekom skladištenja nije zabilježena značajnija promjena tvrdoće niti u jednom uzorku, ali je vidljivo blago opadanje tvrdoće u kontrolnom keksu te blago povećanje u keksu PNE. Skladištenjem dolazi do značajnog smanjenja lomljivosti (put koji sonda pređe od doticaja keksa do pucanja) u svim uzorcima, tj. keksi postaju krhkiji. Senzorskim ocjenjivanjem tvrdoće i hrskavosti nije određena značajna razlika između uzoraka na dan pečenja keksa, ali je primijećen značajan pad tijekom skladištenja. Najveće smanjenje hrskavosti i tvrdoće zabilježeno je u kontrolnom uzorku, dok je ono najmanje u keksu s dodatkom kriomljevenih posija prosa.

Ovi rezultati se podudaraju s ranijim istraživanjima u kojima je zamjena integralnog brašna s drugim žitaricama uzrokovala smanjenje tvrdoće pšeničnog keksa (Čukelj i sur. 2017; Gupta i sur. 2011). Zamjena pšeničnog brašna s brašnom heljde također je uzrokovala

smanjenje tvrdoće i povećanje lomljivosti keksa (Jan i sur., 2015; Baljeet i sur., 2010) isto kao i zamjena pšeničnog brašna prosenom (Hussain i sur., 2019) koje su autori pripisali smanjenom udjelu glutena i povećanom udjelu prehrambenih vlakana. Jan i sur. (2017) primijetili su smanjenje tvrdoće keksa uzrokovano djelomičnom zamjenom pšeničnog brašna brašnom kvinoje koje su pripisali većem udjelu masti u brašnu kvinoje. Naime masnoća doprinosi plastičnosti tijesta, oblaže čestice proteina glutena i škroba čime ometa njihovu hidrataciju i razvoj glutenske mreže tijekom miješanja što smanjuje elastičnost tijesta (Yener, 2008). Zamjenom pšeničnog brašna posijama prosa smanjuje se udio proteina glutena, povećava udio prehrambenih vlakana i mijenja udio i sastav masti što uzrokuje promjene reoloških svojstava tijesta koje za sobom povlače promjenu teksture keksa.

#### 4.5. SENZORSKO OCJENJIVANJE KEKSA TIJEKOM SKLADIŠTENJA

Senzorska analiza važna je za procjenu trajnosti keksa budući da je sensorika glavni faktor prihvatljivosti kod potrošača. U ovom radu ocijenjen je izgled, tekstura, okus, aroma i miris koji utječu na sveukupni doživljaj keksa (tablica 3).

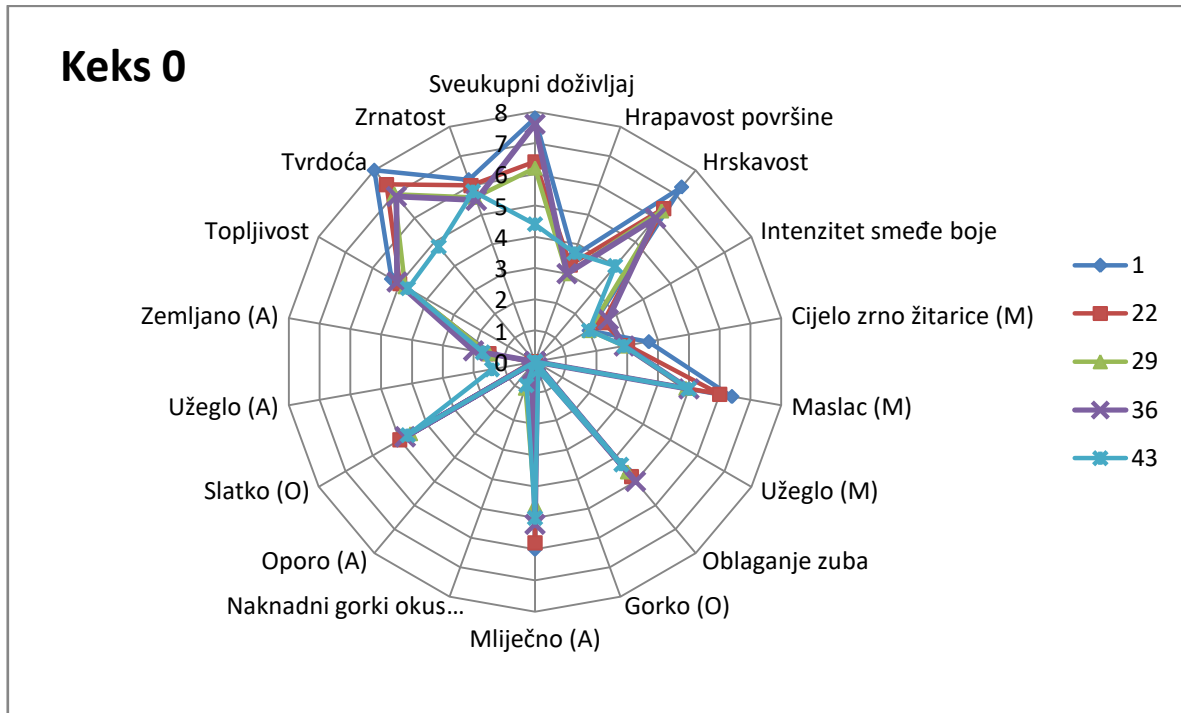
Tablica 3. Srednje ocijene sveukupnog doživljaja keksa

	1. dan	22. dan	29. dan	36. dan	43. dan
<b>0</b>	7,8 ± 0,8 <sup>a</sup>	6,4 ± 1,9 <sup>ab</sup>	6,2 ± 1,4 <sup>ab</sup>	7,6 ± 0,8 <sup>a</sup>	4,4 ± 2,5 <sup>b</sup>
<b>PKE</b>	6,0 ± 2,1 <sup>a</sup>	5,0 ± 1,7 <sup>a</sup>	5,3 ± 0,7 <sup>a</sup>	5,6 ± 1,3 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,6 <sup>a</sup>
<b>PNE</b>	6,5 ± 1,6 <sup>a</sup>	6,1 ± 1,7 <sup>a</sup>	4,8 ± 1,5 <sup>a</sup>	6,3 ± 0,7 <sup>a</sup>	4,8 ± 1,7 <sup>a</sup>

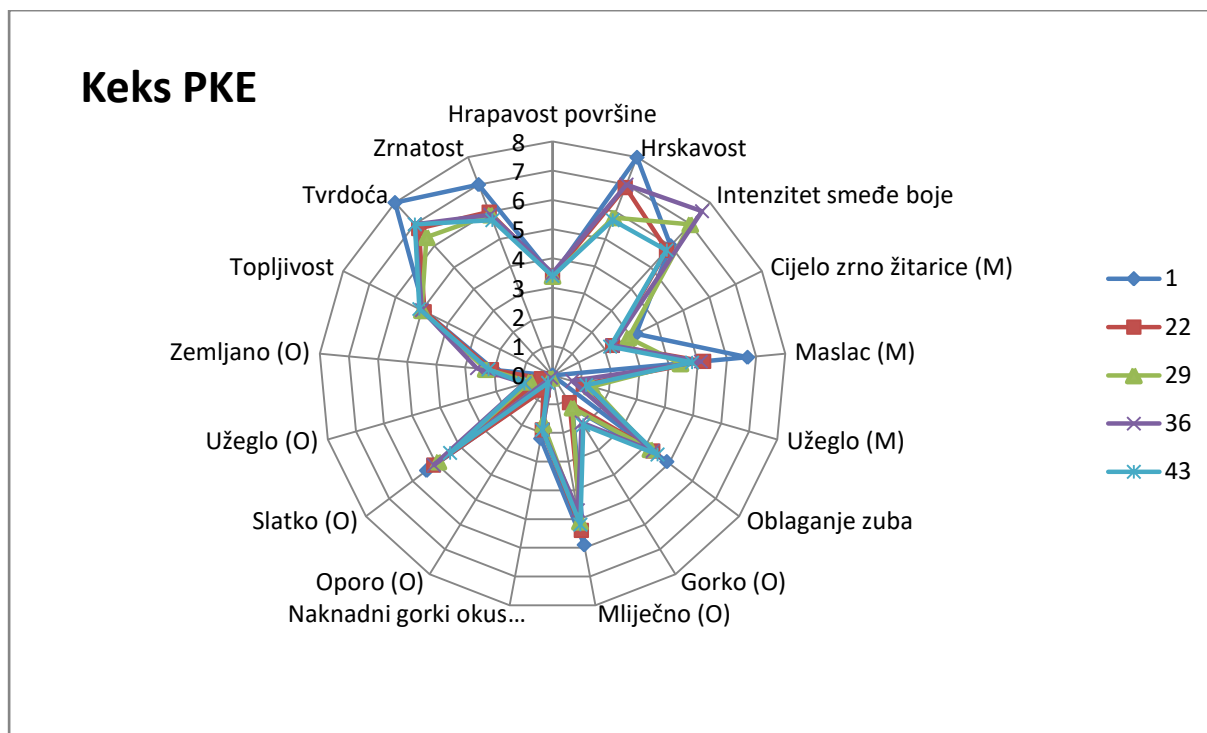
\*Različita slova označavaju statistički značajnu razliku ( $p \leq 0,05$ ) između ocjena za svaki uzorak tijekom skladištenja (unutar reda)

Iz dobivenih rezultata vidimo da je srednja ocjena za sveukupni doživljaj svježih keksa najviša te je kontrolni uzorak ocijenjen kao veoma mi se sviđa, PNE umjereno mi se sviđa i PKE neznatno mi se sviđa, ali statističkom obradom podataka nije utvrđena značajna razlika između uzoraka PNE i PKE. Tijekom 43 dana skladištenja dolazi do smanjenja ocjene sveukupnog doživljaja kod svih keksa, a smanjenje je statistički značajno ( $p \leq 0,05$ ) samo u keksu bez dodanih posija prosa. Nakon 43 dana skladištenja sveukupni doživljaj svih keksa

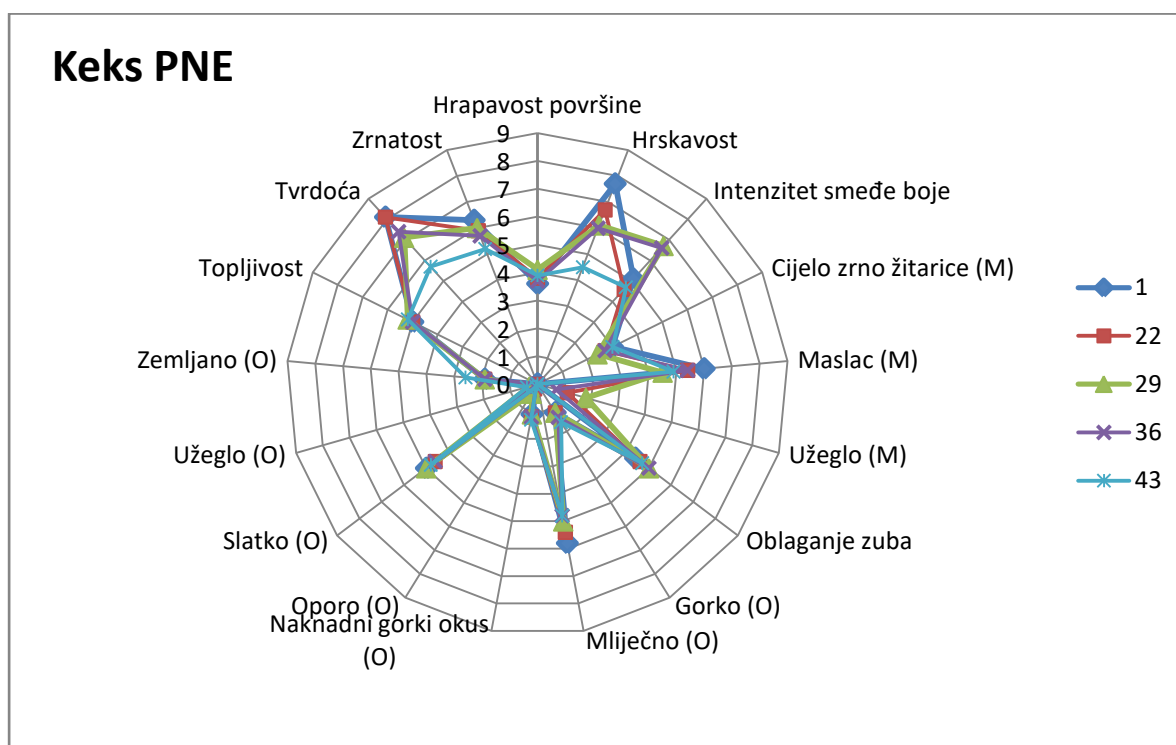
ocijenjen je s prosječnom ocjenom manjom od 5, pri čemu je najnižu ocjenu je dobio kontrolni keks, a najviše ocijenjeni bio keks s nativnim posijama prosa.



Slika 8. Srednja vrijednost ocjene intenziteta senzorskih svojstava (M – miris, O – okus, A – aroma) keksa bez dodatka posija prosa (uzorak 0) tijekom 43 dana skladištenja



Slika 9. Srednja vrijednost ocjene intenziteta senzorskih svojstava (M – miris, O – okus, A – aroma) keksa u kojem je 10 % pšeničnog brašna zamijenjeno s kriomljevenim posijama prosa i 2 % s kriomljevenim ljuskama heljde (PKE) tijekom 43 dana skladištenja



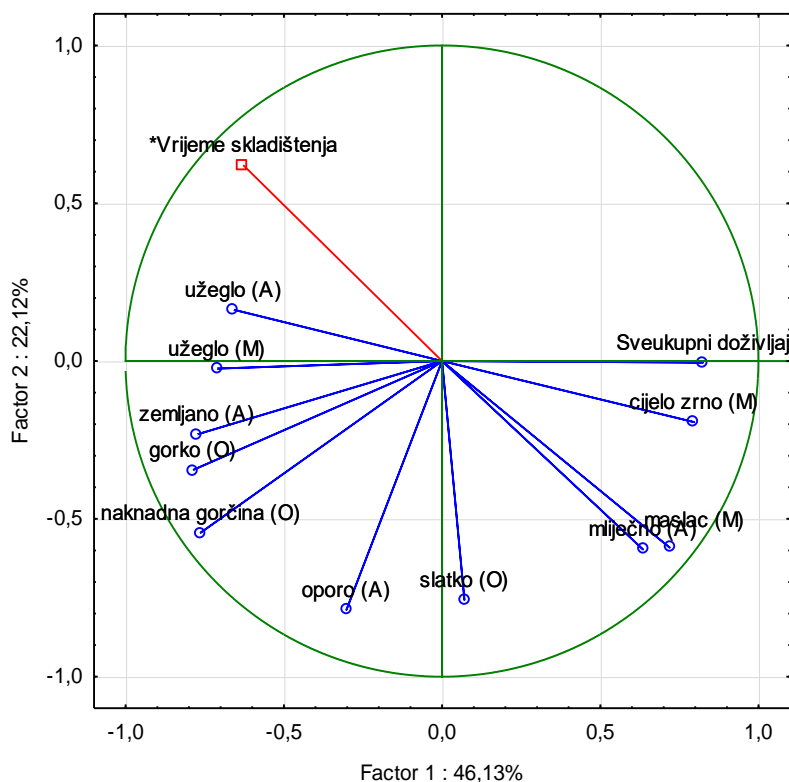
Slika 10. Srednja vrijednost ocjene intenziteta senzorskih svojstava (M – miris, O – okus, A – aroma) keksa u kojem je 10 % pšeničnog brašna zamijenjeno s nativnim posijama prosa i 2 % s kriomljevenim ljuskama heljde (PNE) tijekom 43 dana skladištenja

Rezultati deskriptivne senzorske analize prikazani su na slikama 8., 9. i 10. Najveće razlike između kontrolnog uzorka i uzoraka PNE i PKE na dan pečenja odnosile su se na intenzitet smeđe boje koja je u uzorcima s dodatkom posija prosa i heljde značajno veća ( $p \leq 0,05$ ) u odnosu na kontrolni uzorak ( $2,0 \pm 0,0$ ). Uzorak s dodatkom kriomljevenih posija prosa ima jači intenzitet smeđe boje ( $6,0 \pm 1,2$ ) u odnosu na keks s dodatkom nativnih posija ( $5,1 \pm 0,9$ ), ali nije utvrđena statistički značajna razlika. Jači intenzitet smeđe boje u keksima PNE i PKE potječe od sivkasto-smeđe boje posija prosa i smeđe boje ljuskica heljde. Također je zapažena promjena intenziteta smeđe boje tijekom skladištenja u svim uzorcima nakon 36. dana skladištenja kada ocijene iznose za kontrolni uzorak ( $2,7 \pm 0,8$ ), PKE ( $7,6 \pm 1,3$ ) i PNE ( $6,6 \pm 1,0$ ) što je značajno više u odnosu na ostale dane. Intenzivnija smeđa boja može se povezati sa neenzimskim posmeđivanjem i nastankom Maillardovih produkata koji daju smeđu boju proizvodu. Zamora i Hidalgo (2005) izvijestili su da se produkti nastali oksidacijom lipida mogu uključiti u reakcije neenzimskog posmeđivanja.

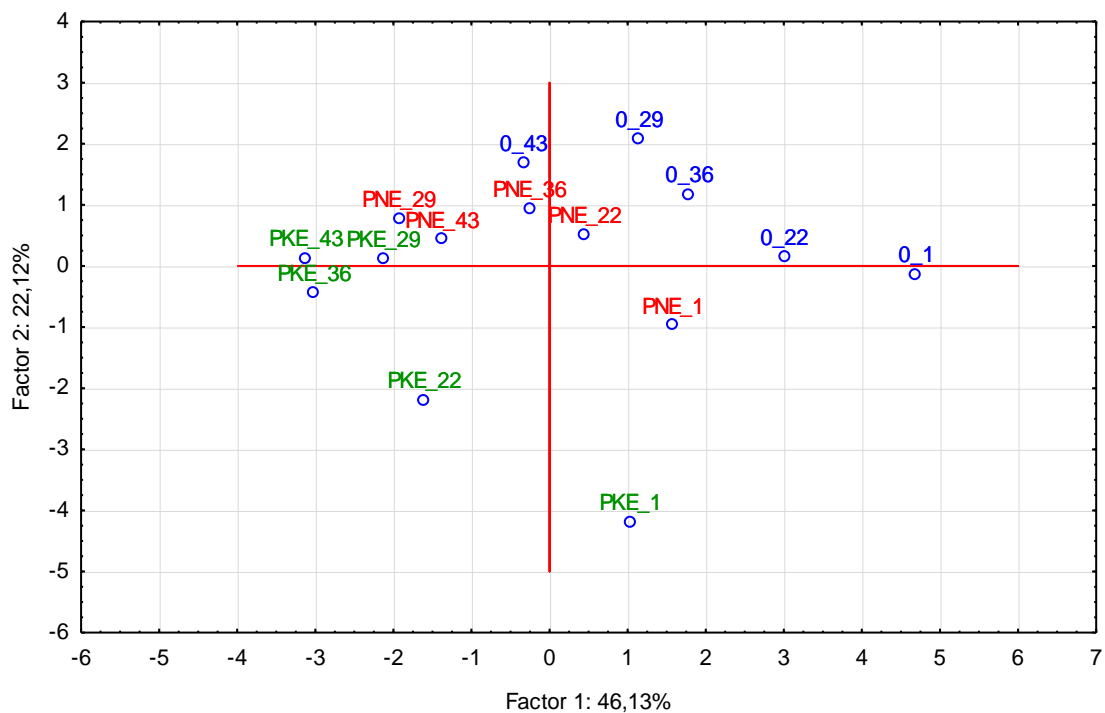
Keks PKE ima najizraženija negativna senzorska svojstva poput zemljanog ( $2,0 \pm 1,1$ ) i gorkog ( $1,3 \pm 0,9$ ) okusa i arome te naknadne gorčine ( $2,2 \pm 1,7$ ), nakon čega slijedi PNE dok je u kontrolnom keksu jače izražen mliječni okus ( $6,0 \pm 0,0$ ) u kojem se užeglost razvija tek nakon 36 dana skladištenja. Keks PKE dobio je više ocjene za opor okus, gorčinu i naknadnu gorčinu u odnosu na kekse 0 i PNE što možemo pripisati produktima hidrolitičkog i oksidacijskog kvarenja lipida koji su nešto brže nastajali u uzorku keksa s kriomljevenim posijama u odnosu na druga dva keksa. Sekundarni produkti oksidacije masti imaju neugodan okus i miris te ih potrošači mogu detektirati u vrlo malim koncentracijama (Ocheme, 2007). Tijekom skladištenja keksa 0 došlo je do statistički značajnog ( $p \leq 0,05$ ) povećanja intenziteta užegle arome, smanjenja tvrdoće i hrskavosti te sveukupnog doživljaja keksa nakon 43. dana skladištenja. Kod keksa PKE došlo je samo do značajnog ( $p \leq 0,05$ ) smanjenja zrnatosti 43. dan u odnosu na početni. Kod keksa PNE do statistički značajnog ( $p \leq 0,05$ ) smanjenja tvrdoće i hrskavosti došlo je već nakon 29 dana skladištenja, unatoč tome, sveukupni doživljaj keksa nije dobio značajno manje ocjene.



a)



b)



Slika 11. Vrijednosti prve dvije glavne komponente a) faktorsko opterećenje (*loadings*) i b) faktorski bodovi (*scores*) određeno analizom glavnih komponenti senzorski određenog okusa (O), arome (A) i mirisa (M) kontrolnog keksa (O), keksa s dodatkom nativnih posija prosa (PNE) i keksa s dodatkom kriomljevenih posija prosa (PKE) nakon 1, 22, 29, 36 i 43 dana skladištenja

Slika 11. prikazuju rezultate analize glavnih komponenata (PCA) provedene za senzorski određene komponente arome. Prve dvije komponente sa svojstvenim vrijednostima 5,07 i 2,43 objašnjavaju 68,26 % ukupne varijance. Komponenta 1 objašnjava 46% varijance, najviše se odnosi na te je u pozitivnoj korelaciji sa sveukupnim doživljajem (0,82), mirisom cijelog zrna (0,80) i mirisom maslaca (0,72), dok je negativno korelirana sa gorkim okusom (-0,79), zemljanim okusom (-0,77), naknadnom gorčinom (-0,76), užeglim mirisom (-0,71) i užeglim okusom (-0,66) te vremenom skladištenja (-0,62). Komponenta 2 određuje 22 % varijance, pozitivno je korelirana s vremenom skladištenja (0,62), a negativno s oporim okusom (-0,79), slatkim okusom (-0,76), mliječnim okusom (-0,60), mirisom maslaca (-0,59) i naknadnom gorčinom (-0,54).

Na slici 11b možemo vidjeti da se keksi grupiraju ovisno o recepturi te da se međusobno razlikuju i da je senzorski profil PNE sličniji kontrolnom nego PKE što znači da dodatak kriomljevenih posija ima veći utjecaj na promjenu arome od nativnih. Također je vidljivo da je razlika u senzorskom profilu između keksa 0, PNE i PKE na početku najveća te da se s vremenom skladištenja ona smanjuje. Keks PKE ima izraženija negativna senzorska svojstva poput zemljanog, gorkog i oporog okusa te naknadne gorčine i užeglog mirisa i okusa, dok je u kontrolnom keksu izraženiji miris na maslac i cijelo zrno žitarice te mliječni okus. Sukladno tomu ocjene za sveukupni doživljaj veće su za kontrolni uzorak. Tijekom skladištenja vidljivo je smanjenje srednje ocjene za hrskavost, miris na cijelo zrno žitarice, miris na maslac, mliječni okus i tvrdoću kod svih keksa te povećanje intenziteta užeglog mirisa i okusa, gorkog okusa i naknadne gorčine što dovodi do smanjenja prihvatljivosti keksa.

Omoba i sur. su 2015. godine istraživali kekse s dodatkom bisernog prosa i sijačka te se njihovi rezultati djelomično podudaraju s rezultatima ovog istraživanja. Zaključili su da keksi s dodatkom prosa imaju svojstva teksture (tvrdoća i hrapavost) slično kao i keksi od cjelovitog zrna pšenice, ali su tamniji te imaju manju hrskavost i suhoću. Prijašnja istraživanja su pokazala da dodatak prosa u tjesteninu i kruh uzrokuje smanjenje prihvatljivosti tih proizvoda od strane potrošača zbog nezadovoljavajućeg okusa i naknadnog gorkog okusa (Singh i sur., 2012), te se povećanjem udjela prosa u keksu smanjuje se ocjena prihvaćenosti keksa (McSweeney i sur., 2016). Hussain i sur. (2020) istraživali su kako na senzorska i fizikalna svojstva keksa utječe zamjena 0-100 % pšeničnog brašna prosenim. Povećanjem

udjela brašna prosa smanjivala se senzorska ocjena te su keksi s više od 50 % prosenog brašna ocjenjeni kao neprihvatljivi.

## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata dobivenih u okviru ovog istraživanja i provedene rasprave može se zaključiti sljedeće:

1. Dodatak posija prosa i ljuski heljde u kekse od integralnog pšeničnog brašna ne utječe na mikrobiološku stabilnost keksa tijekom testa ubrzanog kvarenja u trajanju od 43 dana.
2. Dodatak posija prosa u kekse od integralnog pšeničnog brašna uzrokuje povećanje udjela slobodnih masnih kiselina u keksu, ali ne utječe na povećanje udjela SMK tijekom skladištenja.
3. Posija prosa u keksima od integralnog pšeničnog brašna uzrokuju povećanje peroksidnog broja u keksima te ubrzavaju oksidaciju masti i nastanak peroksida. Kriomljevene posije prosa povisuju peroksidni broj neznajno više od nativnih posija.
4. Posije prosa i ljuške heljde uzrokuju smanjenje tvrdoće i žilavosti integralnog pšeničnog keksa, a povećavaju lomljivost. Tekstura keksa tijekom skladištenja najmanje se mijenja u uzorku s dodanim kriomljevenim posijama prosa.
5. Keksi s dodatkom nusproizvoda imaju manju senzorsku prihvatljivost u odnosu na kontrolni uzorak. Tijekom skladištenja dolazi do smanjenja senzorske prihvatljivosti svih keksa, povećava se intenzitet gorčine, a smanjuje tvrdoća i hrskavost.
6. Uzimajući u obzir udio SMK, peroksidni broj, teksturu i senzorsku ocjenu, trajnost keksa s dodatkom posija prosa i ljuski heljde ne razlikuje se od trajnosti integralnog pšeničnog keksa i iznosi 5 mjeseci.

Konačno, možemo zaključiti da zamjena integralnog pšeničnog brašna s 10 % posija prosa i 2 % ljuškica heljde utječe na povećanje količine slobodnih masnih kiselina i peroksidnog broja, da ima pozitivan utjecaj na teksturu proizvoda, ali ne utječe značajno na skraćivanje roka trajnosti keksa. Isto tako, razlika u svojstvima keksa sa dodatkom kriomljevenih i nativnih posija prosa je minimalna. No, uzimajući u obzir to da je trajnost keksa slična neovisno o veličini čestica dodanih posija prosa, da su kekci s dodatkom kriomljevenih posija nešto slabije senzorski ocijenjeni te cijenu kriomljevenja, možemo zaključiti da proces kriomljevenja posija prosa nije potreban ili opravdan u slučaju ovakvih proizvoda.

## 6. LITERATURA

AACC Method 10-50D. Baking Quality of Cookie Flour.

Baljeet, S. Y., Ritika, B. Y., & Roshan, L. Y. (2010). Studies on functional properties and incorporation of buckwheat flour for biscuit making. *Int. Food Res. J.*, **17**(4), 1067–1076.

Baryeh, E. A. (2002). Physical properties of millet. *J. Food Eng.*, **51**(1), 39-46.

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

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

Burcelin R., Rolland E., Dolci W., Germain S., Carrel V., Thorens B. (1999) Encapsulated, genetically engineered cells, secreting glucagon-like peptide-1 for the treatment of non-insulindependent diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci.*, **875**(1), 277—285.

Campbell, L. A., Ketelsen, S. M., Antenucci, R. N. (1994) Formulating oatmeal cookies with calorie-sparing ingredients. *Food Technol.*, **48**(5), 98–105.

Chinma, C. E., Ramakrishnan, Y., Ilowefah, M., Hanis-Syazwani, M., Muhammad, K. (2015) Properties of Cereal Brans: A Review. *Cereal Chem.*, **92** (1), 1-7.

Čukelj Mustač, N., Novotni, D., Habuš, M., Drakula, S., Nanjara, L., Voučko, B., Benković, M., Čurić, D. (2020) Storage stability, micronisation, and application of nutrient-dense fraction of proso millet bran in gluten-free bread. *J. Cereal Sci.* [doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102864](https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102864).

Čukelj, N., Novotni, D., Sarajlija, H., Drakula, Saš., Voučko, B., Čurić, Duš. (2017) Flaxseed and multigrain mixtures in the development of functional biscuits. *LWT - Food Sci. and Technol.*, **86**, 85-92.

Dykes, L., Rooney, L. W. (2007) Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Foods World*, **52**(3), 105-111.

Dillard, L. M. (2005) *U.S. Patent No. 6,891,078*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H. (2011) Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chem.*, **124**, 411 - 421.

Franz M., Sampson L. (2006) Challenges in developing a whole grain database: definitions, methods and quantification. *J. Food Compos. Anal.*, **19**, 38 - 44.

Gulpinar, A. R., Erdogan Orhan, I., Kan, A., Senol, F. S., Celik, S. A., Kartal, M. (2012) Estimation of in vitro neuroprotective properties and quantification of rutin and fatty acids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) cultivated in Turkey. *Food Res Int.*, **46**, 536–543.

Gupta, M., Bawa, A. S., Abu-Ghannam, N. (2011) Effect of barley flour and freeze-thawcycles on textural nutritional and functional properties of cookies. *Food Bioprod. Process.*, **89**(4), 520–527.

Habiyaremye, C., Matanguihan, J. B., Guedes, J. D., Ganjyal, G.M., Whiteman, M.R., Kidwell, K.K., Murphy, K.M. (2016) Proso millet (*Panicum miliaceum L.*) and its potential for cultivation in the pacific northwest, U.S: A review. *Front. Plant Sci.*, **7**, 1-6.

Hemery, Y. M., Anson, N. M., Havenaar, R., Haenen, G. R. M. M., Noort, M. W. J., Rouau, X. (2010) Dry-fractionation of wheat bran increases the bioaccessibility of phenolic acids in breads made from processed bran fractions. *Food Res. Int.*, **43**, 1429–1438.

HRN EN ISO 660:2010, Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje kiselinskog broja i kiselosti.

HRN EN ISO metodi 3960:2017, Životinjske i biljne masti i ulja - Određivanje peroksidnog broja.

Hu, M., Jacobsen, C. (2006) *Oxidative stability and shelf life of foods containing oils and fats*, Elsevier, London.

Hussain, S., Mohamed, A. A., Alamri, M. S., Ibraheem, M. A., Abdo Qasem, A. A., Serag El-Din, M. F., Almainan, S. A. M. (2020) Wheat–millet flour cookies: Physical, textural, sensory attributes and antioxidant potential. *Food Sci. Technol. Int.*, **26**(4), 311-320.

ISO 13299:2003, Sensory analysis – methodology – general guidance for establishing a sensory profile.

ISO 13299:2016, Sensory analysis – methodology – general guidance for establishing a sensory profile.

ISO 16779:2015, Sensory analysis - assessment (determination and verification) of the shelf life of foodstuffs.

Jan, K. N., Panesar, P. S., Singh, S. (2017) Textural, in vitro antioxidant activity and sensory characteristics of cookies made from blends of wheat-quinoa grown in India. *J Food Process Preserv.* doi.org/10.1111/jfpp.13542

Jan, U., Gani, A., Ahmad, M., Shah, U., Baba, W. N., Masoodi, F. A., Gani, A., Wani Ahamed, I., Wani, S. M. (2015) Characterization of cookies made from wheat flour blended with buckwheat flour and effect on antioxidant properties. *J. Food Sci. Technol.*, **52**(10), 6334-6344.

Junghare, H., Hamjade, M., Patil, C., Girase, S. B., & Lele, M. M. (2017) A Review on cryogenic grinding. *Int. J. Curr. Eng. Technol.*, **7**, 420-423.

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

Kalonova, J., Moudry, J. (2006) Content and quality of protein in proso millet (*Panicum miliaceum*) varieties. *Plant Food Hum. Nutr.*, **61**, 45-49.

Kaur, B., Srivastav, P. P. (2018) Effect of cryogenic grinding on chemical and morphological characteristics of mango (*Mangifera indica* L.) peel powder. *J. Food Process. Press.*, **42**, doi: 10.1111/jfpp.13583

Kawa, J. M., Taylor, C. G., & Przybylski, R. (2003) Buckwheat concentrate reduces serum glucose in streptozotocin-diabetic rats. *J. Agric. Food Chem.*, **51**(25), 7287-7291.

- Ktenioudaki, A., Gallagher, E. (2012) Recent advances in the development of high-fibre baked products. *Trends Food Sci. Technol.*, **28**(1), 4-14.
- Lehtinen, P., Kiiliainen, K., Lehtomaki, I., Laakso., S. (2003) Effect of heat treatment on lipid stability in processed oats. *J Cereal Sci.*, **37**, 215–221.
- Maache-Rezzoug, Z., Bouvier, J.M., Allaf, K., Patras, C. (1998) Effect of principal ingredients on rheological behaviour of biscuit dough and on quality of biscuits. *J Food Eng.* **35**, 23–42.
- Manley, D. (2000) *Technology of biscuits, crackers, and cookies*, 3. izd., Woodhead Publishing, UK.
- McSweeney, M. B., Duizer, L. M., Seetharaman, K., Dan Ramdath, D. (2016) Assessment of important sensory attributes of millet based snacks and biscuits. *J. Food Sci.*, **81**(5), 1203-1209.
- McWatters, K. H. (1978) Cookie baking properties of defatted peanut, soybean, and field pea flours. *Cereal Chem.*, **55**, 853–856.
- Meera, M.S., Bhashyam, M., K., Ali, S., Z. (2003) Effect of heat processing of pearl millet grains on shelf life and functional properties of flour and quality of final products. *5th International Food Convention*, Mysore, 124.
- Mondragón, R., Juliá, J. E., Barba, A., Jarque, J. C. (2013) Influence of the particle size on the microstructure and mechanical properties of grains containing mixtures of nanoparticles and microparticles: Levitator tests and pilot-scaled validation. *J. Eur. Ceram. Soc.*, **33**, 1271–1280.
- Nagi, H. P. S., Kaur, J., Dar, B. N., Sharma, S. (2012) Effect of storage period and packaging on the shelf life of cereal bran incorporated biscuits. *Am. J. Food Technol.*, **7**(5), 301-310.
- Nanditha, B. R., Jena, B. S., Prabhasankar, P. (2009) Influence of natural antioxidants and their carry-through property in biscuit processing. *J. Sci. Food Agric.*, **89**(2), 288-298.
- Niki, E. (2009) Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radic. Biol. Med.* **47**, 469–484.



Ocheme, O. B. (2007) Effect of storage of millet flour on the quality and acceptability of millet flour porridge. *J Food Technol.*, **5**, 215– 219.

Omoba, O. S., Taylor, J. R. N., de Kock, H. L. (2015). Sensory and nutritive profiles of biscuits from whole grain sorghum and pearl millet plus soya flour with and without sourdough fermentation. *Int. J. Food Sci. Tech.*, **50**(12), 2554-2561.

Patil, K. B., Chimmad, B. V., Itagi, S. (2015) Glycemic index and quality evaluation of little millet (*Panicum miliare*) flakes with enhanced shelf life. *J. Food Sci. Technol.*, **52**(9), 6078-6082.

Pravilnik o jestivim uljima i mastima (2019) *Narodne novine***11**, Zagreb.

Pravilnik o keksima i keksima srodnim proizvodima (2013) *Narodne novine***81**, Zagreb.

Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu (2008) *Narodne novine***74**, Zagreb.

Pravilnik o žitaricama i proizvodima od žitarica (2016) *Narodne novine* **81**, Zagreb.

Reddy, V., Urooj, A., Kumar, A. (2005) Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application in biscuits. *Food Chem.*, **90**, 317–321.

Rodríguez, R., Jimenez, A., Fernández-Bolanos, J., Guillen, R., & Heredia, A. (2006) Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends Food Sci. Technol.*, **17**(1), 3-15.

Saleh, A. S. M., Zhang, Q., Chen, J., Shen, Q. (2013) Millet grains: Nutritional quality, processing, and potential health benefits. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **12**, 281–295.

Sharif M. K., Butt M. S., Anjum F. M., Khan S. H. (2014) Rice bran: a novel functional ingredient. *Food Sci. Nutr.*, **54**, 807-816.

Singh, K. P., Mishra, A., Mishra, H. N. (2012) Fuzzy analysis of sensory attributes of bread prepared from millet-based composite flours. *LWT – Food. Sci. Technol.*, **48**(2), 276–82.

Skrabanja, V., Kreft, I., Golob, T., Modic, M., Ikeda, S., Ikeda, K., Kreft, S., Bonafaccia, G., Knapp, M., Kosmelj, K. (2004) Nutrient content in buckwheat milling fractions. *Cereal Chem.*, **81**(2), 172-176.

Steadman, K. J., Burgoon, M. S., Lewis, B. A., Edwardson, S. E., Obendorf, R. L. (2001a) Minerals, phytic acid, tannin and rutin in buckwheat seed milling fractions. *J. Sci. Food Agric.*, **81**, 1094–1100.

Steadman, K. J., Fuller, D. J., & Obendorf, R. L. (2001b). Purification and molecular structure of two digalactosyl D-chiro-inositols and two trigalactosyl D-chiro-inositols from buckwheat seeds. *Carbohydr. Res.*, **331**(1), 19-25.

Taylor, J. R. N. (2016) Millet Pearl: Overview Encyclopedia of Food Grains, 2. izd., Academic Press, Oxford, str. 190-198.

Tungland B. C., Meyer D. (2002) Nondigestible oligo- and polysaccharides (Dietary fiber): their physiology and role in human health and food. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **1**, 73-77.

Vitali, D., Dragojević, I. V., Šebečić, B. (2009) Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chem.*, **114** (4), 1462–1469.

Wilczek, M., Bertling, J., Hintemann, D. (2004) Optimised technologies for cryogenic grinding. *Int. J. Miner. Process.*, **74**, 425-434.

Yadav, D. N., Anand, T., Kaur, J., Singh, A. K. (2012) Improved storage stability of pearl millet flour through microwave treatment. *Agric. Res.*, **1**, 399–404.

Yener, M. E. (2008) Cookie dough rheology. *Food engineering aspects of baking sweet goods*. CRC, Boca Raton.

Zamora, R., Hidalgo, F. J. (2005) Coordinate contribution of lipid oxidation and Maillard reaction to the nonenzymatic food browning. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **45**, 49–59.

Zhu, F. (2016) Chemical composition and health effects of Tartary buckwheat. *Food Chem.*, **203**, 231-245.

Zhu, K. X., Huang, S., Peng, W., Qian, H. F., Zhou, H. M. (2010) Effect of ultrafine grinding on hydration and antioxidant properties of wheat bran dietary fiber. *Food Res. Int.*, **43**, 943–948.

Zhu, Y., Chu, J., Lu, Z., Lv, F., Bie, X., Zhang, C., Zhao, H. (2018) Physicochemical and functional properties of dietary fiber from foxtail millet (*Setaria italica*) bran. *Journal of Cereal Science*, **79**, 456-461.

## IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Ivana Kuzmić

Ime i prezime studenta