



UNIVERZITET U NOVOM SADU
TEHNOLOŠKI FAKULTET NOVI SAD

Studijski program ■ Prehrambeno inženjerstvo
Naučna oblast ■ Tehnološko inženjerstvo

UTICAJ PREHRAMBENIH VLAKANA ŠEĆERNE REPE I
JABUKE NA REOLOŠKE PARAMETRE TESTA I
KVALITET BEZGLUTENSKOG HLEBA

Doktorska disertacija

Kandidat ■ Marijana Đorđević, mast. inž. tehnol.

Mentor ■ Prof. dr Dragana Šoronja-Simović

Novi Sad, 2020.

Koncipiranje i realizaciju dela istraživanja u okviru ove doktorske disertacije, koji se odnosi na određivanje tehnološkog kvaliteta kukuruznog brašna i skroba, aktivno je koordinisala dr Marija Milašinović-Šeremešić, viši naučni saradnik Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu.

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad

Redni broj:	
RBR	
Identifikacioni broj:	
IBR	
Tip dokumentacije:	
TD	Monografska publikacija
Tip zapisa:	
TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada:	
VR	Doktorska disertacija
Autor:	
AU	Marijana Đorđević, mast. inž. tehnol.
Mentor:	
MN	dr Dragana Šoronja-Simović, vanredni profesor, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad
Naslov rada:	
NR	Uticaj prehrambenih vlakana šećerne repe i jabuke na reološke parametre testa i kvalitet bezglutenskog hleba
Jezik publikacije:	
JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda:	
Jl	Srpski/Engleski
Zemlja publikovanja:	
ZP	Srbija
Uže geografsko područje:	
UGP	Novi Sad, Vojvodina
Godina:	
GO	2020.
Izdavač:	
IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa:	

MA 21000 Novi Sad, Srbija, Bul. cara Lazara1

Fizički opis:

FO broj poglavlja: 8
strana: 178
tabela: 33
slika: 31

Naučna oblast:

NO Prehrambena tehnologija

Naučna disciplina:

ND Tehnologija hleba

Predmetna odrednica /ključne reči:

PO vlakna šećerne repe, vlakna jabuke, reologija, bezglutenski hleb, kvalitet, nutritivna vrednost

UDK 633.63:634.10]:641.13:664.664(043.3)

Čuva se:

ČU u biblioteci Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Srbija, Bulevar cara Lazara 1

Važna napomena:

VN nema

Izvod

IZ: Sagledavajući značaj nutritivne vrednosti bezglutenskog hleba u prevenciji dodatnih zdravstvenih poremećaja kod obolelih od celijakije, kao i prisutnog trenda bezglutenske ishrane, u okviru ove disertacije analizirana je mogućnost obogaćenja bezglutenskog hleba prehrambenim vlaknima. Ispitan je uticaj različite vrste i količine (3, 5, 7%) prehrambenih vlakana (vlakna šećerne repe i vlakna jabuke), količine hidroksipropil metil celuloze - HPMC (2, 3, 4%) i količine vode (180–230%) na reološke osobine bezglutenskog testa (svojstva proticanja i viskoelastične osobine), kvalitet i nutritivnu

vrednost bezglutenskog hleba. Rezultati ove disertacije ukazuju da dodatak vlakana šećerne repe i jabuke ne umanjuje pozitivan uticaj HPMC na reološke osobine bezglutenskog testa, formiranje i ojačavanje njegove strukture. Bezglutenski hleb privlačne boje, veće zapremine, manje tvrdoće sredine i odličnih senzorskih karakteristika dobijen je kod uzoraka sa 4% HPMC, 3, 5 ili 7% vlakana šećerne repe/jabuke i 220%/190% vode. Sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana kod uzoraka sa 3% vlakana je iznad 4,5 g/100 g, a kod uzoraka sa 7% vlakana čak oko 6 g/100 g bezglutenskog hleba. Postignut sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana je iznad propisane vrednosti za proizvode koji mogu biti nosioci nutritivne izjave „izvor vlakana“, čime je ostvaren cilj ove disertacije.

Datum prihvatanja teme:

DP

31.01.2019.

Datum odbrane:

DO

Članovi komisije:

KO

Predsednik:

dr Ljubica Dokić, redovni profesor,
Univerzitet u Novom Sadu,
Tehnološki fakultet Novi Sad

Mentor:

dr Dragana Šoronja-Simović, vanredni
profesor, Univerzitet u Novom Sadu,
Tehnološki fakultet Novi Sad

Član:

dr Zita Šereš, redovni profesor,
Univerzitet u Novom Sadu,
Tehnološki fakultet Novi Sad

Član:

dr Ivana Nikolić, docent, Univerzitet u
Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad

Član:

dr Marija Milašinović-Šeremešić, viši
naučni saradnik, Univerzitet u Novom Sadu,
Naučni institut za prehrambene tehnologije u
Novom Sadu

KEY WORDS DOCUMENTATION

University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Document type:

DT

Monographic publication

Type of record:

TR

Textual material printed

Contents code:

CC

PhD Thesis

Author:

AU

MSc Marijana Djordjević

Mentor:

MN

dr Dragana Šoronja-Simović, PhD, associate professor, University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad

Title:

TI

Influence of sugar beet and apple dietary fibres on batter rheology and gluten free bread quality

Language of text:

LT

Serbian

Language of abstract:

LS

Serbian/English

Country of publication:

CP

Serbia

Locality of publication:

LP

Novi Sad, Vojvodina

Publication year:

PY

2020.

Publisher:

PB

Author reprint

Publication place:
PL 21000 Novi Sad, Srbija, Blvd. cara Lazara1

Physical description:
PD chapters: 8
pages: 178
tables: 33
figures/graphs: 31

Scientific field:
SF Food Technology

Scientific discipline:
SD Technology of bread

Key words:
CW sugar beet fibers, apple fibres, rheology,
gluten-free bread, quality, nutritional value
UC 633.63:634.10]:641.13:664.664(043.3)

Holding data:
HD Library of Faculty of Technology Novi Sad,
21000 Novi Sad, Serbia, Blvd. cara Lazara 1

Note:
N none

Abstract:
AB Considering the importance of the gluten-free bread nutritional value in the prevention of additional health disorders in patients with celiac disease, as well as the arising gluten-free diet trend, the possibility of enriching gluten-free bread with dietary fibers was analyzed within this dissertation. The influence of different types and amounts (3, 5, 7%) of dietary fibers (sugar beet and apple fibers), the amount of hydroxypropylmethylcellulose - HPMC (2, 3, 4%) and the amount of water (180–230%) on rheological properties of gluten-free batter (flow and viscoelastic properties), quality and nutritional value of gluten-free bread. The results of this dissertation indicate that the addition of sugar beet and apple fibers does not diminish the positive influence of HPMC on the rheological properties of the gluten-

free batter, the formation and strengthening of its structure. Gluten-free bread with appealing color, higher volume, lower hardness and excellent sensory characteristics was obtained in samples with 4% HPMC, 3, 5 or 7% sugar beet/apple fibers and 220%/190% water. The total dietary fibers content in samples with 3% fibers is above 4.5 g/100 g, and in samples with 7% fibers approximately 6 g/100 g of gluten-free bread. The accomplished total dietary fibers content is above the prescribed value for products that may bear the nutritional statement "source of fiber", thus achieving the goal of this dissertation.

Accepted by the Scientific Board on:

ASB

31.01.2019.

Defended on:

DE

Thesis defended board:

DB

President:

Ljubica Dokić, PhD, full professor,
University of Novi Sad,
Faculty of Technology Novi Sad

Menthor:

Dragana Šoronja-Simović, PhD,
associate professor,
University of Novi Sad,
Faculty of Technology Novi Sad

Member:

Zita Šereš, PhD, full professor,
University of Novi Sad,
Faculty of Technology Novi Sad

Member:

Ivana Nikolić, PhD, assistant professor,
University of Novi Sad,
Faculty of Technology Novi Sad

Member:

Marija Milašinović-Šeremešić, PhD,
senior research associate,
University of Novi Sad,
Institute of food technology in Novi Sad

Sadržaj

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	5
2.1 Gluten kao alergen u hrani	7
2.1.1 Proteini pšeničnog glutena i njihova svarljivost	7
2.1.2 Zdravstveni poremećaji uzrokovani konzumiranjem namirnica sa glutenom	9
2.1.3 Određivanje količine glutena u prehrambenim proizvodima i njihovo deklarisanje	12
2.2 Proizvodnja bezglutenskog hleba	17
2.2.1 Sirovine za proizvodnju bezglutenskog hleba	18
2.2.1.1 Skrobovi i bezglutenska brašna žita	18
2.2.1.2 Skrobovi i bezglutenska brašna iz alternativnih izvora	20
2.2.1.3 Sirovine za poboljšanje obradivosti testa i tehnološkog kvaliteta bezglutenskog hleba	21
2.2.1.4 Sirovine za poboljšanje nutritivne vrednosti bezglutenskog hleba	27
2.2.2 Poređenje postupaka proizvodnje pšeničnog i bezglutenskog hleba	29
2.3 Fundamentalna reološka merenja primenljiva u bezglutenskim sistemima	32
2.3.1 Svojstva proticanja	34
2.3.2 Dinamička oscilatorna merenja	35
2.3.3 Svojstva puzanja	38
2.4 Kvalitet bezglutenskog hleba i nutritivni aspekti bezglutenske ishrane	39
2.4.1 Tehnološki, senzorski i nutritivni kvalitet bezglutenskog hleba	40
2.4.2 Makro i mikronutrijenti deficitarni u bezglutenskoj ishrani	42
2.5 Prehrambena vlakna kao poboljšivači tehnološkog i nutritivnog kvaliteta bezglutenskog hleba	44
2.5.1 Prehrambena vlakna u proizvodnji bezglutenskog hleba	46
2.5.2 Uticaj prehrambenih vlakana na reološke osobine testa i kvalitet bezglutenskog hleba	50
2.5.3 Prehrambena vlakna šećerne repe	51
2.5.4 Prehrambena vlakna jabuke	53

3. CILJ RADA	55
4. EKSPERIMENTALNI DEO	59
4.1 Materijal	61
4.1.1 Sirovine	61
4.1.2 Hemikalije i reagensi	61
4.2 Metode	62
4.2.1 Određivanje hemijskog sastava i fizičkih osobina sirovina i proizvedenog bezglutenskog hleba	62
4.2.1.1 Određivanje hemijskog sastava sirovina i proizvedenog bezglutenskog hleba	62
4.2.1.2 Instrumentalno određivanje boje sirovina i proizvedenog bezglutenskog hleba	63
4.2.1.3 Određivanje raspodele veličina čestica sirovina	64
4.2.2 Priprema prehrambenih vlakana šećerne repe	65
4.2.3 Određivanje hidratacionih osobina vlakana šećerne repe i jabuke	67
4.2.3.1 Određivanje kapaciteta vezivanja vode	67
4.2.3.2 Određivanje kapaciteta zadržavanja vode	68
4.2.3.3 Određivanje sposobnosti bubrenja	68
4.2.4 Eksperimentalni dizajn	69
4.2.5 Određivanje fundamentalnih reoloških osobina bezglutenskog testa	72
4.2.5.1 Priprema bezglutenskog testa za fundamentalna reološka merenja	72
4.2.5.2 Krive proticanja	73
4.2.5.3 Dinamička oscilatorna merenja	73
4.2.5.4 Krive puzanja i oporavka	74
4.2.6 Proizvodnja bezglutenskog hleba	74
4.2.7 Određivanje tehnološkog kvaliteta i nutritivne vrednosti bezglutenskog hleba	76
4.2.7.1 Određivanje zapremine bezglutenskog hleba	77
4.2.7.2 Određivanje teksturnih osobina bezglutenskog hleba	77
4.2.7.3 Senzorska ocena bezglutenskog hleba	77
4.2.7.4 Određivanje energetske vrednosti bezglutenskog hleba	78
4.2.7.5 Analiza strukture sredine proizvedenog bezglutenskog hleba skenirajućom elektronskom mikroskopijom	79
4.2.8 Statistička obrada podataka	79

5. REZULTATI I DISKUSIJA	83
5.1 Hemijski sastav i fizičke osobine sirovina	85
5.1.1 Hemijski sastav sirovina	85
5.1.2 Boja sirovina	86
5.1.3 Raspodela veličina čestica sirovina	87
5.2 Hidratacione osobine vlakana šećerne repe i jabuke	90
5.3 Uticaj vlakana šećerne repe na fundamentalne reološke osobine bezglutenskog testa	91
5.3.1 Krive proticanja bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe	91
5.3.2 Dinamička oscilatorna merenja bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe	96
5.3.3 Krive puzanja i oporavka bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe	100
5.4 Uticaj vlakana jabuke na fundamentalne reološke osobine bezglutenskog testa	106
5.4.1 Krive proticanja bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke	106
5.4.2 Dinamička oscilatorna merenja bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke	109
5.4.3 Krive puzanja i oporavka bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke	112
5.5 Uticaj vlakana šećerne repe na kvalitet bezglutenskog hleba	118
5.5.1 Boja kore i sredine bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe	118
5.5.2 Zapremina i teksturne osobine bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe	120
5.5.3 Senzorska ocena bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe	126
5.6 Uticaj vlakana jabuke na kvalitet bezglutenskog hleba	129
5.6.1 Boja kore i sredine bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke	129
5.6.2 Zapremina i teksturne osobine bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke	131
5.6.3 Senzorska ocena bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke	137
5.7 Uticaj vrste vlakana na reološke osobine testa, kvalitet i nutritivnu vrednost bezglutenskog hleba	139
5.7.1 Fundamentalne reološke osobine bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe i vlaknima jabuke	139
5.7.2 Tehnološki i senzorski kvalitet bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i vlaknima jabuke	140

5.7.3 Nutritivna vrednost bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i vlaknima jabuke	143
6. ZAKLJUČAK	145
7. LITERATURA	151
8. PRILOG	171

1

UVOD

Pekarski proizvodi, kao jedna od osnovnih grupa namirnica u piramidi ishrane, sastavni su deo svakog obroka na području Balkana. Osnovna sirovina u proizvodnji hleba je pšenično brašno čiji proteini (glijadin i glutenin) prilikom zamesa formiraju gluten. Nastali glutenski matriks je odgovoran za elastičnost i rastegljivost testa, sposobnost zadržavanja gasova nastalih tokom fermentacije što rezultuje prepoznatljivim proizvodom karakterističnih senzorskih svojstava i adekvatne zapremine. Međutim, konzumiranje proizvoda sa glutenom kod dela populacije sa nedovoljno razvijenom imunološkom tolerancijom na proteine uzrokuje glutensku enteropatiju (celijakija) i druge gastrointestinalne probleme. Celijakija se javlja kao najčešća netolerancija na hranu sa prevalencom od skoro 1% u celokupnoj svetskoj populaciji. Procenjuje se da u Evropi od celijakije boluje 1 od 200 osoba, u SAD-u 1 od 250, a prema dostupnim podacima u Srbiji ima od 35 000 do 70 000 obolelih. Trenutno, jedina bezbedna i efikasna terapija za pacijente obolele od celijakije je doživotna primena bezglutenskog režima ishrane koji podrazumeva izbegavanje proizvoda na bazi žitarica i dnevni unos glutena manji od 20 mg kako bi se izbegle neželjene reakcije i komplikacije. Praćenje pomenutog režima ishrane može biti zahtevno s obzirom na to da je raznolikost ponude i dostupnost bezglutenskih pekarskih proizvoda na našem tržištu mala, a njihov kvalitet obično lošiji u poređenju sa proizvodima koji sadrže gluten.

Proizvodnja bezglutenskog hleba je tehnološki zahtevnija jer odsustvo glutena u procesu zamesa testa ima veliki uticaj na reologiju testa, proces proizvodnje ali i kvalitet finalnog proizvoda. U poređenju sa pšeničnim testom bezglutenska testa imaju mnogo manju kohezivnost i elastičnost, a bezglutenski hleb malu specifičnu zapreminu, smanjen intenzitet boje, suhu, mrvljivu sredinu i nedovoljno izražen ukus i miris. Za proizvodnju većine bezglutenskih pekarskih proizvoda se kao osnovne sirovine koriste nativni i modifikovani skrobovi, bezglutenska brašna (kukuruzno i pirinčano brašno) i brašna pseudožita. Ulogu glutena u strukturi testa dobijenog od pomenutih sirovina moraju preuzeti drugi sastojci (hidrokoloidei, proteini, enzimi) čija je osnovna funkcija da „imitiraju“ viskoelastične osobine glutena i time omoguće dobijanje proizvoda što sličnijeg pšeničnom hlebu. Razvoj kvalitetnog bezglutenskog proizvoda još uvek predstavlja veliki izazov za industriju jer ni jedna sirovina, dodatak ili aditiv samostalno ne može u potpunosti zameniti gluten.

Poređenje bezglutenskih vrsta hleba sa komercijalnim pšeničnim hlebom u smislu sensorike, nutritivne vrednosti i prihvatljivosti kod potrošača veoma je

teško usled neadekvatnih pecivnih i nutritivnih karakteristika upotrebljenih bezglutenskih sirovina. Bezglutenski hleb proizveden uz upotrebu različitih vrsta bezglutenskog brašna i skroba suštinski ima veoma mali sadržaj proteina, prehrambenih vlakana, vitamina i minerala. Istraživanja su pokazala da je obogaćenje bezglutenskog hleba prehrambenim vlaknima i mikronutrijentima neophodno jer se kod obolelih od celijakije beleži nizak unos vlakana, gvožđa, kalcijuma, folata i vitamina D. Prehrambena vlakna predstavljaju nutritivno vredne i funkcionalne dodatke koji su u proizvodnji bezglutenskog hleba najviše izučavani. Fokus velikog broja istraživanja u domenu optimizacije bezglutenskog hleba sa prehrambenim vlaknima bio je na primeni vlakana iz različitih izvora: bezglutenska brašna žita i pseudožita, brašna dobijena iz semena biljaka bogatih vlaknima (rogač, kesten), izolovana vlakna visoke čistoće (inulin, frukto – oligosaharidi), ili vlakna dobijena kao sporedni proizvod industrije prerade voća i povrća (vlakna pomorandže, jabuke). Rezultati istraživanja ukazuju da dodatak prehrambenih vlakana pored poboljšanja nutritivnog kvaliteta utiče i na poboljšanje fizičkih i senzorskih karakteristika, ali i produženje trajnosti bezglutenskog hleba.

Zbog brojnih pratećih komplikacija koje se javljaju kod obolelih od celijakije, ali i zbog rastućeg broja potrošača koji opravdano ili neopravdano izbegavaju konzumiranje proizvoda sa glutenom, dostupnost kvalitetnog bezglutenskog hleba postaje važan socijalno - ekonomski i zdravstveni problem. Rast tržišta i veća potražnja za bezglutenskim pekarskim proizvodima utiču na naučnu i stručnu javnost i usmeravaju njihove aktivnosti u pravcu povećanja asortimana i kvaliteta ovih proizvoda. Zadatak prehrambene industrije u sektoru istraživanja i razvoja pekarskih proizvoda je upotreba novih naučnih saznanja i sirovina u razvoju novih bezglutenskih proizvoda koji bi osim dobrog tehnološkog kvaliteta zadovoljili i nutritivne i zdravstvene potrebe različitih grupa potrošača.

2

PREGLED
LITERATURE

2.1 GLUTEN KAO ALERGEN U HRANI

Sve veća rasprostranjenost žitarica kao ratarskih kultura uticala je na ekspanziju poremećaja koji se javljaju prilikom konzumiranja namirnica proizvedenih iz istih. Pšenica kao treća žitarica po obimu proizvodnje u svetu ima značajan doprinos u ishrani i očuvanju zdravlja. Proteini glutena, prisutni u pšenici, su upravo odgovorni za formiranje glutenskog matriksa i mogućnost upotrebe pšenice kao sirovine u širokoj paleti prehrambenih proizvoda, međutim imaju i negativan uticaj na deo populacije sa nedovoljno razvijenom imunološkom tolerancijom na proteine što rezultuje pojavom niza zdravstvenih problema.

2.1.1 PROTEINI PŠENIČNOG GLUTENA I NJIHOVA SVARLJIVOST

Pšenični gluten predstavlja sporedni proizvod u tehnološkom procesu proizvodnje pšeničnog skroba i definiše se kao „proteinska masa slična gumi koja zaostaje nakon ispiranja testa vodom radi uklanjanja rastvorljivih komponenata i skroba“. Prema Kodeks Alimentarijus (Codex Alimentarius, Codex Standard 118-1979, 2008) gluten se definiše kao „proteinska frakcija pšenice, raži, ječma i ovs, ili njihovih ukrštenih sorti, na koju su pojedine osobe netolerantne i koja je nerastvorljiva u vodi i 0,5 mol/l rastvoru natrijum hlorida“.

Proteini glutena pripadaju grupi skladišnih proteina koji se deponuju u skrobnom endospermu i omogućavaju klijanje i rast nove biljke. Udeo skladišnih proteina u ukupnim proteinima zrna je oko 80%, dok je u suvoj materiji zrna komercijalno gajene pšenice njihov udeo od 10 do 15% (Shewry, Tatham, 2016). Preostale proteine pšenice čine u vodi rastvorljivi albumini i globulini, enzimi i inhibitori enzima i nerastvorljivi strukturni proteini (proteini ćelijskih membrana i lipoproteini) (Scherf i sar., 2016). Najčešća podela proteina glutena koja se sreće u literaturi je podela na osnovu njihove rastvorljivosti na prolamine i gluteline. I prolaminska i glutelinska frakcija sadrže srodne proteine, dok razlike u njihovoj

rastvorljivosti određuje prisustvo proteina u formi monomera ili polimera (Shewry, Tatham, 2016).

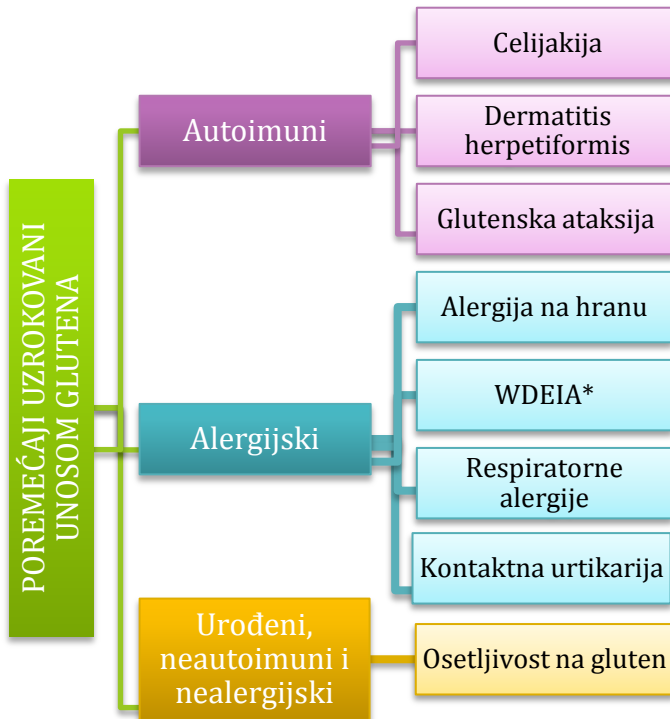
- **Prolaminsku frakciju** – glijadin čine uglavnom monomerne proteinske jedinice koje su nerastvorljive u vodi i rastvorima soli a rastvorljive u razblaženim alkoholnim rastvorima (60% etanolu ili 50% propanolu). Glijadin se smatra odgovornim za zdravstvene poremećaje koji se mogu javiti nakon konzumiranja namirnica sa glutenom.
- **Glutelinska frakcija** – glutenin sadrži veliki broj podjedinica čijom se polimerizacijom formiraju polimeri velike molekulske mase koji su stabilizovani intramolekularnim disulfidnim vezama i nerastvorljivi su u vodi, rastvorima soli i razblaženim alkoholnim rastvorima dok su delimično rastvorljivi u razblaženim rastvorima kiselina i baza ili u rastvorima koji sadrže deterdžente i agense za deagregaciju (Scherf i sar., 2016).

Hipersenzitivnost koja se vezuje za pšenicu (celijakija, neposredna alergija na pšenicu) indukovana je konzumiranjem namirnica koje u sebi sadrže gluten. Nakon konzumiranja hrane uneti proteini bivaju razgrađeni na aminokiseline, di i tripeptide u želudcu, pankreasu i posredstvom enzima crevnih resica u crevima, dok proteinske komponente glutena bogate prolinima ostaju rezistentne na enzimsku degradaciju u gastrointestinalnom traktu. Uloga tripsina u cepanju peptidnih veza u lancu nakon ostataka lizina i arginina je neefikasna jer su navedene aminokiseline prisutne u veoma malim količinama. Aktivnost pepsina i himotripsina koji peptidnu vezu cepaju iza (pepsin i ispred) hidrofobnih aminokiselinskih ostataka je ograničena jer su ovi aminokiselinski ostaci praćeni prolinom kao sledećom aminokiselinom u lancu, a peptidna veza je suviše jaka za njihovo dejstvo. Iz pomenutih razloga relativno dugi lanci peptida stižu do crevnih resica tankog creva, prolaze epitelne barijere *trans* ili međućelijskim putem, i stižu do *lamine propriae* gde se iniciraju imunološke reakcije specifične za bolest kao što je odgovor T – ćelija i antitela (celijakija), ili odgovor antitela (alergija na pšenicu) (Scherf i sar., 2016).

2.1.2 ZDRAVSTVENI POREMEĆAJI UZROKOVANI KONZUMIRANJEM NAMIRNICA SA GLUTENOM

Kao posledica intenziviranog uzgoja žitarica i konzumiranja proizvoda na bazi žita u delu ljudske populacije javila se nedovoljno razvijena imunološka tolerancija na proteine pojedinih vrsta žitarica. Veliki broj studija sprovedenih širom sveta dokazao je da su proteini pšeničnog glutena glavni uzročnici štetnih imunoloških odgovora čije je lečenje za sada jedino moguće upražnjavanjem bezglutenskog režima ishrane (Scherf i sar., 2016). Spektar i klasifikacija zdravstvenih poremećaja koji se mogu javiti nakon konzumiranja namirnica sa glutenom prikazani su na Slici 1.

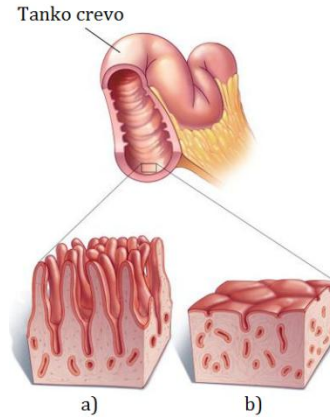
Celijakija se javlja kao najčešća netolerancija na hranu sa sve većom prevalencom tokom poslednje tri decenije (Altobelli i sar., 2014), i delimično je izazvana globalizacijom koja je dovela do povećanja potrošnje hrane sa glutenom na svetskom nivou. Veliki broj epidemioloških studija izveden je sa ciljem utvrđivanja prevalencije celijakije, a rezultati su pokazali da u celokupnoj svetskoj populaciji celijakija ima prevalencu od skoro 1% (Green i sar., 2015). Celijakija se može definisati kao inflamatorna bolest gornje regije tankog creva (duodenum, jejunum) kod osoba sa genetskom predispozicijom za razvoj bolesti, izazvana konzumiranjem proteina glutena pšenice, raži, ječma dok uticaj ovsa na razvoj celijakije još uvek nije u potpunosti razjašnjen (Scherf i sar., 2016). U naučnoj literaturi celijakija se jednim delom smatra poremećajem do koga dolazi usled preosetljivosti na hranu (zbog prisustva glutena kao glavnog alergena u hrani), a drugim delom kao autoimuno stanje usled prisustva serumskih autoantitela protiv tkivne transglutaminaze (TG2) i ostalih transglutaminaza (TG3, TG6). Uzimajući u obzir oba aspekta, celijakija se može definisati kao imunološki posredovana osetljivost na hranu sa autoimunom komponentom (Scherf i sar., 2016).



Slika 1. Spektar zdravstvenih poremećaja uzrokovanih konzumiranjem namirnica sa glutenom i njihova klasifikacija (Czaja-Bulsa, 2015; Scherf i sar., 2016),
*WDEIA- anafilaksija uzrokovana fizičkom aktivnošću nakon konzumiranja pšenice

Razvoj celijakije zavisi od interakcije tri faktora: gena, glutena i faktora životne sredine. Kod osoba sa genetskom predispozicijom za razvoj celijakije prisutna su dva HLA (eng. "human leukocyte antigen") gena druge klase: HLA-DQ2 i HLA-DQ8. Pored genetske predispozicije, razvoj celijakije uzrokovan je ishranom, odnosno konzumiranjem hrane koja sadrži gluten što je tipično za zapadne zemlje. Nakon konzumiranja gluten se, pod dejstvom endopeptidaza u ljudskom gastrointestinalnom traktu, delimično razgrađuje do glijadinskih fragmenata koji prolaze kroz epitelne barijere crevne sluznice. *Lamina propria* je mesto gde se odvija važan korak u imuno patogenezi celijakije kao rezultat aktivnosti enzima tkivne transglutaminaze. Enzim tkivne transglutaminaze deaminuje glijadin čineći ga imunogenim molekulom koji ima uticaj na adaptivni

imuni sistem (Green i sar., 2015). Urođeni imuni odgovor na prisustvo glijadina javlja se u epitelu crevne sluznice i uglavnom utiče na sluznicu gornjeg tankog creva (duodenum, proximal jejunum), a karakteriše se atrofijom crevnih resica koja može biti blaga ili potpuna (Slika 2), hiperplazijom i povećanjem infiltracije limfocita crevnog epitela (Scherf i sar., 2016).



Slika 2. Izgled crevnih resica a) zdrave osobe i b) osobe sa celijakijom

<https://www.drugs.com/mcd/celiac-disease>

Činjenica da samo 1% populacije ima dijagnostikovanu celijakiju ukazuje na značaj faktora životne sredine u razvoju ove bolesti. Različiti faktori sredine, pored unosa glutena, imaju uticaj na patogenezu celijakije, od vitamina D do godišnjeg doba rođenja. Od posebnog su značaja faktori koji utiču na intestinalnu sredinu u ranoj životnoj dobi kao što su dojenje, infekcije i promene crevne mikroflore (Green i sar., 2015).

Brojni simptomi povezani su sa celijakijom, a prema svojim karakteristikama mogu se podeliti na intra i ekstraintestinalne. Klasični intrainestinalni simptomi su dijareja, steatoreja, povraćanje i bol u abdominalnoj regiji međutim, mogu se javiti i zatvor i povećanje telesne težine. Najčešći ekstraintestinalni simptomi uzrokovani su malapsorpcijom nutrijenata, odnosno vitamina i minerala, pa se javlja anemija, osteoporoza, bol u kostima i prelom kostiju, oštećenja zubne gleđi i noćno slepilo (Scherf i sar., 2016).

Dijagnoza celijakije i drugih poremećaja koji se javljaju kao posledica konzumiranja glutena je veoma složena. Dobro poznati intestinalni simptomi

(hronična dijareja ili steatoreja) trebaju biti dovoljni za sprovođenje seroloških testova. Serološki testovi sprovode se uz upotrebu seruma anti endomisium antitela (eng. "IgA anti-endomysium"), anti transglutaminoznih antitela ili antitela anti deamidujućih peptida glijadina. Kombinacija navedenih testova daje pozitivne ili negativne prediktivne vrednosti sa sigurnošću od blizu 100% (Rozenberg i sar., 2012). Međutim, biopsija tankog creva, kao dokaz karakterističnih histoloških promena na crevnoj sluznici, smatra se standardnom analizom za pouzdanu dijagnozu celijakije i potvrdu seroloških rezultata. Konačna dijagnoza celijakije potvrđuje se rezultatima kliničkih, seroloških i histoloških analiza nakon upražnjavanja bezglutenske ishrane (Scherf i sar., 2016).

Nakon dijagnoze celijakije, trenutna najbolja terapija za pacijente je doživotno praćenje bezglutenskog režima ishrane. Bezglutenska ishrana podrazumeva izbegavanje proizvoda na bazi žita odnosno, pšenice (meku i durum pšenicu, stare sorte pšenice speltu, einkorn i emer), raži, ječma, ovsa i njihovih ukrštenih sorti. Dnevni unos glutena kod obolelih bi trebao da bude manji od 20 mg. Oboleli od celijakije mogu konzumirati bezglutenske proizvode iz dve različite kategorije. Prvu kategoriju proizvoda čini širok spektar prirodnih bezglutenskih proizvoda kao što su meso, riba, povrće i voće. Druga kategorija namirnica su funkcionalne namirnice koje se deklariraju kao bezglutenske i predstavljaju alternativu za proizvode sa glutenom kao što su hleb, drugi pekarski proizvodi, testenina, pivo. Pomenute funkcionalne namirnice proizvedene su od žita i brašna koja u sebi ne sadrže gluten kao toksičnu komponentu, ili od „toksičnih“ žitarica koje su prošle rigorozan proces prerade u cilju degradacije prisutnog glutena (Scherf i sar., 2016).

2.1.3 ODREĐIVANJE KOLIČINE GLUTENA U PREHRAMBENIM PROIZVODIMA I NJIHOVO DEKLARISANJE

S obzirom na to da unos glutena može izazvati različite imunološke reakcije kod predisponiranih osoba, a jedini vid terapije je praćenje bezglutenskog režima ishrane, neophodno je imati pouzdane metode za određivanje količine glutena u prehrambenim proizvodima.

Smatra se da oko 10% glutena čine potencijalno toksični glijadinski peptidi (prolamini) (Khosla i sar., 2005), stoga je poželjno kvantifikovati količinu ovih

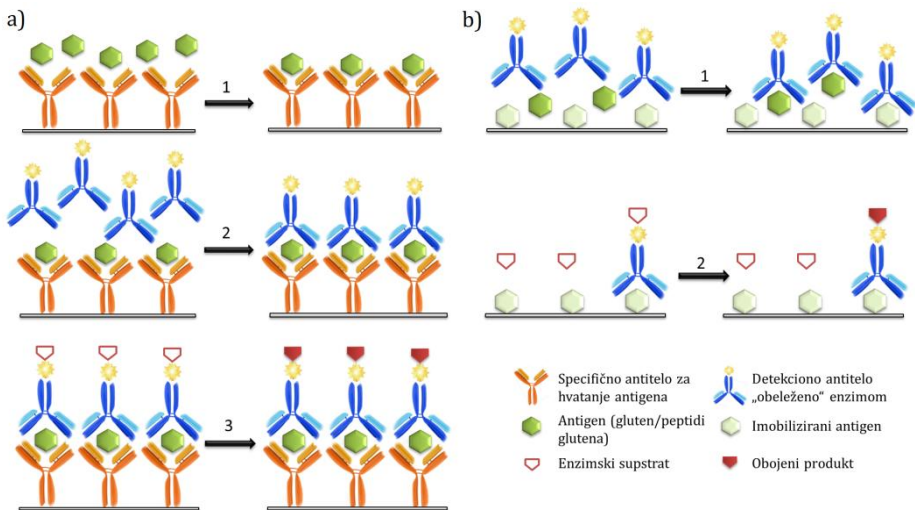
peptida kako bi se preciznije utvrdila toksičnost glutena prisutnog u prehrambenim proizvodima. Veoma bitan korak u određivanju količine glutena u proizvodima je njegova kompletna ekstrakcija iz uzorka s obzirom na to da je gluten lakše ekstrahovati iz žitarica i brašna nego iz proizvoda koji su prošli određeni tehnološki postupak obrade (Rosell i sar., 2014). Poseban izazov predstavljaju termički tretirani proizvodi (hleb) i ekstrudirani proizvodi (testenina) kao i svi ostali proizvodi koji sadrže delimično hidrolizovani gluten. Ekstrakcija glutena i/ili peptida iz ovakvih matriksa mora biti što potpunija i uz upotrebu odgovarajućeg rastvarača. Najčešće korišćeni rastvarač je alkoholni rastvor (60% etanol ili 50% propanol) kojim se ekstrahuje prolaminska frakcija glutena u neprerađenim sirovinama kao što su brašna. Međutim, rastvor alkohola nije dovoljan za solubilizaciju prolamina iz proizvoda jer se tokom njihove obrade, usled formiranja disulfidnih veza između lanaca, dešava agregacija prolamina i glutelina (Kieffer i sar., 2007). Zbog toga se, radi efikasnije ekstrakcije, u kombinaciji sa alkoholnim rastvorom koriste redukujući agensi i agensi za deagregaciju (Scherf, Poms, 2016).

Metode kojima se može odrediti količina glutena u prehrambenim proizvodima mogu se svrstati u dve grupe: imunološke i ne - imunološke (separacione) (Scherf, Poms, 2016). Većina metoda zasniva se na kvantifikaciji prolaminske frakcije glutena rastvorljive u alkoholu. Glutelinska frakcija glutena nerastvorljiva u alkoholu često se ciljano ne određuje iako i ona u određenoj meri sadrži imunogene peptide (Tye-Din i sar., 2010).

Imunološke metode zasnivaju se na upotrebi specifičnog antitela kojim se detektuje antigen odnosno supstanca koja se određuje, u ovom slučaju proteini i peptidi glutena. Enzimski vezani imunosorbentni testovi (eng. "Enzyme-linked immunosorbent assays-ELISAs") su danas najčešće korišćene metode za analizu sadržaja glutena u prehrambenim proizvodima. Osnovni princip ELISA testa zasniva se na antitelima za detekciju koja su kovalentno povezana sa enzimima kao što su peroksidaza ili alkalna fosfataza i grade obojeni kompleks čija se apsorbancija meri i proporcionalna je količini glijadina u uzorku (Scherf, Poms, 2016). ELISA testovi koji se primenjuju za određivanje količine glutena u prehrambenim proizvodima imaju dva mehanizma delovanja pa tako postoje „sendvič“ ELISA test i konkurentni ELISA test (Slika 3) (Wieser i sar., 2014).

Osnovu oba mehanizma čine dve reakcije: imunološka (reakcija između antigena i poznatog specifičnog antitela) i hemijska (reakcija između enzima

kojim je „obeleženo“ detektujuće antitelo i supstrata) (Đurišić i sar., 2003). Kod „sendvič“ ELISA testa (Slika 3a) na površini mikro ploče nalazi se poznata količina specifičnog antitela za „hvatanje“ antigena dok su nespecifična vezujuća mesta na površini blokirana. Nanošenjem uzorka koji sadrži antigen, antigen se prvim vezujućim mestom vezuje za specifično antitelo i formira se kompleks antigen – antitelo (korak 1, Slika 3a). Potom se višak uzorka uklanja ispiranjem i dodaje se detekciono antitelo „obeleženo“ indikatorskim enzimom koje se vezuje za drugo vezujuće mesto antigena. Antigen se, na taj način, nalazi u „sendviču“ između specifičnog antitela za „hvatanje“ i detekcionog antitela (korak 2, Slika 3a). Detekciona antitela koja nisu reagovala sa antigenom se uklanjaju ispiranjem i zatim se dodaje enzimski supstrat koji u reakciji sa enzimom daje obojeni produkt čija se apsorbancija meri (korak 3, Slika 3a). Izmerena apsorbancija direktno je proporcionalna koncentraciji antigena u ekstraktu uzorka i očitava se sa kalibracione krive dobijene prema odgovarajućem reprezentativnom referentnom proteinu (Scherf, Poms, 2016). Uzimajući u obzir da antigen mora imati dva prostorno odvojena mesta vezivanja kojima se povezuje sa specifičnim i detekcionim antitelima, „sendvič“ ELISA test pogodan je samo za detekciju nehidrolizovanog glutena.



Slika 3. Šematski prikaz a) „sendvič“ i b) konkurentnog ELISA testa (Scherf, Poms, 2016)

U proizvodima koji sadrže delimično hidrolizovani gluten kao što su pivo, proizvodi od kiselog testa ili sladni ekstrakti kvantifikacija glutena pomenutim testom više nije tačna s obzirom na to da su prilikom obrade stvoreni manji fragmenti peptida glutena koji mogu posedovati samo jedno mesto vezivanja (Scherf, Poms, 2016).

Kod konkurentnog ELISA testa (Slika 3b) poznata količina antigena imobilisana je na površini mikro ploče dok se uzorak koji sadrži antigen i ograničena, konstantna količina detekcionog antitela obeleženog enzimom dodaju istovremeno. Tokom inkubacije imobilisani antigeni i slobodni antigeni iz uzorka „takmiče“ se za vezujuće mesto detekcionog antitela (korak 1, Slika 3b). Ako se u uzorku nalazi više slobodnih antigena, manji broj detekcionih antitela biće vezan za imobilisane antigene. Nevezana detekciona antitela, antigeni i formirani kompleks slobodni antigen – antitelo uklanjaju se ispiranjem. Nakon ispiranja dodaje se enzimski supstrat koji u reakciji sa enzimom kompleksa imobilisani antigen – antitelo daje obojeni produkt (korak 2, Slika 3b). U ovom slučaju, izmerena apsorbancija je obrnuto proporcionalna koncentraciji antigena u ekstraktu uzorka. Kao i kod „sendvič“ ELISA testa koncentracija antigena u ekstraktu uzorka očitava se sa kalibracione krive referentnog proteina (najčešće peptida glutena ili smeše peptida) (Scherf, Poms, 2016). S obzirom na to da je za odvijanje reakcije potrebno da antigen poseduje samo jedno mesto vezivanja, konkurentni ELISA test može se koristiti za detekciju i hidrolizovanog i nehidrolizovanog glutena. Takođe, konkurentni ELISA test je jeftiniji i brži u poređenju sa „sendvič“ ELISA testom jer se u analizi koristi samo jedno antitelo a inkubacija uzorka i detekcionog antitela sprovodi se istovremeno (Mena i sar., 2012).

„Sendvič“ ELISA test, baziran na R5 antitelu zajedno sa takozvanim „koktel“ rastvorom za ekstrakciju glutena iz uzorka, verifikovan je kao metoda sprovođenjem dve studije (Koehler i sar., 2013a; Mendez i sar., 2005). Pomenuti ELISA test je potom i prihvaćen kao zvanična metoda za određivanje glutena od strane Američkog udruženja hemičara za žitarice (American Association of Cereal Chemists, AACC Approved Method 38-50.01), Udruženja zvaničnih analitičkih hemičara (Association of Official Analytical Chemists, AOAC Official Method 2012.01) i Codex-a kao metoda broj 1 za određivanje nehidrolizovanog glutena u kukuruznim sirovinama. Konkurentni R5 ELISA test razvijen je za određivanje količine delimično hidrolizovanog glutena i prihvaćen kao zvanična metoda od

strane Američkog udruženja hemičara za žitarice (AACC Approved Method 38-50.01) (Koehler i sar., 2013b; Scherf, Poms, 2016).

Generalno, ELISA testovi daju brze rezultate, ne zahtevaju sofisticiranu laboratorijsku opremu, laki su za rukovanje, prikladni za rutinske analize i često jeftiniji od ostalih tehnika a omogućavaju dobru ponovljivost i dovoljnu osetljivost za detekciju glutena ispod granice od 20 mg glutena/kg. Nedostaci pomenutih testova su velika raznovrsnost komercijalno dostupnih test kitova koji se razlikuju po mnogim aspektima što može uticati na rezultate. Ti aspekti uključuju princip ELISA testa („sendvič“ ili konkurentna ELISA), svojstva antitela i njihove afinitete prema različitim žitaricama i glutenskim frakcijama, svojstva kalibracionih standarda i činjenicu da većina antitela detektuje samo prolaminsku frakciju rastvorljivu u alkoholu (Scherf, Poms, 2016). Uzimajući u obzir da je sadržaj prolamina u glutenu 50% (Codex Standard 118-1979, 2008), bazirano na pretpostavci da je odnos prolamina i glutelina 1, sadržaj prolamina određen u nekom proizvodu obično se množi faktorom 2 kako bi se izračunao sadržaj glutena. Međutim, veliki broj analiza sprovedenih na brašnima pšenice (uključujući sorte emer, einkorn i spelta), pirinča i ječma kao i pšeničnom skrobu pokazao je da pravi odnos prolamina i glutelina varira od 0,2 u pšeničnom skrobu do 13,9 u einkorn sorti. Iz ovih razloga je sadržaj glutena u proizvodima precenjen, ili, još ozbiljnije za pacijente sa celijakijom, smanjen u odnosu na stvarnu količinu dupliranjem sadržaja prolamina (Scherf, Poms, 2016).

Ne - imunološke metode koje se mogu koristiti za detekciju glutena uglavnom se zasnivaju na separacionim tehnikama i genomici (proteomika). Tečna hromatografija sa masenim spektrometrom (LC-MS/MS) kao detektorom je ne - imunološka metoda koja je pokazala dobru selektivnost, osetljivost i mogućnost primene i u detekciji hidrolizovanog glutena kao i simultano detektovanje drugih prisutnih alergena u proizvodu (Gomaa, Boye, 2015). Uzimajući u obzir da pomenuta metoda zahteva upotrebu skupe opreme i stručno osoblje još uvek nije našla primenu u rutinskim analizama ali se preporučuje kao dopunska metoda kod kontradiktornih rezultata dobijenih ELISA testom (Scherf, Poms, 2016).

Korišćenjem metode zasnovane na genomici ne određuju se proteini glutena već DNK ili RNK fragmenti koji ukazuju na njihovo prisustvo. Detekcija DNK je mnogo osetljivija u poređenju sa analizom proteina zbog mogućnosti umnožavanja fragmenata DNK tehnikom lančane reakcije polimeraze (eng.

“polymeraze chain reaction, PCR”). PCR se preporučuje kao visoko osetljiva skrining metoda za određivanje prisustva pšenice, raži i ječma u proizvodima i kompatibilna je sa ELISA testom. Međutim, pomenuta tehnika nije pogodna za detekciju glutena u obrađenim i hidrolizovanim uzorcima zbog izražene degradacije DNK (Scherf, Poms, 2016).

Potrošači se oslanjaju na istaknutu deklaraciju prilikom kupovine proizvoda sa ili bez nekog specifičnog sastojka. Proteini glutena se slučajno mogu naći u hrani usled kontakta bezglutenskih sirovina sa pšenicom, raži ili ječmom tokom žetve, transporta ili skladištenja. Takođe, do međusobnog kontakta između pomenutih sirovina može doći i tokom proizvodnje hrane pri upotrebi zajedničke opreme što rezultuje prisustvom proteina glutena u bezglutenskim proizvodima. Slučajno prisustvo glutena u hrani može uzrokovati ozbiljne reakcije kod obolelih od celijakije. Iz pomenutih razloga veoma je bitna kontrola sadržaja glutena u prehrambenim proizvodima i njihovo pravilno deklarisanje koje podrazumeva isticanje oznake „bez glutena“. Oznaku „bez glutena“ mogu nositi proizvodi koji sadrže manje od 20 mg glutena po kilogramu proizvoda po regulativama usvojenim od strane Codex-a, Evropske Unije i Američke administracije za hranu i lekove (US Food and Drug Administration) (Sharma i sar., 2015). U Australiji i na Novom Zelandu regulative o deklarisanju bezglutenskih proizvoda su rigoroznije tako da oznaku „bez glutena“ mogu nositi samo proizvodi u kojima gluten nije detektovan, dok oznaku „sa niskim sadržajem glutena“ mogu nositi proizvodi sa manje od 20 mg glutena na 100 g proizvoda (Scherf, Poms, 2016). U Srbiji, prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti dijetetskih proizvoda (Sl. Glasnik RS br. 45/10), oznaku „bez glutena“ mogu imati proizvodi koji sadrže manje od 20 mg glutena po kilogramu, dok oznaku sa „niskim sadržajem glutena“ mogu imati proizvodi sa sadržajem glutena manjim od 100 g po kilogramu proizvoda.

2.2 | PROIZVODNJA BEZGLUTENSKOG HLEBA

Zahvaljujući sve većem broju ljudi sa dijagnostikovanom celijakijom u poslednjih nekoliko godina beleži se nagli porast tržišta bezglutenskih proizvoda. Na ovu činjenicu je pre svega uticao postignuti napredak u razvoju metoda za

dijagnozu celijakije. Rast tržišta i sve veća potražnja za bezglutenskim proizvodima utiču na prehrambenu industriju iziskujući povećanje proizvodnje kvalitetnih bezglutenskih proizvoda. Zadatak industrije u sektoru istraživanja i razvoja je razvoj novih proizvoda i upotreba novih saznanja kako bi se tržište snabdelo visoko kvalitetnim proizvodima koji će zadovoljiti potrebe ove posebne grupe potrošača (Schober, 2009).

U proizvodnji bezglutenskih pekarskih proizvoda ulogu glutena u formiranju trodimenzionalne proteinske mreže prilikom zamesa testa moraju preuzeti drugi sastojci. Odsustvo glutena u procesu zamesa testa ima veliki uticaj na reologiju testa, proces proizvodnje ali i kvalitet finalnog proizvoda (Houben i sar., 2012). Razvoj kvalitetnog bezglutenskog proizvoda još uvek predstavlja veliki izazov za industriju jer nijedna sirovina, dodatak ili aditiv samostalno ne može u potpunosti zameniti gluten (Capriles, Areas, 2014). Takođe, razviti bezglutenske recepture pekarskih proizvoda koji bi se mogli porediti sa komercijalnim pšeničnim proizvodima u pogledu sensorike, nutritivne vrednosti i prihvatljivosti kod potrošača veoma je teško usled neadekvatnih pećivnih i nutritivnih karakteristika upotrebljenih bezglutenskih sirovina. Dva moguća rešenja za prevazilaženje ovog problema su: 1) modifikovanje glutena određenim postupcima kako bi se učinio netoksičnim i 2) optimizacija receptura koje ne sadrže gluten, a koje će povećati senzorsku i nutritivnu vrednost proizvoda i zadovoljiti potrebe potrošača (Witczak i sar., 2016).

2.2.1 SIROVINE ZA PROIZVODNJU BEZGLUTENSKOG HLEBA

2.2.1.1 Skrobovi i bezglutenska brašna žita

Skrob je rezervni polisaharid viših biljaka koji se sastoji iz dve komponente, linearnog molekula amiloze i razgranatog molekula amilopektina. U oba slučaja, osnovna gradivna jedinica je α - D - glukoza povezana α - 1,4 glikozidnim vezama u linearnom molekulu amiloze i dodatno α - 1,6 vezama formirajući razgranati molekul amilopektina. Molekuli nativnog skroba, deponovani u obliku granula, nalaze se semenu, korenu i krtolama biljaka odakle je moguće njegovo izdvajanje (Witczak i sar., 2016).

Važna uloga skroba u proizvodnji pekarskih proizvoda ogleda se u vezivanju vode, sposobnosti želiranja pri pečenju i formiranju strukture permeabilne za gasove. Osobine testa i finalnog proizvoda na bazi skroba određene su u velikoj meri osobinama skroba korišćenog u formulaciji. Poreklo i tip skroba utiču na mikrostrukturu i reologiju testa, retenciju vode i finalnu strukturu i kvalitet proizvoda. Karakteristike skroba kao što su veličina skrobne granule, bubrenje i rastvorljivost u vodi, mogućnost obrazovanja paste i želiranja, reološke osobine skrobne paste i gela, sposobnost amiloze da formira kompleks sa mastima i emulgatorima u velikoj meri utiču na osobine finalnog proizvoda. Mikrostruktura skroba ima značajan uticaj na izgled, teksturu i stabilnost finalnog proizvoda na bazi skroba. Nakon eliminacije glutena, uloga skroba u formiranju strukture i teksture bezglutenskih proizvoda postaje dominantna. Skrobovi koji su najznačajniji za bezglutensku proizvodnju su kukuruzni, pirinčani, krompirov i skrob tapioke (Witczak i sar., 2016). Od 2008. godine na tržištu se pojavljuje i pšenični skrob sa sadržajem glutena ispod 20 mg/kg, granice ustanovljene od strane Codex-a, koji ne škodi većini pacijenata sa celijakijom (Houben i sar., 2012).

Kukuruzni skrob i brašno

Kukuruz (*Zea mays*) predstavlja jednu od najrasprostranjenijih žitarica u pogledu uzgoja. Prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih Nacija (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) Sjedinjene Američke Države su glavni proizvođači kukuruza na svetu, sa polovinom od ukupne svetske proizvodnje, praćene Kinom i Brazilom. Prosečni hemijski sastav komercijalnog žutog kukuruza čine: 9,4% proteina, 4,7% lipida, 1,2% pepela, 7,3% prehrambenih vlakana i 74,3% ugljenih hidrata. Zahvaljujući visokom sadržaju ugljenih hidrata, prisutnih u obliku skroba, šećera i celuloze, kukuruz predstavlja visoko energetska sirovinu za prehrambenu industriju (Preichardt, Gularte, 2015). Preko 80% skroba na svetskom nivou proizvodi se iz kukuruza. Granule kukuruznog skroba su prečnika od 5 do 30 μm i u zavisnosti od sorte kukuruza postoje i voskasti i visoko - amilozni kukuruzni skrobovi sa sadržajem amiloze od 50 do 80% (Schober, Bean, 2008). Tehnološki postupak proizvodnje kukuruznog brašna uključuje operacije čišćenja i sušenja zrna, uklanjanja klice, mlevenja, prosejavanja i pakovanja. Upotrebom kukuruznog brašna proizvodi dobijaju prirodno žutu boju i karakterističan miris koji je prepoznatljiv i prihvatljiv potrošačima. Dostupnost i niska cena kukuruznog brašna na tržištu, kao i odsustvo glutena, čine ga pogodnim za primenu u

proizvodnji bezglutenskog hleba (Preichardt, Gularte, 2015). Prema de la Hera i sar. (2013) kukuruzna brašna sa grubljim, većim česticama su najpovoljnija za proizvodnju bezglutenskog hleba jer daju hleb veće zapremine i manje tvrdoće u poređenju sa hlebom proizvedenim od brašna finije granulacije.

Pirinčani skrob i brašno

Pirinač (*Oryza sativa*) je najzastupljenija žitarica u Jugoistočnoj Aziji, uključujući i Indiju, pa je njegova proizvodnja u ovom delu sveta mnogo veća u poređenju sa proizvodnjom pšenice (Arendt i sar., 2009). Hemijski sastav pirinča varira u zavisnosti od uslova gajenja. U poređenju sa drugim žitaricama pirinač je bogat skrobom i nutrijentima i lako je svarljiv. Granule pirinčanog skroba su manje, prečnika 2-5 μm , u poređenju sa skrobnim granulama kukuruza i pšenice (Preichardt, Gularte, 2015). Pirinčano brašno je najčešće korišćeno brašno u proizvodnji bezglutenskog hleba zbog svojih karakteristika kao što su bela boja, blag ukus, laka svarljivost i hipoalergijski efekat. Uprkos svim navedenim prednostima pirinčano brašno, usled loših tehnoloških karakteristika proteina, ima ograničenu primenu u pekarstvu (Capriles, Areas, 2014). Zbog svoje hidrofobne prirode, proteini pirinčanog brašna su nerastvorljivi, nisu u stanju da formiraju viskoelastično testo i omogućće zadržavanje ugljen-dioksida proizvedenog tokom fermentacije što rezultuje finalnim proizvodom male zapremine i zbijene sredine (Foschia i sar., 2016).

2.2.1.2 Skrobovi i bezglutenska brašna iz alternativnih izvora

Tokom poslednje decenije, skrobovi i brašna dobijena iz alternativnih izvora (skrob iz krtola krompira, tapioke, brašna pseudožita, mahunarki) upotrebljavaju se u proizvodnji bezglutenskog hleba kako bi se povećala nutritivna vrednost i raznolikost ovih proizvoda (Capriles, Areas, 2014).

Brašna pseudožita

Pseudožita su dikotiledone biljke (za razliku od žitarica koje su monokotiledone) ali njihova zrna su veoma slična zrnima žitarica u pogledu sastava i upotrebe. Najčešće izučavana pseudožita su heljda (*Fagopyrum esculentum*), amarant (*Amaranthus caudatus*, *Amaranthus cruentus*, *Amaranthus hypochondriacus*) i kinoa (*Chenopodium quinoa*). Brašna pseudožita predstavljaju

bezglutenske sirovine koje su česti sastojci bezglutenskih proizvoda zbog povoljnog nutritivnog sastava usled prisustva visoko vrednih proteina, esencijalnih amino i masnih kiselina, visokog sadržaja minerala i bioaktivnih komponenata (Alvarez-Jubete i sar., 2009).

Druga alternativna brašna sa potencijalnom primenom u proizvodnji bezglutenskog hleba su brašna mahunarki, brašna dobijena iz semenki i orašastih plodova. Dobre rezultate prilikom upotrebe u bezglutenskim formulacijama dala su brašna mahunarki kao što su soja (Shin i sar., 2013), leblebija i rogač (Minarro i sar., 2012; Tsatsaragkou i sar., 2012), zatim brašna lanenog semena (Gambús, 2005) i čije (Steffolani i sar., 2014), kao i kesten brašno (Demirkesen i sar., 2010b).

2.2.1.3 Sirovine za poboljšanje obradivosti testa i tehnološkog kvaliteta bezglutenskog hleba

Dodaci kao što su hidrokoloidei, proteini, enzimi, antioksidansi, emulgatori i konzervansi se najčešće koriste u pekarstvu sa ciljem da se poboljša obradivost testa, kvalitet i svežina hleba. Iz istih razloga upotreba pomenutih dodataka opravdana je i pri proizvodnji bezglutenskog hleba (Capriles, Areas, 2014).

Hidrokoloidei

Viskoelastična svojstva testa, koja obezbeđuje formirana trodimenzionalna glutenska mreža, odgovorna su za formiranje ćelija gasa, njihovu stabilizaciju i zadržavanje gasova u fazi fermentacije. S obzirom na nedostatak glutena, za razvoj bezglutenskog hleba dobrih karakteristika, neophodna je primena polimernih supstanci koje su sposobne da „imitiraju“ viskoelastična svojstva glutena i na taj način obezbede zadržavanje gasova i odgovarajuću strukturu bezglutenskog hleba. Hidrokoloidei su supstance sačinjene od molekula dugih hidrofilnih lanaca velikih molekulskih masa koji imaju koloidne osobine i u vodenim rastvorima grade gelove (Arendt i sar., 2009). Različito poreklo i hemijska struktura hidrokoloida obezbeđuju različite funkcionalne osobine. Od objavljivanja prvih istraživanja o bezglutenskom hlebu pa do danas različiti hidrokoloidei su korišćeni kao dodaci u bezglutenskim recepturama (Tabela 1).

Tabela 1. Hidrokoloide korišćeni u proizvodnji bezglutenskog hleba (Mir i sar., 2016)

Osnovna sirovina	Hidrokoloid	Količina (g/100 g)	Literatura
Pirinčano brašno, kukuruzni skrob i skrob tapioke	Ksantan guma	0,5	Lopez i sar., 2004
Pirinčano brašno i krompirov skrob	HPMC, CMC, guar guma	/	Cato i sar., 2004
Pirinčano brašno	Ksantan guma, HPMC	/	Ahlborn i sar., 2005
Pirinčano brašno	HPMC	3,5	Lee, Lee, 2006
Pirinčano brašno i kukuruzni skrob	CMC, pektin, agaroz, ksantan guma, β -glukan	1; 2	Lazaridou i sar., 2007
Pirinčano brašno	Ksantan guma, guar guma, rogač guma, HPMC, pektin	0,5	Demirkesen i sar., 2010a
Pirinčano, kukuruzno i sojino brašno	Karagenan, alginati, ksantan guma, CMC	0,5	Sciarini i sar., 2010
Pirinčano brašno i kukuruzni skrob	Ksantan guma, HPMC, guar guma, karagenan	1; 1,5; 2	Sabanis, Tzia, 2011a
Pirinčano brašno i kasava skrob	HPMC, ksantan guma	2; 3; 5	Crockett i sar., 2011a
Pirinčano brašno	HPMC, β -glukan (iz ovsa)	0,1-2,5 0,1-3,9	Ronda i sar., 2013
Kesten brašno i pirinčano brašno	Ksantan guma i guar guma	0,5	Demirkesen i sar., 2013
Kesten brašno i čija	Guar guma, HPMC	0,5; 1; 1,5; 2	Moreira i sar., 2013
Pirinčano brašno, kukuruzno brašno i heljdino brašno	HPMC, ksantan guma	0-2	Hager, Arendt, 2013
Pirinčano brašno i kukuruzni skrob	CMC, ksantan guma	0,5; 1; 1,5	Mohammadi i sar., 2014
Pirinčano brašno	HPMC, β -glukan (iz kvasca)	3; 5; 7 1; 2	Kittisuban i sar., 2014
Integralno pirinčano brašno	Ksantan guma, guar guma, rogač guma, metilceluloza, CMC, HPMC	0,5	Demirkesen i sar., 2014a
Pirinčano brašno	HPMC,	2; 3; 4	Mancebo i

Pirinčano brašno	psilijum	2; 4	sar., 2015
	HPMC,	2	Ronda i sar.,
	β -glukan (iz ovsa),	3,9; 7,9;	2015
		11,8	
	β -glukan (iz ječma)	1,8; 3,6;	
		5,4	
Pirinčano brašno,	NaCMC	0,25; 0,5;	Nicolae i sar.,
kukuruzni skrob		1; 2	2016
CMC-karboksimetil celuloza;	HPMC-hidroksipropil metil celuloza;		NaCMC-natrijum
karboksimetil celuloza			

Međusobna interakcija hidrokoloida i vode u bezglutenskim formulacijama rezultuje formiranjem gela mrežaste strukture koji povećava konzistenciju bezglutenskog testa i jača zidove ekspandirajućih ćelija što utiče na povećanje sposobnosti zadržavanja gasa tokom fermentacije i poboljšava zapreminu, izgled sredine, teksturu i spoljni izgled bezglutenskog hleba. Hidrokoloidi takođe, imaju sposobnost da otpuste vezanu vodu i na taj način omogućе želatinizaciju skroba tokom pečenja (Anton, Artfield, 2008). Efekat dodatog hidrokoloida varira u zavisnosti od ostalih sastojaka upotrebljenih u bezglutenskoj formulaciji. U kojoj meri će hidrokolid uticati na osobine testa i hleba zavisi od njegove hemijske strukture, dodate količine, interakcije sa ostalim sastojcima i procesnih parametara (Hager, Arendt, 2013; Houben i sar., 2012). Gledano sa nutritivnog aspekta, uključivanje hidrokoloida u bezglutenske formulacije u kontekstu rastvorljivih prehrambenih vlakana (pektin, β -glukan) za rezultat daje bezglutenski hleb povećane nutritivne vrednosti (Matos, Rosell, 2015).

Dodatak hidrokoloida do određene količine daje željene rezultate, ali među različitim hidrokolidima hidroksipropil metil celuloza (HPMC) i ksantan guma su najčešće primenjivani u proizvodnji bezglutenskog hleba zbog njihovog već dokazanog efekta na kvalitet finalnog proizvoda (Hager, Arendt, 2013). Hidroksipropil metil celuloza (HPMC) je celulozni etar dobijen hemijskim putem uvođenjem hidrofilnih hidroksipropil i hidrofobnih metil grupa u osnovni lanac celuloze. Ovakvom hemijskom modifikacijom dobija se polimer koji je rastvorljiv u vodi i ima veliku površinsku aktivnost kao i jedinstvene hidratacione osobine u rastvoru i tokom temperaturnih promena (Sarkar, Walker, 1995). Kada se nalazi u rastvoru na nižim temperaturama, HPMC ima veliki kapacitet zadržavanja vode – molekuli su hidratizani i polimer - polimer interakcije se svode uglavnom na međusobno uplitanje lanaca. Nakon zagrevanja HPMC formira gel i istovremeno oslobađa vezanu vodu. Smatra se da se tokom želatinizacije između lanca HPMC

formiraju hidrofobne veze koje daju jaču strukturu gela na višim temperaturama. Različiti odnosi supstitucije hidroksipropil i metil grupa u lancu celuloze utiču na rastvorljivost i temperaturu želatinizacije HPMC (Hager, Arendt, 2013).

Proteini

Proteini se u bezglutenske formulacije dodaju prvenstveno zbog izgradnje proteinske mreže koja može oponašati neka svojstva glutena, poboljšati reološke i pecivne osobine testa, strukturne, senzorske i nutritivne karakteristike bezglutenskog hleba i njegov rok trajanja. Pregled do sada korišćenih proteina u bezglutenskim recepturama dat je u Tabeli 2.

Tabela 2. Proteini korišćeni u proizvodnji bezglutenskog hleba

Osnovna sirovina	Protein	Količina (g/100 g)	Literatura
Pirinčano brašno	Izolat sojinih proteina, izolat proteina graška	1; 5,9; 13; 20,1; 25	Marco, Rosell, 2008a
Pirinčano brašno i krompirov skrob	Natrijum kazeinat, izolati proteina surutke, koncentrat proteina surutke	10	Nunes i sar., 2009a
Pirinčano brašno, kukuruzni skrob, krompirov skrob i brašno amaranta	Albumin	2,5; 5	Schoenlechner i sar., 2010
Pirinčano brašno i kasava skrob	Izolat sojinih proteina, belance u prahu	1; 2; 3 5; 10; 15	Crockett i sar., 2011b
Pirinčano brašno	Izolat kazeina, izolat albumina	0,67; 3; 5,32; 6	Storck i sar., 2013
Kukuruzni i krompirov skrob	Albumin, koncentrat sojinih proteina, kolagen, izolat proteina graška	10	Ziobro i sar., 2013a
Pirinčano brašno	Izolat proteina surutke	1; 2	Kittisuban i sar., 2014
Pirinčano brašno	Koncentrat proteina iz pirinčanih mekinja, albumin	2; 4	Phongthai i sar., 2016
Krompirov skrob	Krompirov protein, izolat sojinih proteina, protein klice rogača	2	Horstmann i sar., 2017

U bezglutenske formulacije najčešće se dodaju proteini iz mleka, jaja, mahunarki i žitarica. Prilikom razvijanja novih formulacija i konzumiranja

bezglutenskog hleba obogaćenog proteinima treba uzeti u obzir i netoleranciju na laktozu koja se može javiti kod pacijenata sa celijakijom (Capriles, Areas, 2014).

Proteini prisutni u dodacima koji potiču iz mlečne industrije imaju različite funkcionalne osobine i ispoljavaju različite efekte na bezglutensko testo i hleb (Nunes i sar., 2009a). Dodatak ovih proteina u bezglutenske formulacije može uticati na povećanje zapremine i poboljšanje teksture, ukusa i boje kore bezglutenskog hleba (Houben i sar., 2012). Jaja se u bezglutenske formulacije dodaju zbog mogućnosti stvaranja pene i emulgovanja, ali i zbog razvijanja zadovoljavajuće strukture sredine hleba. Proteini jaja formiraju kohezivne filmove koji imaju suštinski značaj za obrazovanje stabilne pene i zadržavanje gasova prilikom fermentacije, a takođe učestvuju i u izgradnji strukture bezglutenskog hleba (Houben i sar., 2012). Proteini soje se u bezglutenske formulacije dodaju u obliku sojinog brašna ili kao koncentрати i izolati proteina čime se poboljšavaju osobine testa i hleba što je potvrđeno odgovarajućim studijama (Horstmann i sar., 2017; Ziobro i sar., 2013a).

Enzimi

Sve veći broj istraživanja usredsređen je na primenu enzima koji bi mogli poboljšati funkcionalnost proteina već prisutnih ili naknadno dodatih u bezglutensko brašno (Renzetti, Rosell, 2016). Enzimi se najčešće dodaju radi poboljšanja obradivosti testa, kvaliteta i roka trajanja bezglutenskog hleba. Najčešće proučavani enzimi u proizvodnji bezglutenskog hleba su enzimi koji modifikuju skrob (amilaza, ciklodekstrin glikoziltransferaza), enzimi koji pospešuju umrežavanje proteina (transglutaminaza, glukoza oksidaza) i proteaze (Capriles, Areas, 2014) (Tabela 3).

Dostupan je veliki broj enzima kojima se može izvršiti modifikacija proteina i prema mehanizmu njihovog delovanja mogu se klasifikovati na one sa direktnim unakrsnim povezivanjem, indirektnim unakrsnim povezivanjem i one koji vrše proteolizu (Renzetti, Rosell, 2016). Formiranje veza između lanaca proteina koji se već nalaze u bezglutenskom brašnu ili su dodati u testo, mehanizmom direktnog ili indirektnog unakrsnog povezivanja, smatra se najverodostojnijim načinom oponašanja strukture glutena. Iz pomenutog razloga upotreba transglutaminaze i različitih oksidaza u bezglutenskim sistemima je najviše zastupljena u istraživanjima (Renzetti, Rosell, 2016).

Tabela 3. Enzimi korišćeni u proizvodnji bezglutenskog hleba

Osnovna sirovina	Enzim	Količina (g/100 g)	Literatura
Pirinčano brašno	Transglutaminaza	0,5; 1; 1,5	Gujral, Rosell, 2004a
Pirinčano brašno	Glukoza oksidaza	0,01; 0,02; 0,03	Gujral, Rosell, 2004b
Pirinčano brašno, kukuruzno brašno i krompirov skrob	Transglutaminaza	0,1; 1; 10 U*	Moore i sar., 2006
Kukuruzno brašno	Transglutaminaza	0; 1; 10 U*	Renzetti i sar., 2008a
Heljdino brašno	Transglutaminaza	10 U*	Renzetti i sar., 2008b
Pirinčano brašno i izolat sojinih proteina	Transglutaminaza	1	Marco, Rosell, 2008b
Heljdino brašno, kukuruzno brašno, tef i sirak	Glukoza oksidaza, proteaza	0,01; 0,1 0,001; 0,01	Renzetti, Arendt, 2009
Integralno brašno pirinča	Transglutaminaza	10 U*	Renzetti i sar., 2012
Krompirov skrob, kukuruzni skrob, kukuruzno brašno, izolat sojinih proteina i izolat proteina surutke	Transglutaminaza	1; 10 U*	Dłużewska i sar., 2015
Heljdino brašno, kukuruzno brašno i pirinčano brašno	Glukoza oksidaza, transglutaminaza, hemicelulaza, fungalna amilaza, esteraza	0,001; 0,003; 0,005; 0,01	Palabiyik i sar., 2016

*U – enzimске jedinice po gramu proteina

Emulgatori

Emulgatori se u bezglutenskim proizvodima mogu upotrebiti sa ciljem da poboljšaju obradivost testa, strukturu i zapreminu hleba, kao i da smanje tvrdoću sredine i brzinu starenja bezglutenskog hleba. Pregled do sada korišćenih emulgatora u bezglutenskim recepturama dat je u Tabeli 4.

Tabela 4. Emulgatori korišćeni u proizvodnji bezglutenskog hleba

Osnovna sirovina	Emulgator	Količina (g/100 g)	Literatura
Pirinčano brašno, krompirov skrob	Lecitin, DATEM, monogliceridi, Natrijum stearoil laktilat	0,1; 0,3; 0,5 0,3; 0,45; 0,6 0,3; 0,65; 1 0,3; 0,4; 0,5	Nunes i sar., 2009b
Kasava skrob, sirak	Glicerol monostearat, natrijum stearoil-2-laktilat, DATEM, kalcijum stearoil-2- laktilat	0,4; 2,4	Onyango i sar., 2009
Pirinčano brašno	Purawave™, DATEM	0,5	Demirkesen i sar., 2010a

DATEM-Diacetil tartarnih estara monoglicerida

Emulgatori imaju amfilnu prirodu koja im omogućava da migriraju u međuprostor između dve nemešljive faze, smanjuju površinski napon i formiraju stabilnu emulziju (Nunes i sar., 2009b). Emulgatori pospešuju zadržavanje gasa u testu redukujući površinski napon mehurova gasa, a takođe usporavaju i starenje hleba kroz interakciju sa molekulima skroba usled čega se smanjuje brzina retrogradacije skroba i poboljšava zadržavanje vode (Nunes i sar., 2009b; Capriles, Areas, 2014). Nunes i sar. (2009b) i Onyango i sar. (2009) istraživali su efekte dodatka različitih emulgatora u bezglutenske formulacije. Varijacije u dobijenim rezultatima bile su uslovljene tipom emulgatora i njegovom količinom. Generalno, rezultati su pokazali da se kvalitet bezglutenskog hleba (zapremina, tekstura i izgled) može začajno poboljšati upotrebom odgovarajućeg emulgatora u optimalnoj količini (Capriles, Areas, 2014).

2.2.1.4 Sirovine za poboljšanje nutritivne vrednosti bezglutenskog hleba

Bezglutenski hleb proizveden upotrebom različitih rafinisanih brašna i skrobova suštinski ima veoma mali sadržaj prehrambenih vlakana, vitamina i minerala (do Nascimento i sar., 2013; Thompson, 2000). Istraživanja su pokazala da je obogaćenje bezglutenskog hleba prehrambenim vlaknima i mikronutrijentima neophodno jer se kod obolelih od celijakije beleži nizak unos vlakana, gvožđa, kalcijuma, folata i vitamina D (Kinsey i sar., 2008; Thompson i sar., 2005). Obogaćenje pšeničnog brašna folnom kiselinom i gvožđem zakonska je

obaveza u pojedinim zemljama, pa se smatra da bi i obogaćenje bezglutenskog brašna pomenutim nutrijentima moglo poboljšati kvalitet bezglutenske ishrane (Capriles, Areas, 2014). Nutritivna vrednost bezglutenskog hleba mogla bi se poboljšati i upotrebom nutritivno vrednih alternativnih brašana i/ili dodataka. U Tabeli 5 dat je prikaz sastojaka koji se koriste za poboljšanje nutritivne vrednosti bezglutenskog hleba.

Tabela 5. Nutritivno vredni dodaci korišćeni u proizvodnji bezglutenskog hleba (Capriles, Areas, 2014)

Prehrambena vlakna	Funkcionalni dodaci	Mikronutrijenti	Dodaci na bazi voća i povrća
Vlakna žitarica	Fruktani tipa inulina β-glukan iz ovsa Psilijum	Minerali: gvožđe kalcijum	Brašna Ekstrakti Sporadni proizvodi
Vlakna sa želirajućim osobinama	Rezistentni skrob Izoflavoni Omega 3 masne kiseline Probiotici	Vitamini: folna kiselina vitamin D	

Prehrambena vlakna

Prehrambena vlakna predstavljaju nutritivno vredne i funkcionalne dodatke koji su u proizvodnji bezglutenskog hleba najviše izučavani. U pojedinim bezglutenskim recepturama, pored poboljšanja nutritivnog kvaliteta, dodatak prehrambenih vlakana uticao je i na poboljšanje fizičkih i senzorskih karakteristika kao i roka trajanja bezglutenskog hleba. Treba uzeti u obzir da je u formulacijama koje su obogaćene vlaknima povećanje količine vode obično neophodno zbog velikog kapaciteta vezivanja vode vlakana. Povećanje količine vode omogućava postizanje adekvatne konzistencije testa, kao i želatinizaciju skroba i denaturaciju proteina tokom pečenja (Capriles, Areas, 2014). Problematika vezana za upotrebu prehrambenih vlakana u proizvodnji bezglutenskog hleba biće detaljnije razmotrena u poglavlju 2.5.

Mikronutrijenti

Populacija koja je na režimu bezglutenske ishrane rizikuje pojavu deficita minerala i vitamina usled niskog sadržaja mikronutrijenata u bezglutenskim proizvodima (Capriles i sar., 2016). Mali broj istraživanja sproveden je na temu obogaćenja bezglutenskog hleba mikronutrijentima. Istraživanja su vođena u pravcu pronalaženja jedinjenja gvožđa i kalcijuma koja bi se adekvatno apsorbavala u organizmu, pri čemu bi izostao njihov negativan efekat na senzorski kvalitet bezglutenskog hleba (Capriles, Areas, 2014). Kiskini i sar. (2007) su u svom istraživanju upotrebili različita jedinjenja gvožđa (gvožđe pirofosfat, gvožđe pirofosfat u kombinaciji sa emulgatorom, NaFeEDTA, gvožđe (II) glukonat, gvožđe (II) laktat i gvožđe sulfat) sa ciljem obogaćenja bezglutenskog hleba na bazi amaranta. Rezultati su pokazali da je obogaćenje bezglutenskog hleba gvožđe pirofosfatom, sa i bez emulgatora, naišlo na najveću prihvatljivost kod potrošača. Krupa-Kozak i sar. (2011) ispitali su uticaj dodatka 2% kalcijum kazeinata i kalcijum citrata u bezglutenski hleb individualno i u kombinaciji. Rezultati su pokazali da bezglutenski hleb obogaćen kalcijumom ima mekšu i elastičniju sredinu kao i prijatnu aromu i ukus putera. U svojim daljim istraživanjima Krupa-Kozak i sar. (2012) razvili su recepturu koja je sadržala 3,9% inulina i bila obogaćena kalcijumom organskog i neorganskog porekla: kalcijum laktat, kalcijum citrat, kalcijum hlorid i kalcijum karbonat. Najbolji rezultati postignuti su pri dodatku kalcijum karbonata.

2.2.2 POREĐENJE POSTUPAKA PROIZVODNJE PŠENIČNOG I BEZGLUTENSKOG HLEBA

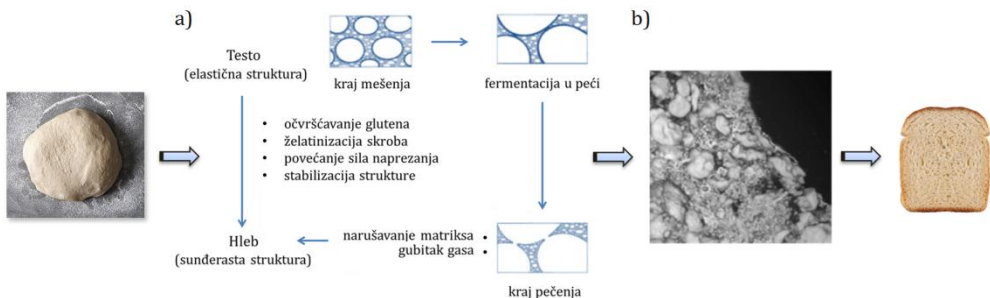
Tehnološki postupak proizvodnje bezglutenskog hleba se u maloj meri razlikuje od postupka proizvodnje standardnog pšeničnog hleba. Pomenute razlike ogledaju se u odsustvu glutena i regulisanju procesnih parametara tehnološkog postupka. Standarni postupak proizvodnje hleba obuhvata operacije mešenja, fermentacije u masi, deljenja, okruglog oblikovanja, intermedijarne fermentacije, završnog oblikovanja, završne fermentacije i pečenja (Slika 4). Dosadašnje studije pokazale su da većina bezglutenskih sistema ima tendenciju da sadrži veću količinu vode tako da je njihova konzistencija bliža biskvitnom nego standardnom testu (Nitcheu Ngemakwe i sar., 2014).



Slika 4. Šematski prikaz tehnoloških postupka proizvodnje pšeničnog i bezglutenskog hleba

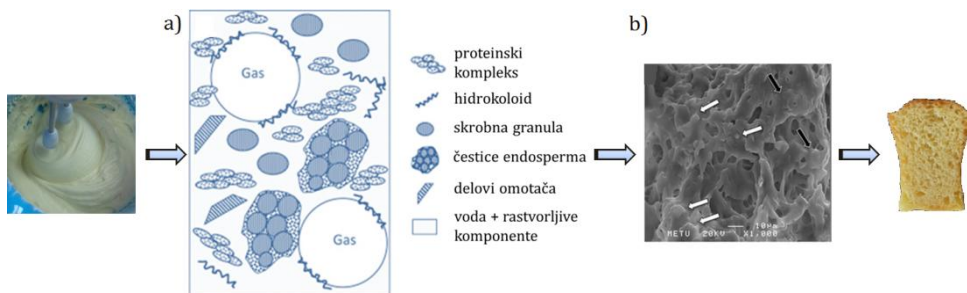
Iz pomenutog razloga zames bezglutenskog testa najčešće se obavlja korišćenjem miksera, nakon čega se testo izliva u kalupe i stavlja na fermentaciju, a zatim pečenje (Slika 4). Bitno je istaći da operacije zamesa, fermentacije i pečenja bezglutenskog testa vremenski traju kraće u poređenju sa istim operacijama pri standardnom postupku proizvodnje hleba (Lazaridou, Biliaderis, 2009).

Posmatrajući mikrostrukturu pšeničnog i bezglutenskog testa uočavaju se značajne razlike. Nakon mešenja, pšenično testo sastoji se iz dispergovanih ćelija gasa ugrađenih u kontinualni proteinsko - skrobni matriks (Slika 5A). Matriks gluten - skrob predstavlja primarni stabilizacioni faktor koji omogućava širenje gasnih ćelija, kontrolisano očvršćavanjem glutenske mreže, bez njihove koalescencije. Tokom pečenja glutenska mreža čini testo sposobnim da se širi usled povećanog pritiska gasa kao i da se odupre narušavanju uspostavljene strukture. U poslednjoj fazi pečenja, elastičnije ponašanje matriksa gluten - skrob usled želatinizacije skroba i polimerizacije glutena, rezultuje rupturom matriksa i uspostavljanjem trajne sunderaste strukture. Shodno tome, hlebno testo prolazi kroz strukturnu transformaciju (iz elastične u sunderastu strukturu) koja je povezana sa naglim otpuštanjem gasa iz testa (Slika 5a). Posmatrano na mikrostrukturnom nivou, sunderasta struktura sredine hleba sastoji se iz kontinualne faze želatinizovanog skroba i kontinualne glutenske mreže koja okružuje skrobne granule i fragmente vlakana (Slika 5b) (Renzetti, Rosell, 2016).



Slika 5. a) Mikrostruktura pšeničnog testa i mehanizmi ekspanzije i formiranja strukture tokom fermentacije i pečenja (prilagođeno iz Gan i sar., 1995); b) Konfokalna laserska skening mikrografija sredine pšeničnog hleba na kojoj se uočava matriks gluten - skrob: želatinizovane skrobne granule ugrađene u glutensku mrežu (prilagođeno iz Zannini i sar., 2012)

Usled nedostatka kontinualnog proteinsko - skrobnog matriksa u bezglutenskom testu (Slika 6a), mehanizam za stabilizaciju dispergovanih ćelija gasa tokom mešanja uglavnom se oslanja na viskozitet sistema. Iz tih razloga se u bezglutenska testa dodaju hidrokoloidi koji imaju sposobnost da delimično oponašaju ulogu glutena u formiranju strukture.



Slika 6. a) Mikrostruktura bezglutenskog testa (prilagođeno iz Schober, 2009);
b) Skening elektronska mikrofografija (SEM) sredine bezglutenskog hleba (prilagođeno iz Demirkesen i sar., 2013) (bele strelice predstavljaju rezidue skrobnih granula, crne strelice predstavljaju deformisane skrobne granule)

Usled nedostatka glutena skrob postaje primarni strukturni element u fazi pečenja nakon dostizanja temperature njegove želatinizacije (Slika 6b). Kako bi se obezbedio optimalni kvalitet bezglutenskog hleba potrebno je uspostaviti balans između elastičnih svojstava (formiranje mreže i zadržavanje gasa) i viskoznih osobina bezglutenskog testa (Renzetti, Rosell, 2016).

2.3 FUNDAMENTALNA REOLOŠKA MERENJA PRIMENLJIVA U BEZGLUTENSKIM SISTEMIMA

Reologija, utemeljena kao nauka koja proučava deformacije i svojstva proticanja materije, proučava način na koji materijali reaguju na primenjeni stres ili napon (Steffe, 1996). Reologija se smatra veoma značajnom naukom u proučavanju svojstava hlebnog testa koje predstavlja viskoelastični sistem, sa

kompleksnim reološkim ponašanjem usled njegove složene strukture. Reološke osobine testa značajno se menjaju tokom svake od operacija u tehnološkom postupku proizvodnje hleba, pri čemu je za svaku operaciju vreme izlaganja deformaciji i intenzitet deformacije različit (Dobraszczyk, 1997; Walker, Hazelton, 1996). Testo je izloženo ekstremnim deformacijama već u inicijalnoj fazi mešenja (brzina smicanja 70 s^{-1}), dok se dodatne deformacije javljaju prilikom oblikovanja testa (smicanje i istezanje, brzina smicanja 30 s^{-1}), istanjivanja (istezanje, brzina smicanja 10 s^{-1}), fermentacije (biaksijalno istezanje, brzina smicanja 10^{-3} – 10^{-4} s^{-1}) i pečenja (biaksijalno istezanje, brzina smicanja 10^{-2} – 10^{-3} s^{-1}). Reološki testovi koji se primenjuju na hlebnom testu osmišljeni su tako da omoguće predviđanje kvaliteta finalnog proizvoda vernom simulacijom operacija u tehnološkom postupku proizvodnje. Testo kao viskoelastičan sistem pri proticanju pokazuje pseudoplastično i tiksotropno ponašanje (Walker, Hazelton, 1996). Takođe, reološko ponašanje testa je nelinearno odnosno reološki parametri testa zavisni su od primenjene deformacije i brzine smicanja (Blokma, 1990), pa se shodno tome najprecizniji podaci o promenama reoloških osobina testa tokom procesa proizvodnje mogu dobiti primenom deformacije i brzine smicanja koje odgovaraju realnim uslovima (Lazaridou, Biliaderis, 2009). Tehnike za određivanje reoloških osobina testa podeljene su na (Vergnes i sar., 2003; Weipert, 1992): empirijske odnosno deskriptivne tehnike i fundamentalne odnosno osnovne tehnike. Pomenute tehnike zasnivaju se na sličnim principima u čijoj je osnovi praćenje odgovora testa na primenjenu silu u različitim fazama tehnološkog postupka.

Empirijskim tehikama smatraju se farinografska, miksografska, ekstenzografska, alveografska, maturografska, reofermentometarska, volumografska i amilografska određivanja kojima se prati reološko ponašanje testa tokom zamesa, oblikovanja, fermentacije i pečenja. Pomenuti empirijski testovi su standardni za pšenično testo a dobijeni rezultati uglavnom dobro opisuju reološke osobine ovakvog testa. Razvoj alternativnih empirijskih testova za ispitivanje reoloških osobina bezglutenskog testa je još uvek u povoju. Glavnim nedostacima empirijskih testova smatraju se: izražavanje rezultata u relativnim jedinicama koje nisu u SI sistemu i stoga nemogućnost definisanja osnovnih reoloških parametara kao što su napon, stepen deformacije i viskozitet; primena neadekvatnih i velikih sila deformacija i nemogućnost definisanja njihovog intenziteta; velike količine uzorka (Dobraszczyk, Morgenstern, 2003; Weipert, 1990), kao i potreba za detaljnim opisom eksperimentalnog postupka kako bi se omogućila ponovljivost (Ronda i sar., 2017).

Primenom fundamentalnih reoloških tehnika moguće je definisati i izraziti intenzitet primenjene sile kao i osnovne reološke parametre (napon, deformacija, viskozitet) u apsolutnim fizičkim jedinicama što omogućava opis reološkog ponašanja matematičkim jednačinama koje odgovaraju mehaničkim modelima kao i poređenje rezultata dobijenih na različitim reometrima, a da se pri tome analize sprovede na malim količinama uzorka (Ronda i sar., 2017; Weipert, 2006).

U proučavanju reoloških osobina bezglutenskih sistema empirijske reološke tehnike su retko primenjivane dok se od fundamentalnih tehnika najčešće upotrebljavaju testovi kojima se određuju svojstva proticanja (krive proticanja, eng. "flow properties"), dinamička oscilatorna merenja (eng. "dynamic oscillation test"), i svojstva puzanja (kriva puzanja i oporavka, eng. "creep and recovery test") pa će u daljem tekstu biti detaljnije razmotreni. Reološke osobine bezglutenskog testa primenom fundamentalnih testova određuju se na reometru uz upotrebu pribora paralelnih ploča (koje mogu biti ravne ili nazubljene) prečnika od 25 do 60 mm u zavisnosti od konzistencije bezglutenskog testa i maksimalnog primenjenog napona, drugim rečima, ploče manjeg prečnika treba koristiti za testa veće konzistencije. Zazor između ploča se nakon postavljanja uzorka testa najčešće podešava na 1 do 3 mm pri čemu se višak uzorka uklanja a ivice ploča premažu uljem kako bi se sprečilo isušivanje uzorka. Radi uklanjanja zaostalog naprežanja testo se nakon zamesa relaksira 10 do 20 min, a zatim postavlja na ploču reometra gde odmara još 10 do 15 min pre početka merenja (Ronda i sar., 2017).

2.3.1 SVOJSTVA PROTICANJA

Reološki parametar koji opisuje ponašanje testa tokom proticanja je viskozitet i definiše se kao mera unutrašnjeg otpora sistema koji se javlja prilikom njegovog proticanja odnosno izlaganja sili smicanja (Nikolić, 2015). Bezglutensko testo uglavnom je sličnije biskvitnom nego pšeničnom testu što ga čini pogodnim za određivanje svojstva proticanja, pri čemu se dobijaju zanimljive informacije o njegovim osobinama prilikom proticanja. Generalno, svojstva proticanja bezglutenskih sistema određuju se pod stacionarnim uslovima (eng. "steady-shear conditions") sa brzinom smicanja najčešće u rasponu od 1 do 20–50 s⁻¹ (Juszczak i sar., 2012). Međutim, maksimalna brzina smicanja, koja zavisi od konzistencije testa, povećava se i do 200 s⁻¹ (Sabanis i sar., 2009). Osnovni cilj određivanja

svojstva proticanja je dobijanje opšte jednačine koja povezuje napon i brzinu smicanja (ili brzinu deformacije) i time određuje reološko ponašanje fluida/testa. Kako bi se došlo do pomenute jednačine, na sistem se deluje konstantnim naponom ili brzinom smicanja tokom vremena i meri se rezultujući napon ili brzina smicanja sistema. Model koji se obično uspešno koristi za fitovanje rezultata dobijenih kriva proticanja bezglutenskih testa je *Ostwald de Waele* ili *Stepeni zakon* predstavljen jednačinom (1):

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

gde je:

τ - napon smicanja (Pa)

$\dot{\gamma}$ - brzina smicanja (s^{-1})

n - indeks proticanja (bezdimenzioni)

K - koeficijent konzistencije ($Pa \cdot s^n$)

Vrednosti indeksa proticanja n dobijene za bezglutenska testa različitog sastava potvrđuju pseudoplastično ponašanje ovih sistema s obzirom na to da su <1 . Međutim, treba uzeti u obzir da je indeks proticanja u velikoj meri zavisn od sastava bezglutenskog sistema kao i hidratacije, odnosno količine dodate vode (Ronda i sar., 2017).

2.3.2 DINAMIČKA OSCILATORNA MERENJA

Dok je određivanjem svojstva proticanja omogućeno dobijanje informacija o reološkim osobinama testa posmatranog kao fluid, oscilatorni testovi i testovi puzanja i oporavka daju informacije i o viskoznim i o elastičnim komponentama testa i shodno tome njegovom viskoelastičnom ponašanju. Oscilatorna merenja takođe omogućavaju i karakterizaciju bezglutenskih testa različitog sastava bez oštećenja njihove strukture (Ronda i sar., 2017).

Princip dinamičkih oscilatornih merenja zasnovan je na primeni sinusoidalnog oscilatornog napona ili deformacije, kojima je ispitivani viskoelastični sistem podvrgnut tokom određenog vremena, i beleženju odgovora

sistema na primenjenu deformaciju u vidu sinusoidalnog napona (Dapčević Hadnađev, 2013).

Viskoelastično ponašanje nekog sistema definiše se (Nikolić, 2015):

- modulom elastičnosti (G') koji opisuje elastičnu komponentu sistema i meru energije deformacije koja je zadržana u sistemu tokom primene smicanja
- modulom viskoznosti (G'') koji opisuje viskoznu komponentu sistema i meru energije koju je sistem potrošio tokom smicanja.

Viskoelastično ponašanje sistema moguće je opisati i tangensom faznog ugla ($\tan \delta$) koji predstavlja odnos modula viskoznosti (G'') i modula elastičnosti (G') (jednačina 2) i ukazuje na doprinos viskozne i elastične komponente sistema njegovim viskoelastičnim osobinama, odnosno pokazuje promene sistema prilikom njegovog prelaska iz tečnog (viskoznog) u čvrsto (gel) stanje (Mezger, 2002).

$$\tan \delta = G'' / G' \quad (2)$$

gde je:

$\tan \delta$ - tangens faznog ugla

G' - moduo elastičnosti (Pa)

G'' - moduo viskoznosti (Pa)

Kod idealno elastičnih sistema fazni ugao jednak je nuli ($\delta=0$), elastični moduo (G') potpuno dominira nad viskoznim pa je $\tan \delta=0$. Kod idealno viskoznih sistema fazni ugao je 90° ($\delta=90$), viskozni moduo (G'') potpuno dominira nad elastičnim pa je $\tan \delta=1$. Kod viskoelastičnih sistema promena faznog ugla je u intervalu $0^\circ < \delta < 90^\circ$ u zavisnosti od dominantnog modula (G''/G') (Steffe, 1996).

Oscilatorna merenja se sprovode u linearnom viskoelastičnom regionu (LVR) pri malim deformacijama. Određivanjem LVR zapravo se određuje maksimalni napon kojim se može delovati na sistem bez narušavanja njegove strukture (Lazaridou i sar., 2007). LVR se najčešće određuje primenom "strain sweep" ili "stress sweep" metoda koje se sprovode pri konstantnoj frekvenciji od 1 Hz povećanjem amplitude deformacije odnosno amplitude napona. Tačka pri

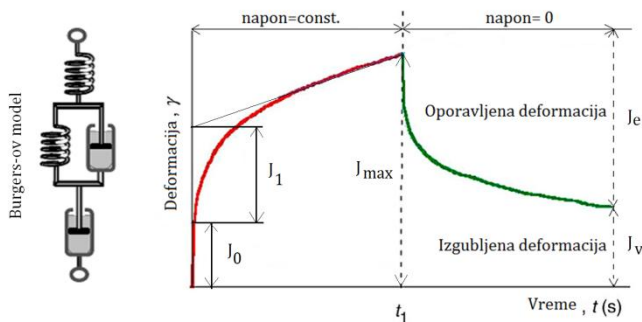
kojoj se elastični modul (G') opada za više od 10% od svoje konstantne vrednosti ukazuje na odstupanje od LVR.

Oscilatorna merenja najčešće primenjivana na bezglutenske sisteme su takozvani "frequency sweep" testovi, koji ukazuju na promene u osobinama elastične i viskozne komponente bezglutenskog testa sa povećanjem frekvencije, pri konstantnom naponu ili konstantnoj deformaciji. Generalno, "frequency sweep" test izveden u LVR pokazuje da je kod većine bezglutenskih testa i pšeničnog testa moduo elastičnosti (G') veći od modula viskoznosti (G'') u čitavom opsegu frekvencija, kao i da se njihove vrednosti blago povećavaju sa porastom frekvencije ukazujući na viskoelastično ponašanje testa odnosno vrednosti $\tan \delta < 1$ (Dobraszczyk, Morgenstern, 2003; Lazaridou, Biliaderis, 2009; Weipert, 1990). Takođe, moguće je uočiti i više različitih regiona koji opisuju ponašanje sistema u opsegu primenjenih frekvencija a to su: viskozni ili terminalni region u kome je viskozni moduo (G'') veći od elastičnog (G') i dominira viskozno ponašanje; tranzicioni region u kome dolazi do izjednačavanja vrednosti elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula i njihovog ukrštanja na takozvanoj crossover frekvenciji; dalji porast vrednosti modula elastičnosti (G') nakon tačke ukrštanja (crossover-a) ukazuje na poboljšanje elastičnih osobina sistema sve do plato regiona u kome dominira elastično ponašanje (Barnes, 2000).

Osnovnim nedostatkom dinamičkih oscilatornih merenja smatra se primena malih deformacija koje ne odgovaraju realnim deformacijama kojima je testo izloženo tokom zamesa i fermentacije. Ipak, primena malih deformacija prilikom ovih merenja ne narušava strukturu testa i omogućava proučavanje uticaja vode i dodataka, kao što su hidrokoloide, na osobine testa. Ovo je posebno značajno za bezglutenska testa (Lazaridou, Biliaderis, 2009; Weipert, 1990) uzimajući u obzir da su dinamički parametri umreženih hidratisanih struktura veoma osetljivi na promene tipa i koncentracije dodatka kao i količinu vode (Ferry, 1980). Shodno tome, veliki broj studija ukazuje na smanjenje modula elastičnosti (G') sa povećanjem količine vode i u pšeničnom (Edwards i sar., 1996; 1999; Lazaridou, Biliaderis, 2009) i u bezglutenskom testu (Ronda i sar., 2013).

2.3.3 SVOJSTVA PUZANJA

Viskoelastične osobine bezglutenskog testa se pored primene oscilatornog napona mogu definisati i primenom konstantnog napona tokom određenog vremena to jest ispitivanjem viskoelastičnih svojstava testom puzanja i oporavka (eng. “creep and recovery test”). Fenomen puzanja i oporavka povezuje se sa promenom orijentacije molekulskih veza u testu kao viskoelastičnom sistemu (Onyango i sar., 2010). Testovi puzanja i oporavka našli su široku primenu u ispitivanju viskoelastičnih osobina bezglutenskih testa kako u okviru linearnog viskoelastičnog regiona (LVR) tako i izvan njega s obzirom na tvrdnje pojedinih autora da je stres kojim se na testu deluje izvan LVR približniji onom u realnim uslovima (Lazaridou i sar., 2007; Van Bockstaele i sar., 2011). Test puzanja i oporavka zasniva se na primeni konstantnog napona uz praćenje porasta deformacija u sistemu u funkciji vremena (faza puzanja), i praćenju oporavka sistema, odnosno smanjenja deformacije, nakon prestanka dejstva napona (faza oporavka) što se registruje kao kriva puzanja i oporavka (eng. “creep and recovery curve”, Slika 7).



Slika 7. Šematski prikaz *Burgers*-ovog modela i krive puzanja i oporavka

Bezglutensko testo se, kao viskoelastičan sistem, pod dejstvom konstantnog napona deformiše, a nastale deformacije mogu biti u većem ili manjem stepenu povratne u zavisnosti od osobina testa. Elastične ili viskozne deformacije koje nastaju pri konstantnom naponu mogu se okarakterisati kao popustljivost bezglutenskog testa, koja se označava se sa $J(t)$, i najčešće se matematički opisuju upotrebom *Burgers*-ovog modela. *Burgers*-ov model se sastoji od četiri elementa,

dve opruge i dva klipja povezana tako da model čine *Maxwell*-ova (opruga i klip povezani redno) i *Kelvin-Voigt*-ova (opruga i klip povezani paralelno) komponenta (Slika 7). Matematički prikaz *Burgers*-ovog modela predstavljen je jednačinama (3) za fazu puzanja i (4) za fazu oporavka (Ronda i sar., 2017):

$$J(t) = J_0 + J_1[1 - \exp(-t/\lambda)] + t/\eta_0 \quad (3)$$

$$J(t) = J_{max} - J_0 - J_1[1 - \exp(-t/\lambda)] \quad (4)$$

gde je:

J_0 - početna popustljivost sistema (Pa^{-1})

J_1 - viskoelastična naknadna popustljivost (Pa^{-1})

J_{max} - maksimalna popustljivost (Pa^{-1})

λ - srednja vrednost vremena usporavanja u okviru

Kelvin-Voigt-ove komponente

η_0 - Njutnovski viskozitet (Pa s)

Sposobnost oporavka sistema opisuje se i udelima elastičnih (J_e) i viskoznih (J_v) deformacija u maksimalnoj popustljivosti sistema. Razlikuju se relativni elastični udeo J_e/J_{max} (%) (deo strukture koji se oporavio nakon prestanka delovanja napona) i relativni viskozni udeo J_v/J_{max} (%) (deo strukture koji se nije oporavio nakon prestanka delovanja napona, izgubljeni iznos deformacije) (Lazaridou, Biliaderis, 2009).

2.4 KVALITET BEZGLUTENSKOG HLEBA I NUTRITIVNI ASPEKTI BEZGLUTENSKE ISHRANE

Pri proizvodnji bezglutenskih proizvoda mora se odgovoriti izazovima u smislu mehaničkog rukovanja testom i senzorskih osobina finalnog proizvoda. S obzirom da bezglutensko testo ima strukturu koja se lako narušava, rukovanje testom je tehnološki zahtevnije, dok je kvalitet finalnog proizvoda često nezadovoljavajući. Upotrebom različitih brašna i skrobova kao i mnogih drugih

sastojaka (proteina, enzima, hidrokoloida) delimično se nadoknađuje odsustvo glutena i poboljšava struktura bezglutenskih proizvoda (Matos, Rosell, 2015). Kao posledica upotrebe raznovrsnih sirovina u proizvodnji bezglutenskih proizvoda različite bezglutenske formulacije imaju različiti nutritivni sastav a samim tim i nutritivni kvalitet u poređenju sa proizvodima koji sadrže gluten (Matos Segura, Rosell, 2011).

Bezglutenska ishrana karakteriše se nedovoljno izbalansiranim unosom različitih nutrijenata sa veoma malim doprinosom u preporučenom dnevnom unosu proteina, i velikim doprinosom u dnevnom unosu ugljenih hidrata i masti (Matos Segura, Rosell, 2011). Navedene činjenice ukazuju na važnost razvoja novih nutritivno uravnoteženih i obogaćenih bezglutenskih proizvoda. Razvoj novih bezglutenskih proizvoda predstavlja predmet velikog broja istraživanja motivisanih globalnim trendovima kao što su: povećan broj pacijenata sa celijakijom, kao posledica povećane osetljivosti metoda detekcije glutena; trendovi tržišta, uzimajući u obzir da se tržište bezglutenskih proizvoda smatra tržištem u ekspanziji; povezanosti bezglutenskog načina ishrane i zdravog načina života. Nezavisno od razloga, razvoj novih bezglutenskih proizvoda zahteva odgovarajuću naučnu osnovu, i upravo su zbog toga bezglutenski proizvodi vrlo aktuelna oblast istraživanja (Rosell i sar., 2014).

2.4.1 TEHNOLOŠKI, SENZORSKI I NUTRITIVNI KVALITET BEZGLUTENSKOG HLEBA

Odsustvo glutena u bezglutenskim proizvodima karakteriše se nizom nedostataka u smislu tehnoloških i nutritivnih karakteristika proizvoda, ali i prihvatljivosti od strane potrošača. Tehnološke karakteristike bezglutenskog hleba kao što su zapremina, boja kore, tekstura i boja sredine, starenje umnogome se razlikuju od pšeničnog hleba. Usled male sposobnosti zadržavanja gasova tokom fermentacije bezglutenski hleb ima manju zapreminu, dok su zbog neuspostavljenih interakcija molekuli vode nedovoljno čvrsto vezani u sredini hleba pa mnogo brže difunduju u koru što rezultuje većom tvrdoćom sredine (Houben i sar., 2012). Bezglutenski hleb se takođe karakteriše i nedovoljno izraženom bojom kore i sredine. Uzimajući u obzir da je škrob jedna od osnovnih sirovina za proizvodnju bezglutenskog hleba njegova potpuna želatinizacija, omogućena prisustvom velikih količina vode, i retrogradacija odgovorne su za

brzo starenje i mrvljivu sredinu bezglutenskog hleba (Foschia i sar., 2016). Suv osećaj u ustima i nezadovoljavajući ukus prilikom konzumiranja takođe predstavljaju nedostatke bezglutenskog hleba u poređenju sa pšeničnim (Matos, Rosell, 2015).

Tabela 6. Poređenje nutritivnog sastava bezglutenskih proizvoda i proizvoda sa glutenom

Sadržaj	Brašno		Testenina		Hleb		Literatura
	SG	BG	SG	BG	SG	BG	
Energija (kJ)	1428	1493	1357	1298	1222	1385	Miranda i sar., 2014 Cornicelli i sar., 2018
	1422	1441	1483	1488	1144	1054	
Proteini (g)	9,77	1,43	11,40	9,00	10,00	3,47	Miranda i sar., 2014 Cornicelli i sar., 2018
	11,00	3,19	12,50	6,78	9,37	4,29	
Ukupni ugljeni hidrati (g)	71,30	82,70	64,90	65,10	55,80	61,20	Miranda i sar., 2014 Cornicelli i sar., 2018
	77,30	77,84	71,20	76,91	46,89	43,27	
Prosti šećeri (g)	4,87	3,00	2,89	0,93	4,77	4,86	Miranda i sar., 2014 Cornicelli i sar., 2018
	1,70	3,26	3,33	1,04	5,94	3,42	
Masti (g)	1,61	1,43	2,16	4,47	3,86	7,42	Miranda i sar., 2014 Cornicelli i sar., 2018
	0,70	1,08	1,59	1,65	4,77	5,66	
Zasićene masti (g)	0,08	0,28	0,35	1,71	0,85	3,03	Miranda i sar., 2014 Cornicelli i sar., 2018
	0	0,27	0,33	0,43	1,09	1,19	
Prehrambena vlakna (g)	5,23	2,86	4,38	1,93	/	/	Miranda i sar., 2014 Cornicelli i sar., 2018
	2,20	5,89	3,51	3,06	4,65	5,87	
Co (g)	0	1,31	0,141	0,707	/	/	Miranda i sar., 2014 Cornicelli i sar., 2018
	0,007	1,45	0,01	0,07	1,19	1,27	
	5						

Sadržaj je izražen kao srednja vrednost; SG - sa glutenom; BG - bez glutena

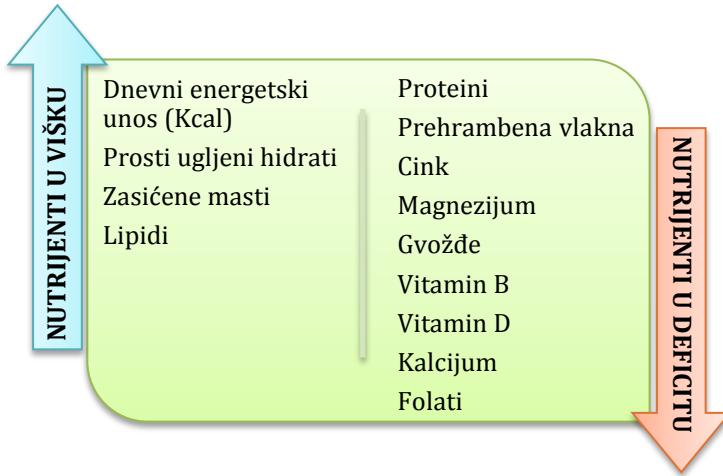
Iako bi podaci o sastavu komercijalnih bezglutenskih proizvoda bili korisni za procenu adekvatnosti unosa hranljivih materija kod pacijenata obolelih od celijakije mali broj studija se bavio ovom problematikom (Tabela 6).

U dosadašnjim studijama sprovedenim u Španiji (Miranda i sar., 2014), Ujedinjenom Kraljevstvu (Allen, Orfila, 2018; Fry i sar., 2018), Italiji (Cornicelli i sar., 2018) i Brazilu (Santos i sar., 2019) poređen je nutritivni sastav najčešće konzumiranih bezglutenskih proizvoda i ekvivalentnih namirnica sa glutenom (Tabela 6). Rezultati su potvrdili činjenicu da se ni osnovne sirovine, a ni dobijeni bezglutenski proizvodi ne obogaćuju nutrijentima što za posledicu ima smanjeni sadržaj prehrambenih vlakana, vitamina i minerala u ovim proizvodima (Bascunan i sar., 2017), dok je sadržaj soli povećan (Pellegrini, Agostoni, 2015).

2.4.2 MAKRO I MIKRONUTRIJENTI DEFICITARNI U BEZGLUTENSKOJ ISHRANI

Studije vezane za bezglutenske proizvode, posebno hleb, su pored senzorske percepcije bile fokusirane na poboljšanje tehnoloških parametara kvaliteta hleba (zapremine, izgleda sredine) dok je malo pažnje posvećeno njegovom nutritivnom kvalitetu. Danas vlada velika zabrinutost vezana za nutritivnu adekvatnost bezglutenskog načina ishrane jer se ona često karakteriše prekomernim konzumiranjem masti i redukovanim unosom kompleksnih ugljenih hidrata, prehrambenih vlakana, vitamina i minerala (Matos, Rosell, 2015) (Slika 8).

Uzimajući u obzir nedostatak glutena kao primarnog proteina za obrazovanje strukture testa, bezglutenski proizvodi odlikuju se i smanjenim sadržajem drugih proteina što rezultira smanjenim unosom proteina kod obolelih (Miranda i sar., 2014). Radi kompenzovanja tehnoloških nedostataka bezglutenskih proizvoda, sadržaj ugljenih hidrata i masti (uglavnom zasićenih masti) je u ovakvim proizvodima veći u odnosu na proizvode sa glutenom. Povećanje sadržaja ugljenih hidrata i masti za posledicu ima povećanje energetske vrednosti bezglutenskih proizvoda, kao i povećan rizik za razvoj gojaznosti kod pacijenata sa celijakijom (Gobbetti i sar., 2017).



Slika 8. Pregled deficitarnih i nutrijenata u višku u bezglutenskoj ishrani (Vici i sar., 2016)

Prve polemike o niskom sadržaju mikronutrijenata u bezglutenskim proizvodima pojavile su se posle istraživanja Thomson-a (2000) i Thomson i sar. (2005). Istraživanja su pokazala da bezglutenska žita i njihovi proizvodi imaju manji sadržaj gvožđa, prehrambenih vlakana, tijamina, riboflavina i nijacina. Ovo može biti objašnjeno činjenicom da je u nekim zemljama (Sjedinjene Američke Države, Ujedinjeno Kraljevstvo) obogaćenje pšeničnog brašna nekim mineralima i vitaminom B zakonska obaveza dok se bezglutenska brašna ne obogaćuju (Pellegrini, Agostoni, 2015). Utvrđeno je da 1 od 10 pacijenata sa celijakijom, nezavisno od pola, ima neadekvatan unos minerala posebno magnezijuma i kalcijuma, dok je cink deficitaran kod muškaraca a gvožđe kod žena (Shepherd, Gibson, 2013). Jedan od najčešćih ekstraintestinalnih simptoma koji se javlja kod pacijenata sa celijakijom je anemija usled nedostatka gvožđa koja je prisutna kod 28 do 50% pacijenata i uglavnom se povezuje sa malapsorpcijom (Theethira i sar., 2014).

Pri dijagnozi celijakije deficit prehrambenih vlakana vezuje se za malapsorpciju usled atrofije crevnih resica, dok se tokom bezglutenskog režima ishrane deficit vlakana obično povezuje sa lošim kvalitetom bezglutenskih proizvoda i izbegavanjem hrane koja je prirodno bogata vlaknima a ne sadrži gluten (Vici i sar., 2016). Sirovinski sastav bezglutenskih proizvoda odgovoran je

za smanjeni unos prehrambenih vlakana, jer su glavni konstituenti ovih proizvoda različiti skrobovi i rafinisana brašna sa malim sadržajem vlakana (Gobbetti i sar., 2017).

Treba napomenuti i da nedovoljna raznovrsnost u konzumiranju bezglutenskih proizvoda pacijente sa celjakijom čini izloženijim određenim mikotoksinima u poređenju sa zdravom populacijom. Poznato je da je kukuruz često kontaminiran mikotoksinima, uglavnom fumonizinom, usled gljivičnih infekcija na njivama i tokom skladištenja. Sa druge strane arsen je, u neorganskoj formi, često prisutan u pirinču čije brašno predstavlja jednu od najčešće korišćenih sirovina u bezglutenskim proizvodima (Gobbetti i sar., 2017).

Na osnovu rezultata svih dosadašnjih istraživanja jasno je da striktno poštovanje bezglutenskog režima ishrane, koji je za sada jedini vid terapije za obolele od celijakije, neminovno sa sobom donosi i druge zdravstvene probleme. Zbog toga je, pri razvoju novih bezglutenskih proizvoda, potrebno sagledati potrebe potrošača uzimajući u obzir instrumentalne, kvalitetne, senzorske i nutritivne osobine proizvoda, što predstavlja još jedan izazov za prehrambenu industriju.

2.5 PREHRAMBENA VLAKNA KAO POBOLJŠIVAČI TEHNOLOŠKOG I NUTRITIVNOG KVALITETA BEZGLUTENSKOG HLEBA

Prehrambena vlakna predstavljaju veliku i heterogenu grupu jedinjenja u koju se svrstavaju polisaharidi, oligosaharidi i prateće biljne komponente (Sabanis i sar., 2009). Univerzalno prihvaćena definicija prehrambenih vlakana nije postojala sve do 2008. kada je Codex Commission on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses (CCNFSDU) prehrambena vlakna definisao kao „polimere ugljenih hidrata sa deset i više monomernih jedinica koji se ne hidrolizuju od strane endogenih enzima u humanom tankom crevu“ (Cummings i sar., 2009; Kendall i sar., 2010). Prema podeli usvojenoj od strane Codex-a iste godine, prehrambena vlakna razvrstana su u tri kategorije (Cummings i sar., 2009):

- **jestive ugljene hidrate** koji su prirodna komponenta konzume hrane;
- **ugljene hidrate** koji su dobijeni fizičkim, enzimskim postupkom ili upotrebom hemijskih sredstava iz određenih sirovina, i za koje je naučno dokazano da imaju pozitivan fiziološki uticaj na zdravlje;
- **sintetičke ugljene hidrate** kod kojih je takođe utvrđen izvestan pozitivan fiziološki uticaj na zdravlje.

Na osnovu kriterijuma kao što su rastvorljivost u vodi, viskoznost, mikrobiološka fermentacija u debelom crevu i sposobnost da stimulišu rast određenih bakterija u literaturi je prisutna i klasifikacija prehrambenih vlakana na (Anderson i sar., 2009; Papathanasopoulos, Camilleri, 2010; Roberfroid, 2008):

- **rastvorljiva prehrambena vlakna** u koja se ubrajaju hidrokoloidi kao što su pektin, β - glukan, gume
- **nerastvorljiva prehrambena vlakna** u koja se ubrajaju celuloza, hemiceluloza, lignin, rezistentni skrob, produkti Maillard-ovih reakcija
- **prebiotska prehrambena vlakna** u koja se ubrajaju inulin, fruktani tipa inulina, trans - galakto oligosaharidi, frukto - oligosaharidi

Nutritivna vrednost prehrambenih vlakana izučavana je u mnogim studijama. Adekvatan unos prehrambenih vlakana se danas vezuje za zdravstvene beneficije kao što su bolja kontrola nivoa glukoze i holesterola u krvi, prevencija kardiovaskularnih bolesti, regulacija intestinalne funkcije, poboljšanje stanja gastro intestinalnog trakta i prevencija raka debelog creva (Kendall i sar., 2010; Ktenioudaki, Gallagher, 2012). Stvarni unos prehrambenih vlakana je kod zdrave populacije u Evropskim zemljama prema Evropskom izveštaju o ishrani i zdravlju iz 2009. godine (European nutrition and health report) manji od preporučenih 30 g na dnevnom nivou. Istraživanja su pokazala da pacijenti sa celijakijom, primorani da se pridržavaju bezglutenskog režima ishrane, obično imaju unos prehrambenih vlakana ispod preporučenog nivoa u poređenju sa zdravom populacijom (Martínez i sar., 2014; Shepherd, Gibson, 2013).

2.5.1 PREHRAMBENA VLAKNA U PROIZVODNJI BEZGLUTENSKOG HLEBA

Predmet većine dosadašnjih studija bio je poboljšanje tehnoloških nedostataka bezglutenskog hleba, međutim, uzimajući u obzir sve veći broj pacijenata sa pratećim komplikacijama izazvanim nutritivno neadekvatnom bezglutenskom ishranom, istraživanja se u poslednjoj deceniji fokusiraju na pronalaženje sirovina i mogućnosti poboljšanja nutritivnog kvaliteta bezglutenskog hleba. Razvoj novih receptura bezglutenskog hleba, koji bi po nutritivnom kvalitetu mogao da parira pšeničnom hlebu, redukovao bi potrebu za velikim promenama u režimu ishrane i u isto vreme zadovoljio preporučene dnevne potrebe za prehrambenim vlaknima i ostalim nutrijentima (Naqash i sar., 2017). Veliki broj studija u domenu razvoja i optimizacije novih receptura bezglutenskog hleba sa povećanim sadržajem prehrambenih vlakana, bio je usmeren na primenu vlakana iz različitih izvora: vlakna žita, brašna pseudožita, brašna mahunarki, vlakna iz semena i plodova biljaka, vlakna iz sporednih proizvoda industrija prepade voća i povrća, izolovana vlakna visoke čistoće i prebiotska prehrambena vlakna (Capriles, Areas, 2014; Capriles i sar., 2016; Tsatsaragkou i sar., 2016) (Tabela 7).

Tabela 7. Prehrambena vlakna korišćena u proizvodnji bezglutenskog hleba

Osnovna sirovina	Prehrambena vlakna	Količina (g/100 g)	Literatura
<i>Vlakna iz žita</i>			
Pirinčano brašno i kukuruzni skrob	Pšenična, kukuruzna, ječmena vlakna	3; 6; 9	Sabanis i sar., 2009
Pirinčano brašno i pšenični skrob	Ovsena vlakna	3; 6; 9; 10	Sabanis i sar., 2009 Martínez i sar., 2014
	Pirinčane mekinje	10	Phimolsiripol i sar., 2012
<i>Vlakna iz brašna pseudožita</i>			
Pirinčano brašno	Amarant	50	Alvarez-Jubete i sar., 2009

Osnovna sirovina	<i>Vlakna iz brašna pseudožita</i>	Količina (g/100 g)	Literatura
Pirinčano i kukuruzno brašno	Kinoa	50	Alvarez-Jubete i sar., 2009
		40-100	Elgeti i sar., 2014
		12,5-50	Turkut i sar., 2016
Pirinčano brašno, krompirov skrob i heljdino brašno	Heljda	50	Alvarez-Jubete i sar., 2009
		40	Wronkowska i sar., 2013
			Mariotti i sar., 2013
<i>Vlakna iz brašna mahunarki</i>			
Kukuruzni skrob	Soja	60,2	Minarro i sar., 2012
Sojino brašno		100	Shin i sar., 2013
Kukuruzni skrob	Leblebija	94	Minarro i sar., 2012
Kukuruzni skrob	Rogač i klica rogača	47,2	Minarro i sar., 2012
Pirinčano brašno		5; 10; 15	Tsatsaragkou i sar., 2012, 2014a
Kukuruzni skrob	Grašak	24,4	Minarro i sar., 2012
Pirinčano brašno i kukuruzni skrob		10	Martínez i sar., 2014
<i>Vlakna iz semena i plodova biljaka</i>			
Pirinčano brašno	Čija brašno i seme	15	Steffolani i sar., 2014
Bezglutensko pšenično brašno i heljdino brašno		10	Costantini i sar., 2014

Osnovna sirovina	<i>Vlakna iz semena i plodova biljaka</i>	Količina (g/100 g)	Literatura
Kukuruzni i krompirov skrob	Žir	20; 40; 60	Korus i sar., 2015a
Pirinčano brašno i kukuruzni skrob		5; 15; 25	Skendi i sar., 2018
Pirinčano brašno	Kesten	10-50;100	Demirkesen i sar., 2010b, 2013, 2014b
<i>Vlakna iz voća i povrća</i>			
Pirinčano brašno i skrob tapioke	Jabuka	5-20	Rocha Parra i sar., 2015
Pirinčano brašno i krompirov skrob	Pomorandža	2; 4; 8	O'Shea i sar., 2015a
Kukuruzni i krompirov skrob	Seme jagode	5; 10; 15	Korus i sar., 2012
	Seme crne ribizle	5; 10; 15	Korus i sar., 2012
Pirinčano brašno i kukuruzni skrob	Vlakna šećerne repe	0,5; 1,5	Cappa i sar., 2013
/	Kivi	10,9	Sun-Waterhouse i sar., 2009
Pirinčano brašno i pšenični skrob	Nezrela banana	30	Sarawong i sar., 2014
Pirinčano brašno i kukuruzni skrob	Vlakna krompira	10	Martínez i sar., 2014
<i>Rastvorljiva vlakna</i>			
Pirinčano brašno i krompirov skrob	β – glukan	1; 2	Lazaridou i sar., 2007
		5,6	Hager i sar., 2011
		0,1-3,9	Ronda i sar., 2013, 2015
Pirinčani skrob		1; 2	Kittisuban i sar., 2014

Osnovna sirovina	Rastvorljiva vlakna	Količina (g/100 g)	Literatura
Pirinčano brašno	β – glukan	0,1-3,9	Pérez-Quirce i sar., 2014
		1,3; 2,6	Pérez-Quirce i sar., 2017
		3,9	Pérez-Quirce i sar., 2018
Kukuruzni skrob	Psilijum	0,5; 1; 2	Mariotti i sar., 2009
Pirinčano brašno i kukuruzni skrob		1,5; 2,5	Cappa i sar., 2013
Pirinčano brašno		2; 4	Mancebo i sar., 2015
Pirinčano brašno i skrob tapioke		2,86; 10; 17,14	Fratelli i sar., 2018
Kukuruzni i krompirov skrob	Lanena guma	6; 9; 12	Korus i sar., 2015b
Pirinčano brašno i kukuruzni skrob	Nutriose®	10	Martínez i sar., 2014
	Polidekstroza	10	Martínez i sar., 2014
<i>Prebiotska vlakna</i>			
Kukuruzni i krompirov skrob	Inulin	3; 5; 8	Korus i sar., 2006
Pirinčano brašno i krompirov skrob		9	Hager i sar., 2011
Kukuruzni i krompirov skrob		4; 8; 12	Juszczak i sar, 2012
		4; 8;12	Ziobro i sar., 2013b
Pirinčano brašno		10	Morreale i sar., 2019
Pirinčano brašno i krompirov skrob	Fruktani tipa inulina	8,6; 17,9; 22,7; 28	Capriles, Arêas, 2013

Osnovna sirovina	Prebiotska vlakna	Količina (g/100 g)	Literatura
Kukuruzni i krompirov skrob	Frukto - oligosaharidi	3; 5; 8	Korus i sar., 2006
Kukuruzni i krompirov skrob	Rezistentni skrob	10; 15; 20	Korus i sar., 2009
Pirinčano brašno		5; 10; 15	Tsatsaragkou i sar., 2014b

Istraživanja su pokazala da u komercijalno dostupnom bezglutenskom hlebu sadržaj prehrambenih vlakana značajno varira od 1,3% do 7,2% (Matos Segura, Rosell, 2011), dok su rezultati studija sprovedenih sa ciljem povećanja sadržaja prehrambenih vlakana u bezglutenskom hlebu pokazali da je sadržaj vlakana u ovim hlebovima u intervalu od 1,5 do 11% (Capriles, Areas, 2014). Konkretno, vrednosti sadržaja prehrambenih vlakana u obogaćenim bezglutenskim hlebovima objavljeni u studijama su: 1,5% β - glukana (Hager i sar., 2011), 1,5% inulina (Korus i sar., 2006), 6,3% ukupnih prehrambenih vlakana (Korus i sar., 2009), 8% fruktana tipa inulina i 11% ukupnih prehrambenih vlakana (Capriles, Areas, 2013).

2.5.2 UTICAJ PREHRAMBENIH VLAKANA NA REOLOŠKE OSOBINE TESTA I KVALITET BEZGLUTENSKOG HLEBA

Prehrambena vlakna, pored poznatih zdravstvenih beneficija, mogu imati i značajnu ulogu u razvoju strukture bezglutenskog hleba. Zahvaljujući fizičko - hemijskim osobinama vlakana kao što su kapacitet vezivanja i zadržavanja vode, sposobnost formiranja gela, tekstura i efekat ugušćivanja, inkorporacija prehrambenih vlakana može uticati i na poboljšanje tekture, senzorskih karakteristika i produženje svežine i održivosti bezglutenskog hleba (Phimolsiripol i sar., 2012) u adekvatno optimizovanim recepturama. Uzimajući u obzir veliki kapacitet vezivanja vode vlakana prilikom njihove aplikacije u bezglutenski hleb povećanje količine vode je neophodno radi postizanja adekvatnog viskoziteta bezglutenskog testa, želatinizacije skroba i denaturacije proteina tokom pečenja (Capriles, Areas, 2014). Dodatak vlakana pozitivno utiče i

na sposobnost zadržavanja gasova u bezglutenskom testu i na taj način omogućava dobijanje bezglutenskog hleba veće zapremine i smanjene tvrdoće sredine (Zandonadi i sar., 2009). Konzumiranjem bezglutenskog hleba obogaćenog prehrambenim vlaknima obezbeđuje se veći unos ukupnih prehrambenih vlakana kod potrošača obolelih od celijakije, a pored toga ovi hlebovi se karakterišu i privlačnom tamnijom bojom kore i finom sredinom ujednačenih veličina pora (Nitcheu Ngemakwe i sar., 2014; Sabanis i sar., 2009).

Rezultati dosadašnjih istraživanja pokazali su različite efekte dodatka rastvorljivih i nerastvorljivih prehrambenih vlakana na reološke osobine bezglutenskog testa i kvalitet bezglutenskog hleba. Inkorporacijom rastvorljivih prehrambenih vlakana smanjuje se konzistencija bezglutenskog testa a povećava njegova zapremina tokom fermentacije što rezultuje hlebom veće zapremine, tamnije boje i sredinom manje tvrdoće u poređenju sa bezglutenskim hlebom bez vlakana. Utvrđeno je i da nerastvorljiva prehrambena vlakna finije granulacije imaju pozitivan uticaj na zapreminu i smanjenje tvrdoće sredine bezglutenskog hleba, dok se pri upotrebi vlakana veće granulacije pozitivan uticaj na pomenute parametre ne zapaža (Martínez i sar., 2014; Naqash i sar., 2017). Uopšteno, vlakna mogu stupiti u sinergističku interakciju sa skrobom i pospešiti formiranje stabilnije strukture (Gobbetti i sar., 2017).

Prehrambena vlakna i proteini su primeri hemijski definisanih komponenti u ishrani sa potencijalom da oblikuju i pozitivno utiču na mikrobiom koji se neminovno menja nakon dijagnoze celijakije ili usled dužeg izlaganja bezglutenskom načinu ishrane (Gobbetti i sar., 2017). Rastvorljiva prehrambena vlakna i rezistentni skrob u obogaćenim bezglutenskim hlebovima mogu uticati na smanjenje glikemijskog indeksa bezglutenskog hleba što je poželjno kod pacijenata sa celijakijom i pratećim dijabetesom (Capriles i sar., 2016).

2.5.3 PREHRAMBENA VLAKNA ŠEĆERNE REPE

Ekstrahovani rezanci se dobijaju prilikom prerade šećerne repe kao vlaknasti ostatak korena nakon procesa ekstrakcije saharoze toplom vodom radi dobijanja konzumnog šećera (Broughton i sar., 1995). Frakcija ekstrahovanih rezanaca prolazi sporedni proces koji obuhvata njihovo prečišćavanje (pranje i mehaničko čišćenje), presovanje do sadržaja suve materije od oko 25% (Đorđević,

2013), sušenje do sadržaja suve materije 87-90% (Šušić i sar., 1994) čime se omogućava njihovo skladištenje na duži vremenski period. Ekstrahovani rezanci su po svojoj strukturi složen koloidno - kapilarni sistem u čiji sastav ulaze makromolekuli celuloze, hemiceluloze i pektina (Broughton i sar., 1995; Christensen, 1989). Hemijski sastav rezanaca uglavnom čine polisaharidi koji su sastavni deo ćelijskog zida: arabani i arabinoksilani od hemiceluloza (Sun, Hughes, 1999), visoko metilovani i acetilovani pektini (Oosterveld i sar., 2000) i mikrofibrile celuloze i lignin (Dinand i sar., 1996).

Suvu materiju vlakana šećerne repe čini relativno visok sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana, obično iznad 75%, karakteristično je oko 80%. Prema Dinand-u i sar. (1998) vlakna šećerne repe bogata su i rastvorljivim i nerastvorljivim prehrambenim vlaknima, približno po jednu trećinu čine celuloza, pektin i hemiceluloza. Udeo rastvorljivih prehrambenih vlakana u ukupnim prehrambenim vlaknima je između 10 i 25% (ili oko 8 do 23% na suhu materiju polazne sirovine), što predstavlja dovoljnu količinu za obezbeđivanje pozitivnih efekata vlakana na zdravlje uz istovremeno izbegavanje nepovoljnog uticaja na funkcionalne karakteristike sirovine (Cagley i sar., 1992). Zbog velikog udela ukupnih prehrambenih vlakana u ekstrahovanim rezancima, nastoji se da se posle sušenja, ovako pripremljeni rezanci, određenim tehnološkim postupcima i tretmanima modifikuju kako bi postali primenljivi kao dodaci u proizvodnji različitih prehrambenih proizvoda.

Prilikom proizvodnje prehrambenih vlakana šećerne repe, ekstrahovani rezanci prethodno moraju biti prerađeni jer mogu da sadrže velike količine peska i zemlje, a imaju i nepoželjan miris koji umanjuje njihovu vrednost kao funkcionalnog dodatka u prehrambenoj industriji. U tu svrhu koriste se brojni fizički tretmani (pranje, prosejavanje, ekstrakcija), i hemijski tretmani (dekoloracija, stabilizacija, aplikacija katjona). Primenom navedenih tretmana moguće je proizvesti prehrambena vlakna poboljšanih osobina kao što su boja i miris, a moguće je i izmeniti njihov sastav i tako ih prilagoditi nameni. Mlevenjem prehrambenih vlakana šećerne repe dobijaju se frakcije čestica različite veličine u zavisnosti od njihove dalje primene (Thibault, 2000). Proizvodi prehrambenih vlakana na bazi šećerne repe mogu se podeliti na četiri grupe (Thibault, 2000):

- osušena, usitnjena vlakna dobijena iz ekstrahovanih rezanaca,
- osušena, usitnjena vlakna dobijena iz slatkih rezanaca,

- hidratizirana, usitnjena prehrambena vlakna i
- prehrambena vlakna obogaćena mineralima.

Danas postoje brojni patentirani postupci proizvodnje prehrambenih vlakana iz ekstrahovanih ili slatkih rezanaca šećerne repe, a na tržištu postoji više registrovanih proizvoda u vidu koncentrata prehrambenih vlakana na bazi šećerne repe: DuoFiber® iz American Crystal Sugar Company (Lee, 1988), Fibrex® iz Fibrex S.A., Danisco Sugar AB (Tjebbes, 1988) i Atlantis® iz British Sugar (Williams i sar., 1994).

Vlakna poreklom iz šećerne repe imaju veliku sposobnost hidratacije i dobre hidratacione osobine (kapacitet vezivanja i zadržavanja vode, bubrenje) u poređenju sa vlaknima žita, i ne sadrže fitinsku kiselinu (Šoronja-Simović i sar., 2016). Takođe, vlakna šećerne repe imaju sposobnost izmene jona, jer se ponašaju kao slabe monofunkcionalne smole sa katjonskom izmenom. Sposobnost vezivanja jona javlja se usled prisustva nemetilesterifikovanih galakturonskih ostataka i jednaka je koncentraciji nemetilovanih galakturonskih kiselinskih ostataka u ligninu (Bertin i sar., 1988; Dronnet i sar., 1997).

2.5.4 PREHRAMBENA VLAKNA JABUKE

Glavni sporedni proizvod procesa proizvodnje soka iz jabuke je trop jabuke koji se dobija u količini od oko 25% na masu jabuka dok se iz ostalih 75% ekstrahuje sok. Uobičajeno se dobijeni trop jabuke koristi kao hrana za životinje, međutim zbog visokog sadržaja vlage koja omogućava naknadnu fermentaciju javljaju se problemi prilikom njegovog skladištenja i odlaganja (Sudha, 2011). Trop jabuke sadrži 94,5% kore, 4,4% semena i 1,1% centralnog dela voća, dok su hemijski konstituenti uglavnom ugljeni hidrati i prehrambena vlakna, male količine proteina, masti i pepela i veliki sadržaj ukupnih šećera od oko 40% na suhu materiju (Sehn i sar., 2016). Sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana na suhu materiju tropa jabuke je u intervalu od 30 do 89% u zavisnosti od sorte jabuke (Figuerola i sar., 2005; Ktenioudaki i sar., 2013; O'Shea i sar., 2015b). Celuloza je glavna komponenta vlakana jabuke sa udelom od 30%, dok su hemiceluloza, lignin i pektin prisutni u količinama od 15%, 12% i 9% na suhu materiju (Sudha, 2011). Visok sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana, povoljan odnos rastvorljivih i nerastvorljivih vlakana kao i prisustvo bioaktivnih komponenti (polifenola,

flavonoida i karotenoida) (Sudha, 2011) i minerala (kalijum, gvožđe) (O'Shea i sar., 2015b) čine trop jabuke dobrom sirovinom za obogaćenje pekarskih proizvoda.

Vlakna jabuke ispoljavaju dobre hidratacione osobine sa kapacitetom vezivanja vode u intervalu od 2,35 do 3,47 cm³/g, kapacitetom zadržavanja vode u intervalu od 6,34 do 12,35 g/g i bubrenjem u intervalu od 7,59 do 12,80 cm³/g. Vlakna jabuke se takođe karakterišu i dobrim kapacitetom zadržavanja ulja (0,84-1,33 g/g) u poređenju sa vlaknima žita (Ktenioudaki i sar., 2013; O'Shea i sar., 2015b). Navedene osobine vlakana jabuke variraju u zavisnosti od sorte jabuke.

3

CILJ RADA

Značaj prehrambenih vlakana i njihova fiziološka uloga u organizmu prepoznati su još sedamdesetih godina prošlog veka. Iako je pažnja naučne javnosti u dosadašnjim istraživanjima bila usmerena na inkorporaciju prehrambenih vlakana u različite prehrambene proizvode, deficit prehrambenih vlakana u ishrani i dalje je globalno prisutan. Pomenuta činjenica čini prehrambena vlakna nutritivnim i funkcionalnim sastojkom još uvek veoma aktuelnim u istraživanjima posebno u oblasti pekarstva s obzirom na to da pekarski proizvodi predstavljaju osnovu piramide ishrane.

Deficit prehrambenih vlakana se posebno beleži kod dela populacije na bezglutenskom režimu ishrane. Stoga su do sada sprovedena istraživanja iz oblasti primene vlakana u bezglutenskom hlebu bila fokusirana na upotrebu različitih količina jedne vrste vlakana, uglavnom vlakana visoke čistoće koja su komercijalno dostupna, bez ispitivanja kombinovanog uticaja vlakana i različitih količina drugih dodataka kao što su hidrokoloidei, proteini i enzimi. Međutim, u skladu sa osnovnim principima održivog razvoja, potrebno je razmotriti i mogućnost aplikacije vlakana iz sporednih proizvoda prehrambene industrije u kombinaciji sa hidrokolidima čiji je tehnološki značaj u proizvodnji bezglutenskog hleba već potvrđen.

Osnovni cilj istraživanja u okviru ove disertacije je da se primenom prehrambenih vlakana šećerne repe i jabuke u proizvodnji bezglutenskog hleba zajedno sa hidroksipropil metil celulozom obezbedi adekvatan unos nesvarljivih materija sa višestrukim pozitivnim zdravstvenim efektima, i pritom izvrši valorizacija vlakana kao sporednih proizvoda industrije šećera i industrije prerade voća.

Eksperimenti u okviru ove disertacije biće fokusirani na pronalaženje povoljnog sirovinskog sastava bezglutenskog hleba, kojim će biti omogućeno dobijanje novog funkcionalnog proizvoda poboljšanog nutritivnog i tehnološkog kvaliteta u skladu sa potrebama potrošača u zdravstvenom, ali i u senzorskom smislu.

Količine vlakana šećerne repe i jabuke koje će biti korišćene u proizvodnji bezglutenskog hleba su u opsegu od 3 do 5% u kombinaciji sa 2 do 4% hidroksipropil metil celuloze na smešu kukuruzno brašno - kukuruzni škrob. Definisane količine vode za dobijanje optimalne konzistencije bezglutenskog testa sa dodatim vlaknima biće omogućeno određivanjem

hidratacionih osobina i raspodele veličine čestica vlakana jabuke i proizvedenih modifikovanih vlakana šećerne repe. Primenom fundamentalnih reoloških metoda (kriva proticanja, dinamička oscilatorna merenja, kriva puzanja i oporavka) ispitaće se uticaj dodatih vlakana, hidroksipropil metil celuloze i vode na reološke osobine bezglutenskog testa i definisati njihova optimalna količina u bezglutenskom hlebu dobrih tehnoloških, nutritivnih i senzorskih karakteristika.

4

EKSPERIMENTALNI
DEO

4.1 MATERIJAL

4.1.1 SIROVINE

Za proizvodnju bezglutenskog hleba korišćene su sledeće sirovine:

- Kukuruzno brašno (Žitko Mlin d.o.o., Lovćenac, Srbija)
- Kukuruzni skrob (Milex d.o.o., Rumenka, Srbija)
- Hidroksipropil metil celuloza (HPMC Vivapur® K4M food-grade, J.Rettenmaier & Sönhe GMBH+CO, Rosenberg, Nemačka)
- Modifikovana vlakna šećerne repe
- Prehrambena vlakna jabuke (Organic apple fibre Vitacel® AF 400, J.Rettenmaier & Sönhe GMBH+CO, Rosenberg, Nemačka)
- Šećer (Fabrika šećera Crvenka a.d., Crvenka, Srbija)
- Kuhinjska so (Solana d.d., Tuzla, Bosna i Hercegovina)
- Suvi pekarski kvasac (Dr. Oetker d.o.o., Šimanovci, Srbija)
- Voda
- Suncokretovo ulje (Vital a.d , Vrbas, Srbija)

4.1.2 HEMIKALIJE I REAGENSI

Za izvođenje analiza korišćene su sledeće hemikalije i reagensi:

- Koncentrovana sumporna kiselina, cc H_2SO_4 (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- Katalizator za proteine, $CuSO_4 \cdot 5H_2O : K_2SO_4$
- 4% borna kiselina (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- Kombinovani indikator
- Petrol - etar (CARLO ERBA Reagents s.a.s., Val de Revil Codex, Francuska)

- Test kitovi za određivanje ukupnih, rastvorljivih i nerastvorljivih prehrambenih vlakana, sastavljeni od termostabilne α -amilaze, proteaze i amiloglukozidaze (Megazyme International Ireland Ltd., Wikclow, Irska)
- 0,05M MES/TRIS pufer
- 0,561N hlorovodonična kiselina, 0,561M HCl
- 95% etanol (REAHEM, Novi Sad, Srbija)
- 78% etanol (REAHEM, Novi Sad, Srbija)
- Aceton (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- 30% vodonik peroksid, 30% H₂O₂ (Zorka pharma-Hemija d.o.o., Šabac, Srbija)
- 10M natrijum hidroksid, 10M NaOH (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- Koncentrovana hlorovodonična kiselina, cc HCl (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)

4.2 METODE

4.2.1 ODREĐIVANJE HEMIJSKOG SASTAVA I FIZIČKIH OSOBINA SIROVINA I PROIZVEDENOG BEZGLUTENSKOG HLEBA

4.2.1.1 Određivanje hemijskog sastava sirovina i proizvedenog bezglutenskog hleba

Hemijski sastav kukuruznog brašna, prehrambenih vlakana šećerne repe i jabuke, i proizvedenog bezglutenskog hleba definisan je primenom sledećih metoda:

- Određivanje sadržaja vlage gravimetrijski po jednofaznom postupku za uzorke kukuruznog brašna i prehrambenih vlakana

(90 minuta na 105°C), i primena dvofaznog postupka za uzorke proizvedenog bezglutenskog hleba (I faza 12-16h na 45-50°C; II faza 90 minuta na 105°C) (Kaluderski, Filipović, 1998).

- Određivanje sadržaja pepela žarenjem uzoraka 5 h na 550°C.
- Određivanje sadržaja sirovih proteina po *Kjeldahl*-u (Kaluderski, Filipović, 1998) uz upotrebu faktora 6,25 za preračunavanje sadržaja azota u sadržaj proteina.
- Određivanje sadržaja masti po *Soxhlet*-u (Kaluderski, Filipović, 1998).
- Određivanje sadržaja ukupnih, rastvorljivih i nerastvorljivih prehrambenih vlakana (AOAC, 1991; AACC, 1995, 2000).

4.2.1.2 Instrumentalno određivanje boje sirovina i proizvedenog bezglutenskog hleba

Parametri boje sirovina, kukuruznog brašna, prehrambenih vlakana šećerne repe i jabuke, i proizvedenog bezglutenskog hleba izmereni su korišćenjem kolorimetra Minolta Chroma Meter CR-400 sa otvorom 8 mm na mernoj glavi (Konica Minolta Inc., Osaka, Japan). Korišćenjem nastavka za praškaste materijale CR-A50 izmereni su parametri boje kukuruznog brašna i prehrambenih vlakana šećerne repe i jabuke, dok su upotrebom standardnog nastavka CR-A33b izmereni parametri boje sredine i kore bezglutenskog hleba. Merenja su izvršena u D-65 osvetljenju sa standardnim uglom zaklona od 2° i to: u tri ponavljanja za sirovine, na pet kriški istog bezglutenskog hleba za boju sredine i pet tačaka na kori bezglutenskog hleba za boju kore. Pre svake serije merenja kolorimetar je kalibrisan korišćenjem bele kalibracione ploče CR-A43, standardnom procedurom prema proizvođačkim instrukcijama.

Boja kukuruznog brašna, prehrambenih vlakana šećerne repe i jabuke, i proizvedenog bezglutenskog hleba izražena je u CIE $L^*a^*b^*$ sistemu (CIE, 1976) preko koordinata: L^* - označava svetloću boje, a^* - označava udeo crvene (+) ili zelene (-) boje, b^* - označava udeo žute (+) ili plave (-) boje. Pored izmerenih vrednosti $L^*a^*b^*$ parametara neposredno očitanih sa kolorimetra, izračunat je indeks beline sredine (eng. "whiteness" index, WI; jednačina 5, Hsua i sar., 2003)

beglutenskog hleba i indeks tamnjenja (eng. "browning index", BI; jednačina 6, Palou i sar., 1999) kore bezglutenskog hleba prema jednačinama:

$$IB = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (5)$$

$$IT = \frac{100 \times (x - 0.31)}{0.172} \quad (6)$$

gde je

$$x = \frac{a^* + 1.75L^*}{5.645L^* + a^* - 3.012b^*}$$

Rezultati parametara boje prikazani su kao srednja vrednost tri merenja za uzorke kukuruznog brašna, prehrambenih vlakana šećerne repe i jabuke, i kao srednja vrednost pet merenja za uzorke bezglutenskog hleba.

4.2.1.3 Određivanje raspodele veličina čestica sirovina

Raspodela veličina čestica, kukuruznog brašna, skroba, prehrambenih vlakana šećerne repe i jabuke određena je korišćenjem uređaja Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, UK) sa jedinicom za dispergovanje praškastih uzoraka Scirocco 2000. Princip rada uređaja Mastersizer 2000 zasniva se na metodi difrakcije laserske svetlosti, odnosno na činjenici da je prostorni raspored difraktovane svetlosti funkcija veličine čestica uzorka koji se analizira. Uzorak čestica, dispergovanih u odgovarajućem medijumu (u ovom slučaju vazduh), prolazi kroz fokusirani snop svetlosti i rasejava svetlost pod karakterističnim prostornim uglovima. Opseg veličina čestica koje se mogu izmeriti instrumentom je od 0,02 do 2000 μm (Stojanović i sar., 2010).

Prečnik čestica označen sa $d(0.5)$ predstavlja srednji maseni prečnik zapreminske raspodele čestica, izražava se u mikrometrima i ukazuje da je prečnik 50% čestica u uzorku manji, odnosno veći od dobijene vrednosti. Prečnici čestica označeni sa $d(0.1)$ i $d(0.9)$ takođe predstavljaju masene prečnike zapreminske raspodele čestica pri čemu prečnik $d(0.1)$ ukazuje da 10% čestica u uzorku ima prečnik manji od dobijene vrednosti. Prečnik $d(0.9)$ ukazuje da 90% čestica u uzorku ima prečnik manji od dobijene vrednosti dok 10% čestica ima

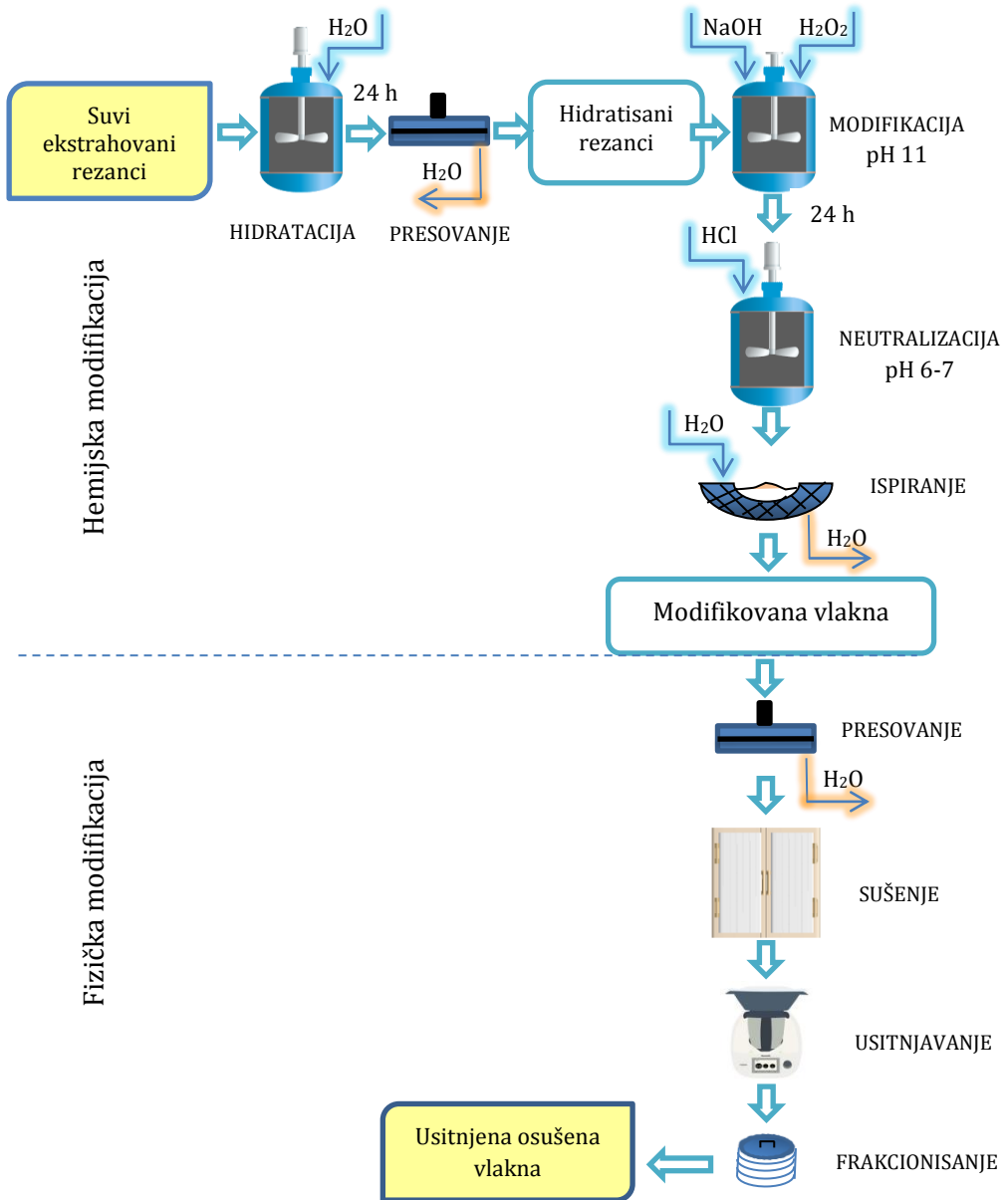
prečnik veći od dobijene vrednosti. Prečnik označen sa D [4,3] predstavlja usrednjenu vrednost prečnika svih čestica i naziva se zapreminski srednji prečnik ili srednji prečnik masenog momenta (Stojanović i sar., 2010).

4.2.2 PRIPREMA PREHRAMBENIH VLAKANA ŠEĆERNE REPE

Prehrambena vlakna šećerne repe su, pre dodatka u bezgluteski hleb, prošla hemijski i fizički postupak modifikacije. Šematski prikaz celokupnog postupka modifikacije dat je na Slici 9.

Pre hemijske modifikacije, suvi ekstrahovani rezanci šećerne repe najpre su hidratisani dodavanjem vodovodske vode u odnosu 9:1 (9 l vode na 1 kg suvih rezanaca). Posuda sa rezancima je, nakon dodatka vode i mešanja, poklopljena i ostavljena da stoji 24h na sobnoj temperaturi. Po isteku predviđenog vremena potrebnog za hidrataciju, voda je uklonjena mehaničkim putem na laboratorijskoj presi. Ovako pripremljeni presovani rezanci dalje su podvrgnuti hemijskoj modifikaciji.

Hemijska modifikacija vlakana iz ekstrahovanih rezanaca šećerne repe sprovedena je korišćenjem 30% vodonik peroksida (H_2O_2) u alkalnoj sredini (pH 11). Reakcija se odvija u reaktoru, gde je na jediničnu masu presovanih rezanaca dodata četvostruka količina rastvora vodonik peroksida (4 l H_2O_2 na 1 kg presovanih rezanaca). Nakon dodatka vodonik peroksida, podešavanje pH vrednosti reakcione smeše izvršeno je postepenim dodavanjem rastvora natrijum - hidroksida (10M) do postizanja pH vrednosti 11 uz stalno mešanje. Reakcija je egzotermna i burna (dolazi do intenzivnog formiranja pene), pa je poželjno vršiti i hlađenje reakcione smeše uz povremeno proveravanje pH vrednosti (Slika 9). Nakon postizanja pH 11, reakciona smeša se poklapa i ostavlja da stoji 24h. Rezanci nakon hemijske modifikacije imaju belu boju i gube prvobitni oblik. Nakon 24h i merenja pH vrednosti, reakciona smeša je neutralisana na nivo pH vrednosti od 6 do 7 dodavanjem rastvora koncentrovane hlorovodonične kiseline (35%) u digestoru, ili natrijum - hidroksida (10M) u zavisnosti da li je sredina bazna ili kisela. Nakon neutralizacije vlakna su prebačena u perforiranu posudu radi ispiranja najpre sa 2 l vodovodske vode, a zatim 2 l destilovane vode (Slika 9) (Gyura i sar., 2016; Đorđević, 2014; Šoronja-Simović i sar., 2016).



Slika 9. Šematski prikaz postupka modifikacije ekstrahovanih rezanaca šećerne repe

Postupak fizičke modifikacije ima za cilj da prethodno hemijski modifikovana vlakna šećerne repe dovede u oblik pogodan za aplikaciju u bezglutenski hleb. Fizička modifikacija vlakana podrazumeva izdvajanje vode u dva stepena, mlevenje i frakcionisanje dobijenih modifikovanih vlakana (Slika 9). Izdvajanje vode u prvom stepenu podrazumeva uklanjanje dela vode iz ispranih modifikovanih vlakana mehaničkim putem, na laboratorijskoj presi. Dobijena presovana modifikovana vlakna se, u količini od 500 g, fino raspoređuju u tanak sloj, pakuju u kese, i zamrzavaju na -20°C . Preostala voda se iz ovako pripremljenih presovanih modifikovanih vlakana izdvaja termički, sušenjem u laboratorijskim uslovima u komornoj sušnici. Presovana modifikovana vlakna su u tankom sloju raspoređena na ramove, kako bi se postigao što bolji efekat sušenja. U prvoj fazi primenjena je temperatura sušenja od 60°C u trajanju od 90 minuta. Druga faza sušenja sprovedena je na temperaturi od 40°C u toku 120 minuta. Osušena modifikovana vlakna su prikupljena i usitnjena u uređaju Thermomix® (Vorwerk, Wuppertal, Nemačka). Frakcionisanje usitnjenih modifikovanih vlakana sprovedeno je prosejavanjem na laboratorijskom planskom situ (tip SZ – 1, ZBPP, Bydgoszoz, Poljska) u trajanju od 4 minuta, na slogu sita čije su veličine otvora redom $315\ \mu\text{m}$, $180\ \mu\text{m}$, $165\ \mu\text{m}$, $150\ \mu\text{m}$ i $95\ \mu\text{m}$ (Đorđević, 2014). Za bezglutenski hleb korišćene su frakcije vlakana $<315\ \mu\text{m}$.

4.2.3 ODREĐIVANJE HIDRATACIONIH OSOBINA VLAKANA ŠEĆERNE REPE I JABUKE

4.2.3.1 Određivanje kapaciteta vezivanja vode

Kapacitet vezivanja vode prehrambenih vlakana određen je po modifikovanoj AACC metodi (1983). Prilikom rada utvrđeno je da modifikovana vlakna imaju veliku sposobnost upijanja vode. Zbog toga je za analizu korišćeno 2,5 g uzorka vlakana, veličine čestica $180\text{--}315\ \mu\text{m}$. Uzorak je suspendovan u $60\ \text{cm}^3$ destilovane vode temperature 30°C (u kiveti za centrifugu) i zatim termostatiran 30 minuta na 30°C . Svakih 10 minuta uzorak je homogenizovan mešanjem, a nakon navedenog vremena suspenzija je centrifugirana (Tehtnica Železniki, tip LC-321) 5 minuta pri 2000 o/min. Supernatant je dekantovanjem odvojen od hidratiranih čestica, a potom je izmerena masa kivete sa hidratiranim

česticama. Kapacitet vezivanja vode (KVV) prehrambenih vlakana predstavlja razliku mase hidratisanog i suvog uzorka vlakana, podeljenu masom suvog uzorka (7):

$$\%KVV = \frac{(m_2 - m_0) - m_1}{m_1} \quad (7)$$

gde je:

m_0 – masa prazne kivete (g)

m_1 – masa uzorka (2,5 g)

m_2 – masa kivete sa hidratisanim česticama (g)

4.2.3.2 Određivanje kapaciteta zadržavanja vode

Kapacitet zadržavanja vode (KZV) definiše se količinom vode koju vlakna vezuju bez primene neke spoljašnje sile, osim sile gravitacije i atmosferskog pritiska. Za određivanje kapaciteta zadržavanja vode vlakana primenjena je metoda autora Raghavendra i sar. (2004) uz korekciju upotrebljene količine uzorka vlakana. U graduisani cilindar odmereno je 0,3 g vlakana, dodato 10 ml destilovane vode i uzorak ostavljen da hidratiše 18 h. Nakon hidratacije, tečna faza je odvojena dekantovanjem i izmerena je masa hidratisanih vlakana. Kapacitet zadržavanja vode izračunat je prema jednačini 8.

$$KZV(g/g) = \frac{(m_2 - m_0) - m_1}{m_1} \quad (8)$$

gde je:

m_0 – masa praznog cilindra (g)

m_1 – masa uzorka (g)

m_2 – masa cilindra i hidratisanog uzorka (g)

4.2.3.3 Određivanje sposobnosti bubrenja

Sposobnost bubrenja vlakana definisana je kao odnos zapremine koju zauzima uzorak vlakana kada mu je dodata voda u višku, i mase uzorka vlakana nakon postizanja ravnotežnog stanja. Za određivanje kapaciteta zadržavanja vode

vlakana primenjena je metoda autora Raghavendra i sar. (2004). U graduisani cilindar izmereno je 0,2 g vlakana, dodato 10 ml destilovane vode i uzorak ostavljen da hidratise 18 h. Nakon predviđenog vremena, očitava se zapremina koju zauzima hidratisani uzorak vlakana i bubrenje izračunava prema jednačini 9 (Lundberg i sar., 2014).

$$SB \left(\frac{ml}{g} \right) = \frac{V}{m} \quad (9)$$

gde je:

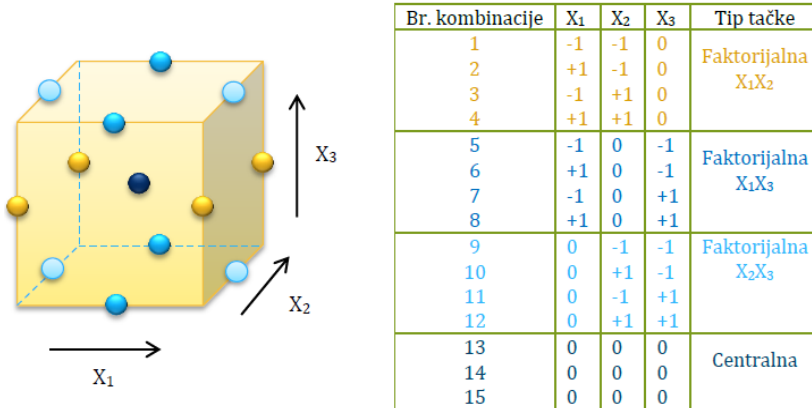
V - zapremina koju zauzima uzorak nakon bubrenja (ml)

m - masa uzorka (0,2 g)

4.2.4 EKSPERIMENTALNI DIZAJN

Sagledavajući kompleksnost bezglutenskih sistema, usled upotrebe velikog broja različitih dodataka sa ciljem „imitiranja“ funkcionalnosti glutena, za planiranje eksperimentalnog dela istraživanja korišćen je metod planiranja eksperimenta (DOE), dok je za obradu eksperimentalnih podataka upotrebljena metoda odzivne površine.

Za ispitivanje uticaja različitih količina prehrambenih vlakana šećerne repe, vlakana jabuke, hidropsipropil metil celuloze i vode na reološke osobine testa i kvalitet bezglutenskog hleba upotrebljen je Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn. Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn je dizajn sa tri nivoa (3^3) kojim je moguće utvrditi kombinacije nezavisno promenljivih ulaznih faktora koje daju odzive sistema kada se u razmatranje uzimaju centralna tačka i faktorijalne tačke raspoređene po sredinama ivica eksperimentalnog prostora (Slika 10) (Govedarica, 2017). Za Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn sa tri nezavisno promenljive na tri nivoa, i tri ponavljanja centralne tačke potrebno je definisati ukupno 15 kombinacija za koje se određuje zavisno promenljiva (odgovor) (Slika 10).



Slika 10. Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn za tri faktora (nezavisno promenljive) X₁, X₂ i X₃

Eksperimentalni rad obuhvatio je proizvodnju bezglutenskog hleba sa prehrambenim vlaknima šećerne repe i proizvodnju bezglutenskog hleba sa prehrambenim vlaknima jabuke uz primenu dva pojedinačna Box-Behnken-ova eksperimentalna dizajna. Prilikom ispitivanja uticaja vlakana šećerne repe na proizvodnju bezglutenskog hleba primenjen je Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn sa tri nezavisno promenljive varirane na tri nivoa: količina HPMC (2, 3, 4% na masu smeše kukuruzno brašno - kukuruzni skrob), količina vlakana šećerne repe (3, 5, 7% na masu smeše kukuruzno brašno - kukuruzni skrob) i količina vode (210, 220, 230% na masu smeše kukuruzno brašno - kukuruzni skrob). Prikaz svih 15 kombinacija pomenutih nezavisno promenljivih prema Box-Behnken eksperimentalnom dizajnu dat je u Tabeli 8.

Tabela 8. Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn za proizvodnju bezglutenskog hleba sa prehrambenim vlaknima šećerne repe

Br. kombinacije	HPMC (%)	Vlakna šećerne repe (%)	Voda (%)
1	2	3	220
2	4	3	220
3	2	7	220
4	4	7	220
5	2	5	210
6	4	5	210
7	2	5	230
8	4	5	230
9	3	3	210
10	3	7	210
11	3	3	230
12	3	7	230
13	3	5	220
14	3	5	220
15	3	5	220

Za ispitivanje uticaja vlakana jabuke na proizvodnju bezglutenskog hleba primenjen je Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn sa tri nezavisno promenljive na tri nivoa: količina HPMC (2, 3, 4% na masu smeše kukuruzno brašno - kukuruzni skrob), količina vlakana jabuke (3, 5, 7% na masu smeše kukuruzno brašno - kukuruzni skrob) i količina vode (180, 190, 200% na masu smeše kukuruzno brašno - kukuruzni skrob). Prikaz svih 15 kombinacija pomenutih nezavisno promenljivih prema Box-Behnken-ovom eksperimentalnom dizajnu dat je u Tabeli 9.

Uzimajući u obzir kapacitete vezivanja i zadržavanja vode vlakana šećerne repe i jabuke, metodom probe i greške utvrđeni su pomenuti nivoi variranja količine vode kao jedne od nezavisno promenljivih sa ciljem dobijanja bezglutenskog hleba prihvatljivih kvalitetnih karakteristika.

Tabeli 9. Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn za proizvodnju bezglutenskog hleba sa prehrambenim vlaknima jabuke

Br. kombinacije	HPMC (%)	Vlakna jabuke (%)	Voda (%)
1	2	3	190
2	4	3	190
3	2	7	190
4	4	7	190
5	2	5	180
6	4	5	180
7	2	5	200
8	4	5	200
9	3	3	180
10	3	7	180
11	3	3	200
12	3	7	200
13	3	5	190
14	3	5	190
15	3	5	190

4.2.5 ODREĐIVANJE FUNDAMENTALNIH REOLOŠKIH OSOBINA BEZGLUTENSKOG TESTA

Prilikom određivanja fundamentalnih reoloških osobina bezglutenskog testa sprovedena su merenja krivih proticanja, dinamička oscilatorna merenja i merenja krivih puzanja i oporavka. Sva reološka merenja izvedena su na rotacionom viskozimetru Haake Rheo Stress 600 (Thermo Electron Corporation, Karlsruhe, Nemačka) uz korišćenje pribora ploča - ploča prečnika 60 mm (PP60 Ti), sa zazorom između ploča od 1 mm na temperaturi od 25°C.

4.2.5.1 Priprema bezglutenskog testa za fundamentalna reološka merenja

Da bi se izbeglo formiranje gasova i time ometanje fundamentalnih reoloških merenja, uzorci bezglutenskog testa pripremljeni su bez dodatka kvasca i imali su sledeći sirovinski sastav: kukuruzno brašno i kukuruzni skrob (u odnosu

70:30), 2,5% soli, 5% šećera, 10% suncokretovog ulja, dok su hidroksipropil metil celuloza (HPMC), vlakna šećerne repe, vlakna jabuke i voda za svaki uzorak bezglutenskog testa dodati u količinama prethodno definisanim eksperimentalnim dizajnom. Zames bezglutenskog testa, izveden je korišćenjem miksera Gorenje ME 500 N, (Gorenje, Velenje, Slovenija) sa klasičnim nastavcima za mućenje i to: mešanjem praškastih sirovina 0,5 minuta na brzini 1; uz dodatak definisane količine vode i mešanje još 2,5 minuta na brzini 3; uz dodatak suncokretovog ulja i mešanje još 2 minuta na brzini 3. Nakon zamesa, usledila je faza relaksacije bezglutenskog testa u trajanju od 10 minuta. Uzorci bezglutenskog testa su zatim postavljeni između ploča rotacionog viskozimetra i nakon podešavanja zazora od 1 mm uklonjen je višak testa, a slobodna površina testa premazana je parafinskim uljem kako bi se sprečilo njegovo isušivanje. Nakon podešavanja zazora i odmaranja bezglutenskog testa između ploča rotacionog viskozimetra u trajanju od 3 minuta, izvedena su sva reološka merenja i to u tri ponavljanja.

4.2.5.2 Krive proticanja

Određivanje svojstava proticanja bezglutenskog testa je moguće uzimajući u obzir da je bezglutensko testo više nalik biskvitnom nego hlebnom testu. Krive proticanja bezglutenskog testa određene su praćenjem promena napona smicanja τ (Pa) sa promenom brzine smicanja γ (s^{-1}). Tokom analize brzina smicanja je najpre povećavana od 0–100 s^{-1} , zatim održavana konstantnom na 100 s^{-1} , i na kraju smanjena od 100–0 s^{-1} pri čemu je svaka faza trajala po 3 minuta. Dobijene krive proticanja opisane su primenom jednačine *Stepenog zakona* (1).

4.2.5.3 Dinamička oscilatorna merenja

Primenom dinamičkih oscilatornih merenja definisane su viskoelastične osobine bezglutenskog testa određivanjem vrednosti modula elastičnosti (G'), modula viskoznosti (G'') i tangensa faznog ugla ($\tan\delta = G''/G'$) u oblasti linearnog viskoelastičnog regiona (LVR). Za određivanje LVR primenjen je "stress sweep" test, odnosno ciklično povećanje iznosa napona od 0,1 do 100 Pa pri konstantnoj frekvenciji od 1 Hz. Konstantna vrednost napona, definisana u okviru

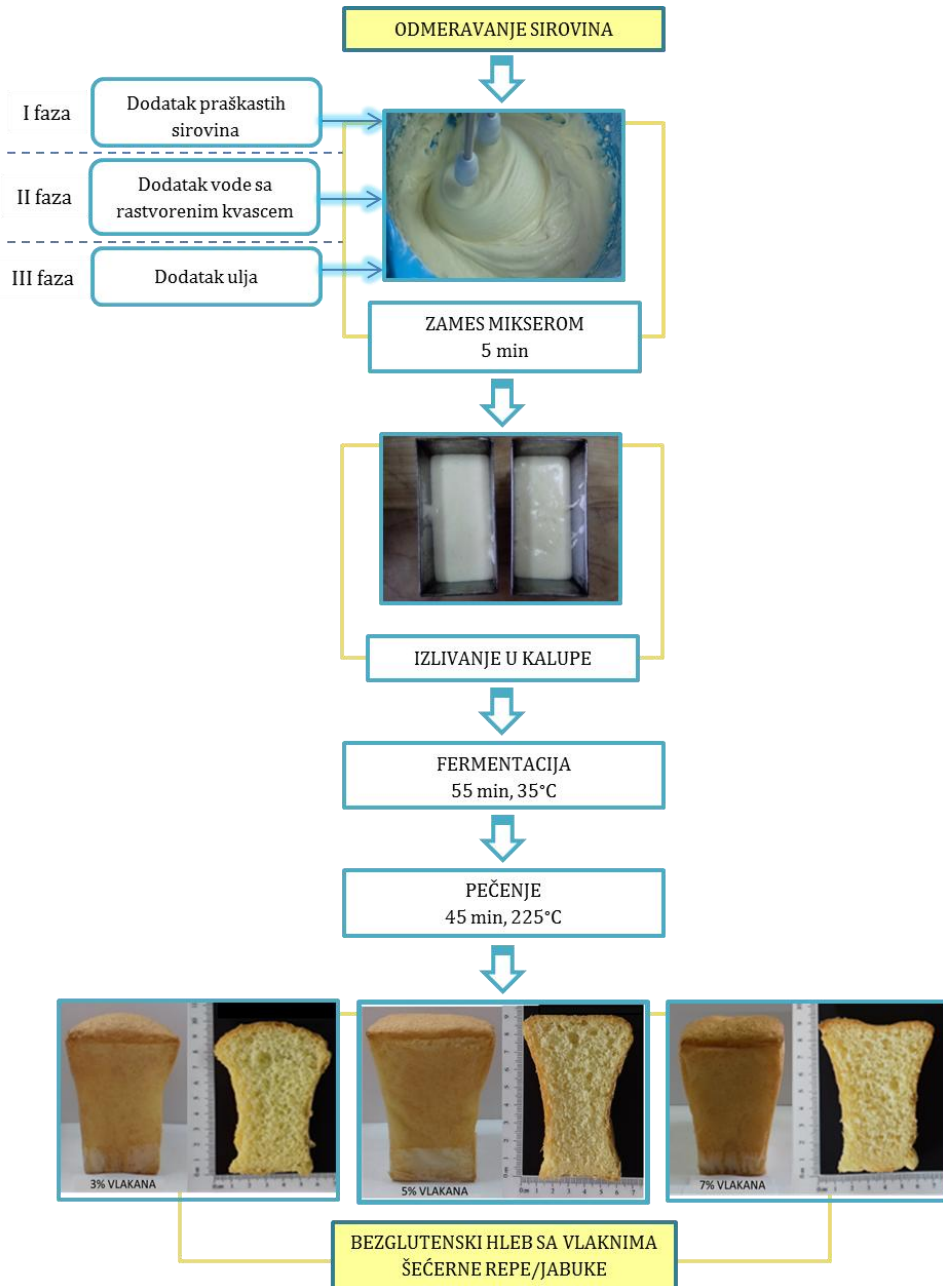
LVR za svaki uzorak bezglutenskog testa je dalje primenjena u “frequency sweep” testu za praćenje promena vrednosti elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula pri povećanju frekvencije od 1 do 10 Hz (Nikolić, 2015).

4.2.5.4 Krive puzanja i oporavka

Ispitivanje odgovora bezglutenskog testa, kao viskoelastičnog materijala, na primenu sile konstantne vrednosti i praćenje sposobnosti oporavka testa nakon prestanka dejstva sile izvršeno je određivanjem krivih puzanja i oporavka. Merenja su izvršena u LVR primenom konstantnog napona smicanja u fazi puzanja tokom 60 sekundi. Po prestanku delovanja napona smicanja usledila je faza oporavka sistema, u trajanju od 180 sekundi, u kojoj je posmatrana sposobnost uzoraka da povrate deo svoje prvobitne strukture. Krive puzanja i oporavka su matematički opisane pomoću *Burgers*-ovog modela, za fazu puzanja jednačinom 3., a za fazu oporavka jednačinom 4.

4.2.6 PROIZVODNJA BEZGLUTENSKOG HLEBA

Bezglutensko testo je po konzistenciji bliže biskvitnom nego standardnom hlebnom testu. Iz pomenutog razloga zames bezglutenskog testa najčešće se obavlja korišćenjem miksera, nakon toga se testo izliva u kalupe (deli), stavlja na fermentaciju a zatim peče. Šematski prikaz tehnološkog postupka proizvodnje bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe odnosno jabuke, prikazan je na Slici 11.



Slika 11. Šematski prikaz tehnološkog postupka proizvodnje bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i jabuke

Sirovinski sastav bezglutenskog hleba činili su: kukuruzno brašno i kukuruzni škrob (u odnosu 70:30), 2,5% soli, 3% suvog kvasca, 5% šećera, 10% suncokretovog ulja, dok su hidroksipropil metil celuloza (HPMC), vlakna šećerne repe, vlakna jabuke i voda za svaki uzorak bezglutenskog testa dodati u količinama prethodno definisanim eksperimentalnim dizajnom. Dodatak vlakana izvršen je zamenom polazne smeše kukuruzno brašno - kukuruzni škrob.

Nakon odmeravanja potrebnih sirovina, zames bezglutenskog testa, izveden je korišćenjem miksera Gorenje ME 500 N, (Gorenje, Velenje, Slovenija) sa klasičnim nastavcima za mućenje i to u tri faze:

- prva faza – homogenizacija praškastih sirovina (kukuruzno brašno, kukuruzni škrob, hidroksipropil metil celuloza, vlakna šećerne repe/jabuke, so, šećer) i mešenje u trajanju od 0,5 minuta na brzini 1;
- druga faza – dodatak suvog kvasca rastvorenog u vodi temperature 30°C i mešenje u trajanju od 2,5 minuta na brzini 3;
- treća faza – dodatak ulja i mešenje u trajanju od 2 minuta na brzini 3.

Ukupno vreme zamesa bezglutenskog testa mikserom je 5 minuta. Nakon zamesa testo je izlivano u teflonske kalupe i stavljeno na fermentaciju 55 minuta na 35°C. Fermentisano bezglutensko testo pečeno je na temperaturi od 225°C u trajanju od 45 minuta.

4.2.7 ODREĐIVANJE TEHNOLOŠKOG KVALITETA I NUTRITIVNE VREDNOSTI BEZGLUTENSKOG HLEBA

Tehnološki i nutritivni kvalitet bezglutenskog hleba određen je 24 h nakon pečenja. Nutritivni kvalitet bezglutenskog hleba utvrđen je određivanjem sadržaja vlage, pepela, sirovih proteina, masti i ukupnih prehrambenih vlakana po postupcima prethodno opisanim u podpoglavlju 4.2.1.1. Boja sredine i kore bezglutenskog hleba određena je po postupku opisanim u podpoglavlju 4.2.1.2.

4.2.7.1 Određivanje zapremine bezglutenskog hleba

Zapremina bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i jabuke određena je metodom istiskivanja semena uljane repice uz korišćenje levka i pribora (Kaluđerski, Filipović, 1998). Specifična zapremina dobijena je računskim putem iz odnosa zapremine i mase bezglutenskog hleba i izražena u cm^3/g .

4.2.7.2 Određivanje teksturnih osobina bezglutenskog hleba (TPA test)

Teksturine osobine bezglutenskog hleba određene su primenom TPA (Texture Profile Analysis) testa na analizatoru teksture TA.HD Plus (Stable Micro Systems, Surrey, Ujedinjeno Kraljevstvo) opremljenog mernom ćelijom od 5 kg i mernim priborom P/36R (cilindar prečnika 36 mm). Merenja teksture sredine bezglutenskog hleba izvedena su u tri ponavljanja na kriškama debljine 2 cm uzetim iz središnjeg dela hleba. Merenja su izvršena primenom sledećih operativnih parametara: brzina kretanja mernog dela pre analize 1 mm/s, brzina kretanja mernog dela tokom i nakon analize 5 mm/s, vreme čekanja između prvog i drugog ciklusa kompresije 5 s uz deformaciju od 70%. Za opisivanje teksture sredine bezglutenskog hleba korišćeni su sledeći parametri: tvrdoća (eng. "hardness"), kohezivnost (eng. "cohesiveness"), naknadna elastičnost (eng. "springiness"), žvackljivost (eng. "chewiness"), inicijalna elastičnost (eng. "resilience"). Svi navedeni parametri izračunati su sa TPA grafika primenom softverskog paketa Texture Exponent (Stable Micro Systems, Surrey, Ujedinjeno Kraljevstvo).

4.2.7.3 Senzorska ocena bezglutenskog hleba

Ocena senzorskih osobina bezglutenskog hleba sprovedena je 24 h nakon pečenja od strane šestočlanog panela utreniranih ocenjivača u adekvatnom prostoru (ISO 8586-2, 2008; ISO 8589, 2007). Svi ocenjivači bili su upoznati sa činjenicom da ocenjuju bezglutenski hleb na bazi kukuruznog brašna. Senzorska ocena uzoraka bezglutenskog hleba sprovedena je uz primenu metode bodovanja, a odabir osobina koje su senzorski ocenjene utvrđen je prethodno po uzoru na

osobine u metodi bodovanja definisanoj za osnovne vrste pšeničnog hleba (Kaluderski, Filipović, 1998). Senzorski su ocenjene sledeće osobine bezglutenskog hleba: spoljni izgled (oblik, boja, izgled površine i osobine kore), izgled sredine (ujednačenost boje, ravnomernost i finoća pora, elastičnost pora), miris kore i sredine i ukus kore i sredine. S obzirom da sve osobine ne daju identičan doprinos celokupnoj oceni kvaliteta bezglutenskog hleba, prethodno su utvrđeni i koeficijenti važnosti (KV) za svaku pojedinačnu osobinu: spoljni izgled KV=1,6; izgled sredine KV=2,4; miris kore i sredine KV=1,4; ukus kore i sredine KV=2,6. Svaka pojedinačna osobina bezglutenskog hleba ocenjena je bodovno (1 do 5) i pomnožena sa odgovarajućim koeficijentom važnosti kako bi se dobio ukupan broj bodova za svaki uzorak bezglutenskog hleba. Na osnovu ukupnog broja bodova uzorci bezglutenskog hleba svrstani su u pet kategorija kvaliteta: nezadovoljavajući kvalitet, <22,4 boda; prihvatljiv kvalitet, od 22,5–26,9 boda; dobar kvalitet, od 27,0–31,4 boda; vrlo dobar kvalitet, od 31,5–35,9 boda; odličan kvalitet, 36,0–40,0 boda. Kriške bezglutenskog hleba (2 cm debljine), dostavljane su ocenjivačima istovremeno i bile su označene šiframa. Formular sa opisom pojedinačnih ocena za svaku ocenjivanu osobinu i izgled ocenjivačkog listića dati su u prilogu.

4.2.7.4 Određivanje energetske vrednosti bezglutenskog hleba

Bezglutenski hleb smatra se proizvodom koji ima povećanu energetske vrednost s obzirom na upotrebu skroba, kao jedne od osnovnih sirovina, i veće količine masti prilikom zamesa. Prehrambena vlakna su nutrijenti koji imaju malu energetske vrednost, ali je njihova uloga i sa tehnološkog i sa zdravstvenog aspekta višestruka. Energetska vrednost određena je za uzorke bezglutenskog hleba odličnog kvaliteta koji su imali 3 i 7% vlakana šećerne repe odnosno jabuke. Energetska vrednost određena je računskim putem (jednačina 10), u skladu sa Pravilnikom o deklarisanju, označavanju i reklamiranju hrane („Sl. Glasnik RS“, br. 19/2017 i 16/2018):

$$EV (kJ) = Ugljeni\ hidrati \times 17 + Proteini \times 17 + masti \times 37 + UPV \times 8 \quad (10)$$

Sadržaj masti, proteina, ugljenih hidrata i ukupnih prehrambenih vlakana (UPV) (u % na 100 g proizvoda) pomnožen je sa vrednostima za ove makronutrijente iz standardne tabele nutritivnih vrednosti i izražen u kilodžulima (kJ) (jednačina 10). S obzirom da sadržaj ukupnih ugljenih hidrata nije određen eksperimentalno, izračunat je prema jednačini 11:

$$UH = 100 - (vlaga + pepeo + proteini + masti + UPV) \quad (11)$$

4.2.7.5 Analiza strukture sredine bezglutenskog hleba skenirajućom elektronskom mikroskopijom

Skenirajućom elektronskom mikroskopijom (Scanning Electron Microscopy-SEM) analizirana je struktura uzoraka bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i jabuke koji su dobili najveći broj bodova nakon senzorske ocene. SEM analiza izvršena je u Univerzitetском Centru za Elektronsku Mikroskopiju (UCEM-NS) u Novom Sadu. Uzorci su prethodno obloženi zlatom u vakuumskom uređaju za pripremu uzoraka spaterovanjem, a potom posmatrani na skenirajućem elektronskom mikroskopu (JEOL JSM 6460 LV) sa EDS uređajem (Oxford INCA-digitalizovani uređaj), rezolucije 3–4 nanometra, uvećanja u rasponu 8–300.000 puta i mogućnošću rada u niskom vakuumu do environment nivoa, SEI, BEI topo, compo, shadow. Uzorci bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i jabuke posmatrani su pri uvećanjima od 200, 1000 i 5000 puta.

4.2.8 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Box-Behnken-ov dizajn, primenjen za planiranje eksperimenata, omogućava obradu dobijenih eksperimentalnih podataka upotrebom metode odzivne površine. Metoda odzivne površine podrazumeva pronalaženje vrednosti ulaznih faktora (nezavisno promenljivih) koje bi dale željeni odziv kontinualne, zavisno promenljive. Za odgovarajući opis zavisnosti izlazne zavisno promenljive i nezavisno promenljivih ulaznih faktora u Box-Behnken-ovom eksperimentalnom dizajnu koristi se polinom drugog reda, odnosno kvadratna regresiona jednačina (model) predstavljena jednačinom 12 (Khuri, 2006). Pomenuta zavisnost grafički

se može prikazati odzivnom krivom ili odzivnom površinom za različite kombinacije ulaznih faktora.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k \beta_{ij} x_i x_j \quad (12)$$

gde je:

y – odziv

$x_i - x_j$ – kodirani nezavisno promenljivi ulazni faktori

$\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ – odsečak, linearni, kvadratni, i interakcioni koeficijent

U okviru Box-Behnken dizajna, primenom statističke metode analize varijanse (ANOVA) koristeći nivo značajnosti od 5%, određen je značaj nezavisno promenljivih ulaznih faktora (količine HPMC, količine vlakana šećerne repe i jabuke, i količine vode) i njihovih interakcija na zavisno promenljive (fundamentalne reološke parametre bezglutenskog testa i teksturne parametre bezglutenskog hleba). Suma kvadrata dobijenih analizom varijanse korišćena je za izračunavanje uticaja nezavisno promenljivih ulaznih faktora i njihovih interakcija na zavisno promenljive veličine. Pozitivan (negativan) znak koeficijenata regresione jednačine znači da se zavisno promenljiva izlazna veličina povećava (smanjuje) sa povećanjem nezavisno promenljivih ulaznih faktora (Petrović, 2018).

U slučaju kada za analizu pojedinih zavisnih veličina nije mogao biti upotrebljen kvadratni model, zbog njegove neadekvatnosti, rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm objedinjena standardna devijacija (eng. “pooled standard deviation”) izračunata prema jednačini 13.

$$SD = \sqrt{\frac{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (13)$$

gde je:

n – broj eksperimenata

s – pojedinačna standardna devijacija

Utvrđivanje statističke značajnosti razlika između srednjih vrednosti sprovedeno je primenom analize varijanse (ANOVA) i Duncan-ovog testa poređenja srednjih vrednosti koristeći nivo značajnosti 5%. Dobijeni eksperimentalni podaci obrađeni su primenom softverskih paketa Design-Expert 7.0.0 trial version (Stat-Ease Inc., Minneapolis, SAD), i Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, SAD).

5

REZULTATI I
DISKUSIJA

5.1 HEMIJSKI SASTAV I FIZIČKE OSOBINE SIROVINA

5.1.1 HEMIJSKI SASTAV SIROVINA

Proizvodnja bezglutenskog hleba zasniva se na upotrebi velikog broja sirovina među kojima su raznovrsna bezglutenska brašna, kao alternativa pšeničnom brašnu, skrobovi, hidrokoloidi, proteini, prehrambena vlakna, emulgatori i ostali dodaci. Kvalitet proizvedenog bezglutenskog hleba u velikoj meri zavisi od kvaliteta polaznih sirovina, a kvalitet polaznih sirovina definiše se njihovim hemijskim sastavom. Hemijski sastav sirovina (kukuruznog brašna, kukuruznog skroba, prehrambenih vlakana šećerne repe i jabuke) koje su korišćene u proizvodnji bezglutenskog hleba dat je u Tabeli 10.

Tabela 10. Hemijski sastav (% s.m.) sirovina korišćenih u proizvodnji bezglutenskog hleba

Hemijski parametri	Kukuruzno brašno	Kukuruzni skrob	Vlakna šećerne repe	Vlakna jabuke
Vlaga	11,23±0,08	13,35±0,06	8,47±0,03	7,01±0,01
Proteini	6,10±0,05	1,20±0,03	9,62±0,02	/
Pepeo	0,48±0,01	1,24±0,01	3,60±0,01	/
Masti	1,82±0,12	1,47±0,13	/	/
Ukupni ugljeni hidrati	91,32	96,09	86,78	12,06±0,32
Ukupna prehrambena vlakna	3,28±0,23	/	78,31±0,41	55*
Nerastvorljiva prehrambena vlakna	1,73±0,31	/	61,20±0,23	45*
Rastvorljiva prehrambena vlakna	1,55±0,13	/	17,11±0,12	10*

*prema proizvođačkoj specifikaciji

Hemijski sastav korišćenog kukuruznog brašna u pogledu sadržaja vlage i proteina u skladu je sa rezultatima de la Hera i sar. (2013) i Martínez, Gómez (2017). Sadržaj ukupnih, nerastvorljivih i rastvorljivih prehrambenih vlakana u vlaknima šećerne repe u saglasnosti je sa literaturnim podacima (Thebaudin i sar., 1997; Ktenioudaki, Gallagher, 2012; Šoronja-Simović i sar., 2016), dok je sadržaj proteina u vlaknima šećerne repe nešto niži u poređenju sa rezultatima prethodnih istraživanja (Šoronja-Simović i sar., 2016). Može se uočiti da je sadržaj ukupnih, rastvorljivih i nerastvorljivih prehrambenih vlakana veći kod vlakana šećerne repe u poređenju sa vlaknima jabuke. Prema literaturnim navodima, sadržaj ukupnih vlakana u osušenoj pulpi jabuke varira u zavisnosti od sorte i iznosi od 30 do 90% s.m. (Figuerola i sar., 2005; O'Shea i sar., 2015b). Međutim, i vlakna šećerne repe i vlakna jabuke imaju povoljan odnos rastvorljivih i nerastvorljivih prehrambenih vlakana, a ne sadrže gluten, što ih čini pogodnim za primenu u bezglutenskim proizvodima. Vlakna jabuke, takođe, imaju i prirodno veći sadržaj šećera za razliku od rezanaca šećerne repe iz kojih je šećer ekstrahovan, a rezanci dalje primenjeni za proizvodnju vlakana.

Kao hidrokoloid, u proizvodnji bezglutenskog hleba, korišćena je hidroksipropil metil celuloza koja je po proizvođačkoj specifikaciji imala sledeći sastav i osobine: sadržaj metoksil grupa 19–24%, sadržaj hidroksipropil grupa 4–12%, molekulska masa 13 000–200 000, viskozitet 3 000–5 600 mPas.

5.1.2 BOJA SIROVINA

Boja bezglutenskog hleba u velikoj meri potiče od boje sirovina upotrebljenih u proizvodnji i jedan je od najbitnijih vizuelnih parametara koji utiče na dopadljivost kod potrošača. Parametri instrumentalnog određivanja boje sirovina prikazani su u Tabeli 11. Najveća vrednost parametra svetloće L^* zabeležena je kod kukuruznog brašna, zatim kod vlakana šećerne repe, dok su vlakna jabuke imala najmanju vrednost ovog parametra ukazujući na tamniju boju. I kod kukuruznog brašna i kod vlakana šećerne repe negativan predznak parametra a^* ukazuje na prisustvo zelenog tona, dok njegov pozitivni predznak ukazuje na prisustvo crvenog tona u vlaknima jabuke.

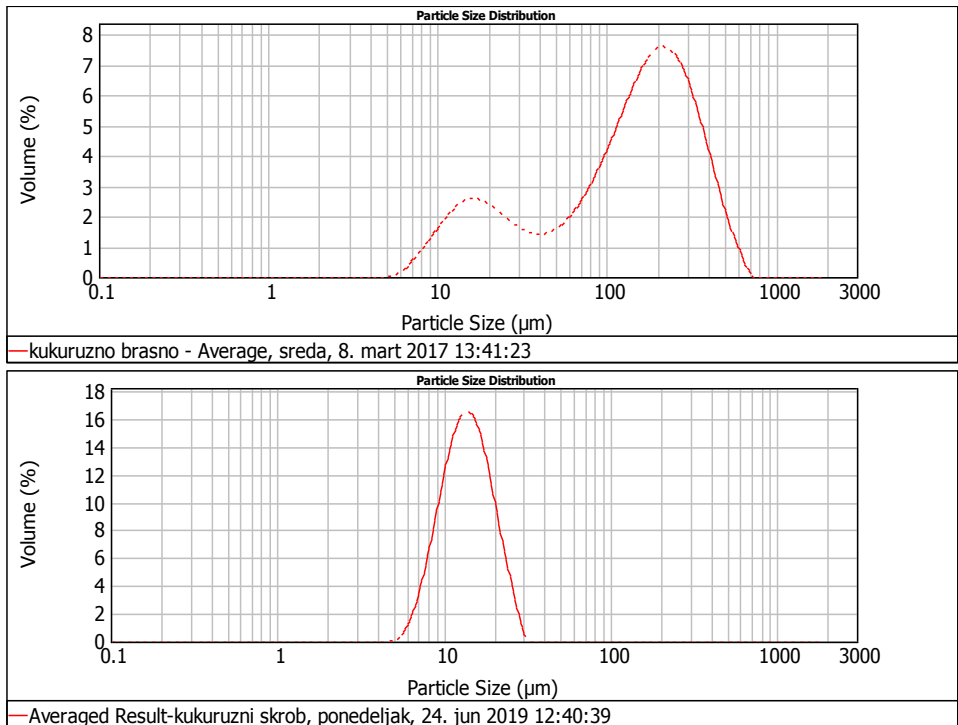
Tabela 11. Parametri boje sirovina korišćenih u proizvodnji bezglutenskog hleba

Parametri boje	Kukuruzno brašno	Vlakna šećerne repe	Vlakna jabuke
L*, svetloća	90,03±0,07	86,55±0,49	60,13±0,56
a*, udeo crvene/zelene	-2,59±0,05	-0,94±0,02	9,45±0,37
b*, udeo žute/plave	29,69±0,16	12,40±0,32	27,42±0,38

Pozitivan predznak parametra b* ukazuje na prisustvo žutog tona i u kukuruznom brašnu i u vlaknima šećerne repe i jabuke pri čemu je udeo žutog tona značajno veći u kukuruznom brašnu i vlaknima jabuke u poređenju sa vlaknima šećerne repe.

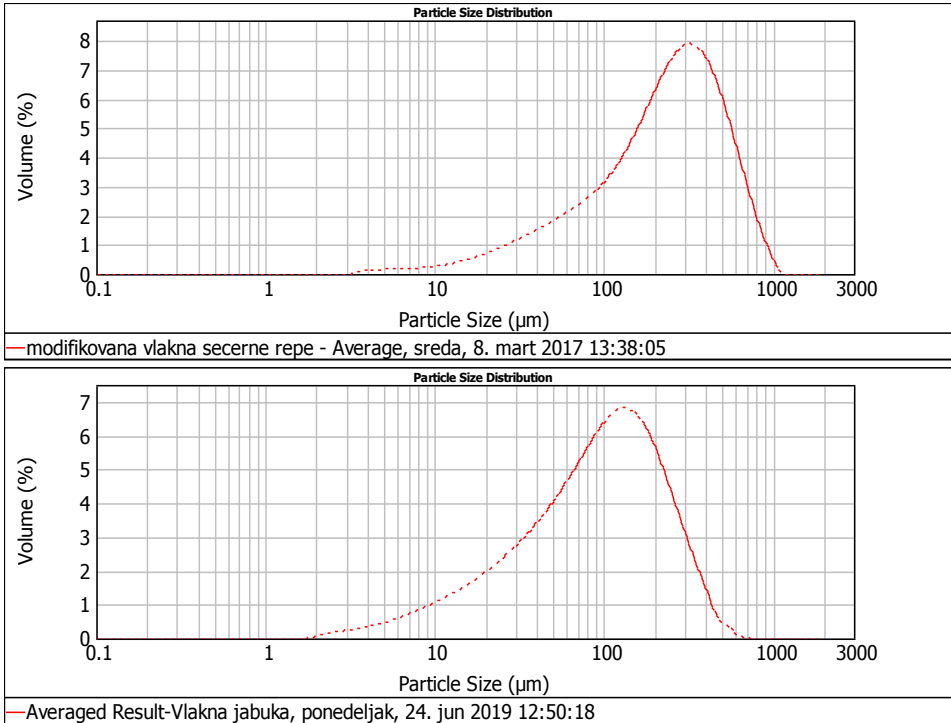
5.1.3 RASPODELA VELIČINA ČESTICA SIROVINA

Krive zapreminske raspodele veličina čestica za sirovine (kukuruzno brašno, kukuruzni škrob, vlakna šećerne repe i vlakna jabuke) korišćene u proizvodnji bezglutenskog hleba prikazane su na Slikama 12 i 13 dok su rezultati u vidu izvedenih prečnika čestica (d(0.1), d(0.5), d(0.9), D [4,3]) dati u Tabeli 12. Kod kukuruznog brašna uočava se bimodalna raspodela veličina čestica sa česticama dimenzija od 5,012 do 724,436 μm, što je verovatno posledica prisustva kako čestica endosperma tako i delova omotača zrna u kukuruznom brašnu (Slika 12). Monomodalna uska raspodela sa česticama dimenzija od 5,012 do 30,20 μm zabeležena je kod kukuruznog škroba i ukazuje na veoma uniformnu veličinu čestica škroba (Slika 12).



Slika 12. Raspodela veličina čestica kukuruznog brašna i skroba korišćenih u proizvodnji bezglutenskog hleba

Raspodele veličina čestica vlakana šećerne repe i jabuke su takođe monomodalne ali široke sa česticama dimenzija od 3,311 do 954,993 μm i od 2,188 do 630,957 μm. Pik raspodele kod vlakana šećerne repe uočava se pri dimenzijama čestica od oko 340 μm, dok je kod vlakana jabuke pik raspodele pri dimenzijama čestica od oko 125 μm (Slika 13).



Slika 13. Raspodela veličina čestica vlakana šećerne repe i jabuke korišćenih u proizvodnji bezglutenskog hleba

Vrednost zapreminskog srednjeg prečnika raspodele veličina čestica D [4,3] najmanji je za kukuruzni škrob, a najveći za vlakna šećerne repe (Tabela 12).

Tabela 12. Raspodele veličina čestica sirovina upotrebljenih u proizvodnji bezglutenskog hleba izražene preko izvedenih prečnika

	Kukuruzno brašno	Kukuruzni škrob	Vlakna šećerne repe	Vlakna jabuke
d(0.1) µm	16,38±0,21	8,58±0,15	47,68±0,50	17,57±0,30
d(0.5) µm	149,73±2,85	13,57±0,01	238,81±1,35	93,80±2,06
d(0.9) µm	361,04±3,61	21,15±0,34	558,64±2,22	254,08±14,51
D [4,3] µm	171,61±2,39	14,30±0,05	276,44±0,38	118,52±5,85

Vrednost D [4,3] dobijena za kukuruzno brašno može se smatrati optimalnom s obzirom da je u istraživanju de la Hera i sar. (2013; 2014) primena

frakcije kukuruznog brašna sa veličinom čestica većom od 180 μm rezultovala bezglutenskim hlebom veće zapremine i manje tvrdoće sredine u poređenju sa bezglutenskim hlebom dobijenim od brašna finije granulacije, čija je veličina čestica bila manja od 132 μm . Generalno posmatrano, na osnovu grafika zapreminske raspodele i vrednosti D [4,3] može se reći da su sve ispitivane sirovine pogodne za dobijanje bezglutenskog hleba veće zapremine i boljih teksturnih svojstava.

5.2 HIDRATACIONE OSOBINE VLAKANA ŠEĆERNE REPE I JABUKE

Hidracione osobine vlakana diktiraju mogućnost primene i optimalnu količinu vlakana kao dodatka u prehrambenim proizvodima uzimajući u obzir činjenicu da željena tekstura proizvoda mora biti postignuta (Thebaudin i sar., 1997). Definisanje hidracionih osobina vlakana veoma je važno naročito radi definisanja količine vode potrebne za postizanje adekvatne konzistencije bezglutenskog testa. Upravo sa ovim ciljem određeni su kapaciteti vezivanja i zadržavanja vode kao i sposobnost bubrenja vlakana šećerne repe i vlakana jabuke, a dobijeni rezultati prikazni su u Tabeli 13.

Tabela 13. Hidracione osobine vlakana šećerne repe i vlakana jabuke

Hidracione osobine	Vlakna šećerne repe	Vlakna jabuke
Kapacitet vezivanja vode (g/g)	17,16 \pm 0,32	4,50*
Kapacitet zadržavanja vode (g/g)	13,99 \pm 0,11	/
Sposobnost bubrenja (ml/g)	17,48 \pm 0,45	/

*prema proizvođačkoj specifikaciji

Dobijene vrednosti za kapacitete vezivanja vode vlakana šećerne repe i jabuke u skladu su sa rezultatima navedenim u literaturi (Thebaudin i sar., 1997; O'Shea i sar., 2015b; Šoronja-Simović i sar., 2016), pri čemu je kapacitet vezivanja vode vlakana šećerne repe približno četiri puta veći od kapaciteta vezivanja vode vlakana jabuke. Ovako velike vrednosti kapaciteta vezivanja vode vlakana šećerne

repe posledica su razgradnje lignina i otvaranja strukture vlakana, tokom njihove hemijske modifikacije, pri čemu slobodne hidroksilne grupe celuloze postaju dostupnije za interakciju sa vodom (Sangnark, Noomhorm, 2003). Kapacitet zadržavanja vode i sposobnost bubrenja vlakana jabuke nije bilo moguće odrediti primenjenim metodama (usled velikih gubitaka prilikom dekantovanja). U literaturi se za vlakna jabuke navode vrednosti kapaciteta zadržavanja vode u intervalu od 6,34 do 12,25 g/g i sposobnost bubrenja od 7,59 do 12,8 ml/g (Ktenioudaki i sar., 2013; O'Shea i sar., 2015b). Dobijene vrednosti kapaciteta zadržavanja vode i sposobnosti bubrenja vlakana šećerne repe su veće (Tabela 13) u poređenju sa navedenim literaturnim podacima za vlakna jabuke. Uzimajući u obzir bolja hidrataciona svojstva vlakana šećerne repe, radi postizanja adekvatne konzistencije bezglutenskog testa upotrebljena je veća količina vode u testu sa vlaknima šećerne repe u odnosu na testo sa vlaknima jabuke.

5.3 UTICAJ VLAKANA ŠEĆERNE REPE NA FUNDAMENTALNE REOLOŠKE OSOBINE BEZGLUTENSKOG TESTA

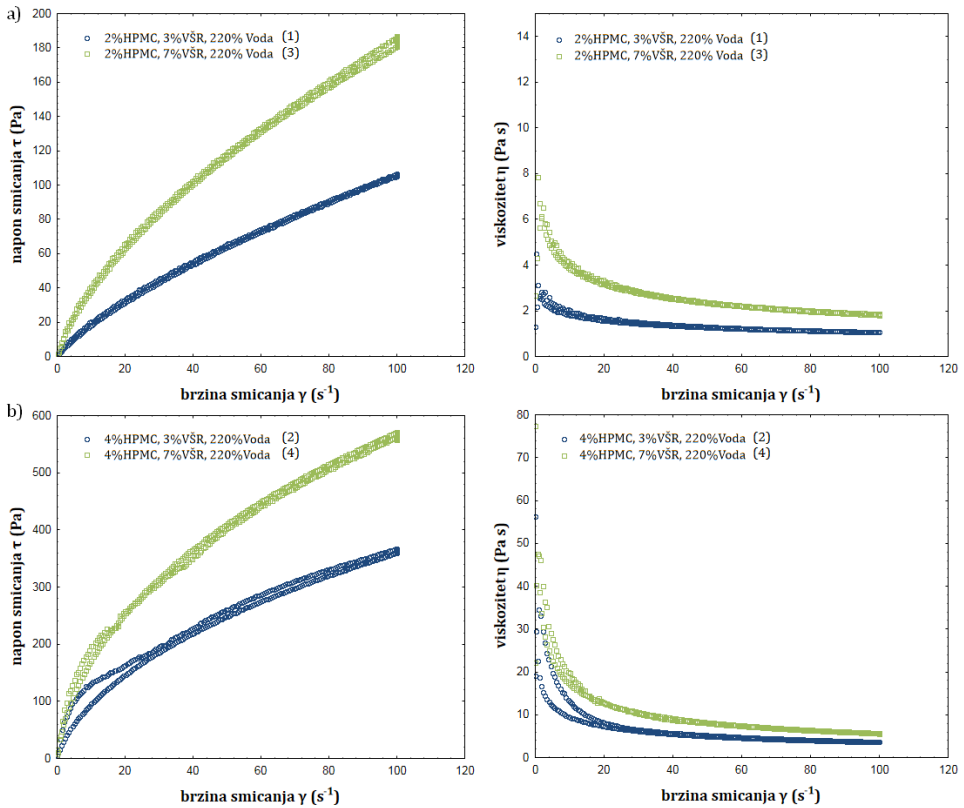
Uticao vlakana šećerne repe na strukturne promene u bezglutenskom testu ispitan je praćenjem reološkog ponašanja bezglutenskog testa određivanjem svojstva proticanja i viskoelastičnih svojstava sprovođenjem dinamičkih oscilatornih merenja i merenja krivih puzanja i oporavka.

5.3.1 KRIVE PROTICANJA BEZGLUTENSKOG TESTA SA VLAKNIMA ŠEĆERNE REPE

Ponašanje bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe prilikom proticanja definisano je krivama proticanja predstavljenim na Slici 14. Uočljivo je da je povećanje količine vlakana šećerne repe sa 3 na 7% dovelo do povećanja viskoziteta uzoraka pri identičnom sadržaju HPMC i vode (Slika 14). Pored

vlakana šećerne repe, dominantniji uticaj na povećanje viskoziteta bezglutenskog testa imalo je povećanje sadržaja HPMC sa 2 na 4%, pri identičnom sadržaju vlakana šećerne repe i vode (Slika 14). Primetno je takođe i preklapanje uzlazne i silazne krive u uzorcima sa 2% HPMC (Slika 14a, uzorci 1 i 3), dok se kod uzoraka sa 4% HPMC uočava formiranje manjih histerezisnih površina. Histerezisne površine nastaju kao posledica mogućeg međusobnog povezivanja između funkcionalnih metoksi, hidroksipropil i hidroksilnih grupa u lanacu HPMC sa hidroksilnim grupama celuloze i hemiceluloze iz vlakana šećerne repe i uspostavljanja određene strukture.

Dobijene krive proticanja opisane su primenom *Stepenog zakona* preko koeficijenta konzistencije K i indeksa proticanja n čije su vrednosti prikazane u Tabeli 14. Kao i kod većine bezglutenskih sistema, primena *Stepenog zakona* pokazala se adekvatnom za opisivanje eksperimentalnih podataka s obzirom na dobijene vrednosti koeficijenta determinacije (R^2) od 0,985 do 0,999 za uzlaznu, i od 0,998 do 0,999 za silaznu krivu (Tabela 14).



Slika 14. Krive proticanja i viskoziteta bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe a) uzorci 1 i 3, b) uzorci 2 i 4

Tabela 14. Vrednosti parametara *Power-law* modela krivih proticanja bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe

Br. uzorka	HPMC (%)	VŠR (%)	Voda (%)	$\tau = K \cdot \gamma^n$					
				Uzlazna kriva		Silazna kriva			
				K (Pa s ⁿ)	n	R ²	K (Pa s ⁿ)	n	R ²
1	2	3	220	1,18 ^a	0,98 ^{cd}	0,999	3,07 ^a	0,77 ^g	0,999
2	4	3	220	7,63 ^a	0,84 ^{abc}	0,998	18,62 ^e	0,65 ^{cdef}	0,999
3	2	7	220	3,10 ^a	0,88 ^{abcd}	0,999	10,46 ^{bc}	0,61 ^{abcde}	0,999
4	4	7	220	11,38 ^a	0,84 ^{abc}	0,999	39,39 ^f	0,58 ^{abcd}	0,999
5	2	5	210	4,40 ^a	0,79 ^{abc}	0,999	11,34 ^{bcd}	0,61 ^{abcdef}	0,999
6	4	5	210	33,55 ^b	0,71 ^{ab}	0,997	78,64 ^h	0,51 ^a	0,998
7	2	5	230	5,06 ^a	0,67 ^a	0,999	3,76 ^a	0,72 ^{fg}	0,999
8	4	5	230	12,21 ^a	0,74 ^{ab}	0,997	16,65 ^{cde}	0,64 ^{bcddef}	0,999
9	3	3	210	10,34 ^a	0,76 ^{ab}	0,999	17,87 ^{de}	0,63 ^{bcddef}	0,999
10	3	7	210	14,32 ^a	0,81 ^{abc}	0,999	51,56 ^g	0,53 ^{ab}	0,999
11	3	3	230	12,40 ^a	0,82 ^{abc}	0,985	43,77 ^f	0,54 ^{abc}	0,998
12	3	7	230	3,98 ^a	0,86 ^{abc}	0,998	8,79 ^{ab}	0,69 ^{efg}	0,999
13	3	5	220	7,20 ^a	0,80 ^{abc}	0,999	13,50 ^{bcdde}	0,65 ^{cdef}	0,999
14	3	5	220	2,32 ^a	0,85 ^{abc}	0,999	14,70 ^{bcdde}	0,68 ^{defg}	0,999
15	3	5	220	4,88 ^a	0,90 ^{bcd}	0,999	12,47 ^{bcdde}	0,61 ^{abcdef}	0,998
OSTDEV				3,40	0,06		1,94	0,03	

Srednje vrednosti svakog parametra u koloni označene različitim slovima su statistički značajno različite ($p < 0.05$); HPMC – hidrokspipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe; K - koeficijent konzistencije; n - indeks proticanja; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

Vrednosti indeksa proticanja $n < 1$ potvrđuju pseudoplastično ponašanje bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe što predstavlja veoma bitno svojstvo za postupak proizvodnje hleba koji uključuje mešenje i oblikovanje (Sabanis, Tzia, 2011a). Sa povećanjem sadržaja vlakana šećerne repe od 3 na 7% uočeno je povećanje vrednosti indeksa proticanja n za uzorke sa 3% HPMC i sa 210% i 230% vode (uzorci 9 i 10, 11 i 12, Tabela 14), što ukazuje da je veća količina vlakana šećerne repe smanjivala njegovu pseudoplastičnost.

Sa druge strane, povećanje količine vlakana šećerne repe sa 3 na 7% u uzorcima sa 2% HPMC i 220% vode dovelo je do suprotnog efekta, odnosno smanjenja indeksa proticanja n i povećanja pseudoplastičnog (nenjutnovskog) karaktera bezglutenskog sistema (uzorci 1 i 3, Tabela 14, Slika 14a). Navedene razlike ukazuju na činjenicu da su vrednosti indeksa proticanja n , pored količine vlakana šećerne repe, u velikoj meri zavisile i od količine HPMC s obzirom da je sa povećanjem količine HPMC sa 2 na 4% zabeleženo smanjenje indeksa proticanja n bez obzira na količinu vlakana šećerne repe u uzorcima. Zabeleženi dominantniji uticaj HPMC na smanjenje indeksa proticanja n posledica je hemijskog vezivanja vode u strukturi HPMC (formiranja gela) za razliku od adsorpcionog vezivanja vode na površini vlakana šećerne repe (bubrenje). Dobijene vrednosti indeksa proticanja n u skladu su sa rezultatima prethodnih istraživanja za bezglutenska testa sa dodatkom HPMC (Sabanis, Tzia, 2011a).

Povećanje količine vlakana šećerne repe u bezglutenskom testu sa 3 na 7% pri istom sadržaju HPMC i vode (uzorci 1 i 3, 2 i 4, 9 i 10, Tabela 14, Slika 14) dovelo je i do povećanja vrednosti koeficijenta konzistencije K odnosno viskoznosti ovih uzoraka. S obzirom da se prilikom hemijske modifikacije vlakana šećerne repe deo lignina rastvara, sposobnost vezivanja vode i bubrenja se povećava (Dreher, 1999) što rezultuje povećanjem koeficijenta konzistencije. Pored vlakana šećerne repe, na povećanje koeficijenta konzistencije uticalo je i povećanje količine HPMC sa 2 na 4% u uzorcima sa istim sadržajem vlakana i vode (uzorci 1 i 2, 3 i 4, 5 i 6, 7 i 8, Tabela 14). Pomenuto povećanje koeficijenta konzistencije rezultat je supstitucije hidroksilnih grupa celuloze u molekulu HPMC metoksil i hidroksipropil grupama, što povećava njen afinitet prema nepolarnoj fazi i na taj način poboljšava hidrofilni karakter HPMC (Bell, 1990). Rezultati istraživanja Matos i Rosell (2013) takođe su potvrdili da poboljšanje konzistencije bezglutenskog testa u velikoj meri zavisi od prisustva dodatka sa velikom moći vezivanja vode. Pretpostavlja se da uplitanje i povezivanje optimalno hidratisanih

lanaca celuloze i hemiceluloze koji potiču iz vlakana šećerne repe i HPMC stvara dodatni otpor proticanju što dovodi do povećanja koeficijenta konzistencije. Sa druge strane, smanjenje koeficijenta konzistencije zabeleženo je u uzorcima sa 3% HPMC i 230% vode (uzorci 11 i 12, Tabela 14) kao posledica prisustva slobodne vode u sistemu (Ronda i sar., 2013).

5.3.2 DINAMIČKA OSCILATORNA MERENJA BEZGLUTENSKOG TESTA SA VLAKNIMA ŠEĆERNE REPE

Posmatranjem zavisnosti modula od frekvencije definisan je doprinos elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula viskoelastičnim osobinama bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe (Slike 15 i 16). Vrednosti elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula kao i faznog ugla ($\tan \delta$) prikazane su u Tabeli 15. Povećanje vrednosti dinamičkih modula uočeno je sa povećanjem količine vlakana šećerne repe i HPMC, u uzorcima sa identičnim sadržajem vode, pri čemu je uticaj HPMC bio dominantniji.

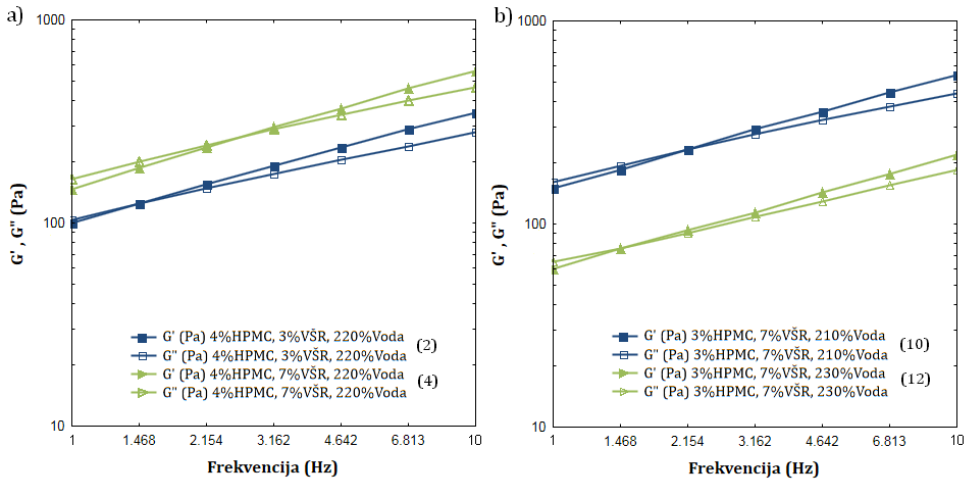
Pojava izjednačavanja vrednosti modula odnosno ukrštanja modula (eng. "crossover point") zabeležena je u uzorcima 2, 4, 8, 9, 10, 12 i 14 pri određenim frekvencijama (Tabela 15). Na frekvencijama nižim od frekvencije ukrštanja modula moduo G'' veći je od modula G' i viskozno ponašanje sistema prevladava (Lapasin, Pricl, 1995). Upoređujući dijagrame promene modula G' i G'' , u oblasti primenjene frekvencije, za uzorke sa 3 i 7% vlakana šećerne repe, pri istoj količini HPMC (4%) i vode (220%) primetno je da se ukrštanje modula dešava na nižim frekvencijama u uzorku sa 3% vlakana šećerne repe (uzorci 2 i 4, Tabela 15, Slika 15a). Ukrštanje modula na nižim frekvencijama zabeleženo je u uzorcima sa 3% HPMC, 7% vlakana šećerne repe i sa različitom količinom vode 210% i 230% (uzorci 10 i 12, Tabela 15, Slika 15b).

Tabela 15. Vrednosti parametara dinamičkih oscilatornih merenja bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe

Br. uzorka	HPMC (%)	VŠR (%)	Voda (%)	Granica		Crossover G'=G'' (Pa)	Crossover frekvencija (Hz)	G' (Pa)	G'' (Pa)	tan δ
				LVR (Pa)	G' (Pa)					
1	2	3	220	0,1	-	-	-	42,36±5,64	57,93±4,99	1,43±0,09
2	4	3	220	0,5	140,15±17,85	1,71±0,31	-	-	-	-
3	2	7	220	0,1	-	-	-	51,35±10,55	66,54±7,57	1,39±0,21
4	4	7	220	0,5	261,35±7,15	2,22±0,44	-	-	-	-
5	2	5	210	0,1	-	-	-	57,46±0,31	70,06±0,27	1,24±0,03
6	4	5	210	0,5	-	-	-	798,21±86,38	596,43±46,40	0,78±0,03
7	2	5	230	0,1	-	-	-	32,45±5,51	41,38±0,13	1,35±0,26
8	4	5	230	1	150±2,30	2,32±0,06	-	-	-	-
9	3	3	210	0,2	222,65±27,15	7,24±1,61	-	-	-	-
10	3	7	210	0,3	201±23,40	1,67±0,61	-	-	-	-
11	3	3	230	0,5	-	-	-	56,32±4,99	71,43±9,79	1,27±0,01
12	3	7	230	0,25	69,94±6,78	1,27±0,27	-	-	-	-
13	3	5	220	0,25	-	-	-	97,48±4,74	109,74±1,76	1,17±0,10
14	3	5	220	0,25	172,25±3,05	3,70±0,09	-	-	-	-
15	3	5	220	0,1	-	-	-	165,77±10,09	166,36±20,79	1,18±0,06

HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe; LVR – linearni viskoelastični region; G' – moduo elastičnosti;

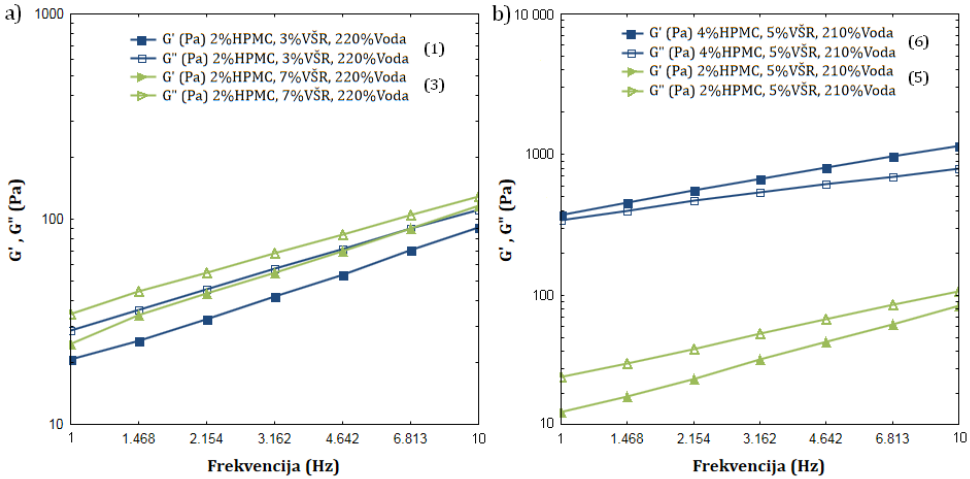
G'' – moduo viskoznosti; tan δ – tangens faznog ugla



Slika 15. Promene G' i G'' modula bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe sa porastom frekvencije a) uzorci 2 i 4; b) uzorci 10 i 12

Ukrštanje modula na nižim frekvencijama koje ukazuje na bržu tranziciju viskozno u elastično ponašanje odlika je koncentrovanijih sistema sa manjim sadržajem vode. Međutim, u ovom istraživanju u bezglutenskom testu sa vlaknima šećerne repe izraženije su elastične osobine u uzorcima sa većim sadržajem vode i povećanim udelom HPMC. Pretpostavlja se da je veća količina vode omogućila bolju disperziju i ispoljavanje hidratacionih osobina HPMC i vlakana šećerne repe. Kroz međusobnu kompeticiju pomenutih hidrofилnih dodataka u vezivanju dostupne vode formirana je održiva struktura bezglutenskog testa što se manifestovalo ukrštanjem modula na nižim frekvencijama.

Vrednosti $\tan \delta > 1$ zabeležene su u uzorcima 1, 3, 5, 7, 11, 13 i 15 ukazujući na dominantno viskozno ponašanje (Tabela 15). Ova netipična dominacija G'' nad G' za bezglutenska testa (Slika 16a) dobijena u pomenutim uzorcima može biti posledica prisustva slobodne vode u sistemu i efekta razblaženja konstituenata (Ronda i sar., 2013), s obzirom da se sa povećanjem sadržaja vode istovremeno povećava i vrednost $\tan \delta$ (Lazaridou i sar., 2007).



Slika 16. Promene G' i G'' modula bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe sa porastom frekvencije a) uzorci 1 i 3; b) uzorci 5 i 6

Ipak, blago smanjenje vrednosti $\tan \delta$ zabeleženo je sa porastom količine vlakana šećerne repe od 3 na 7% u uzorcima sa istom količinom HPMC i vode (uzorci 1 i 3, Tabela 15, Slika 16a). Uzimajući u obzir da građu vlakana šećerne repe većim delom čine celuloza, hemiceluloza i pektin, pretpostavlja se da je velika sposobnost hidratacije ovih vlakana, dovela do blagog povećanja doprinosa G' modula celokupnom viskoelastičnom odgovoru sistema. Značajno smanjenje vrednosti $\tan \delta$ uočeno je sa povećanjem količine HPMC sa 2 na 4% u uzorcima sa 5% vlakana šećerne repe i najmanjom količinom vode (uzorci 5 i 6, Tabela 15, Slika 16b). Pomenuti rezultati su usaglašeni sa istraživanjima Crockett i sar. (2011a) gde je uočeno smanjenje vrednosti $\tan \delta$ sa povećanjem sadržaja HPMC u bezglutenskom testu na bazi pirinčanog brašna. Struktura molekula i konformacija lanca HPMC doprinose velikoj sposobnosti vezivanja vode, obrazovanju manje viskoznog testa i smanjenju vrednosti $\tan \delta$ (Ronda i sar., 2013).

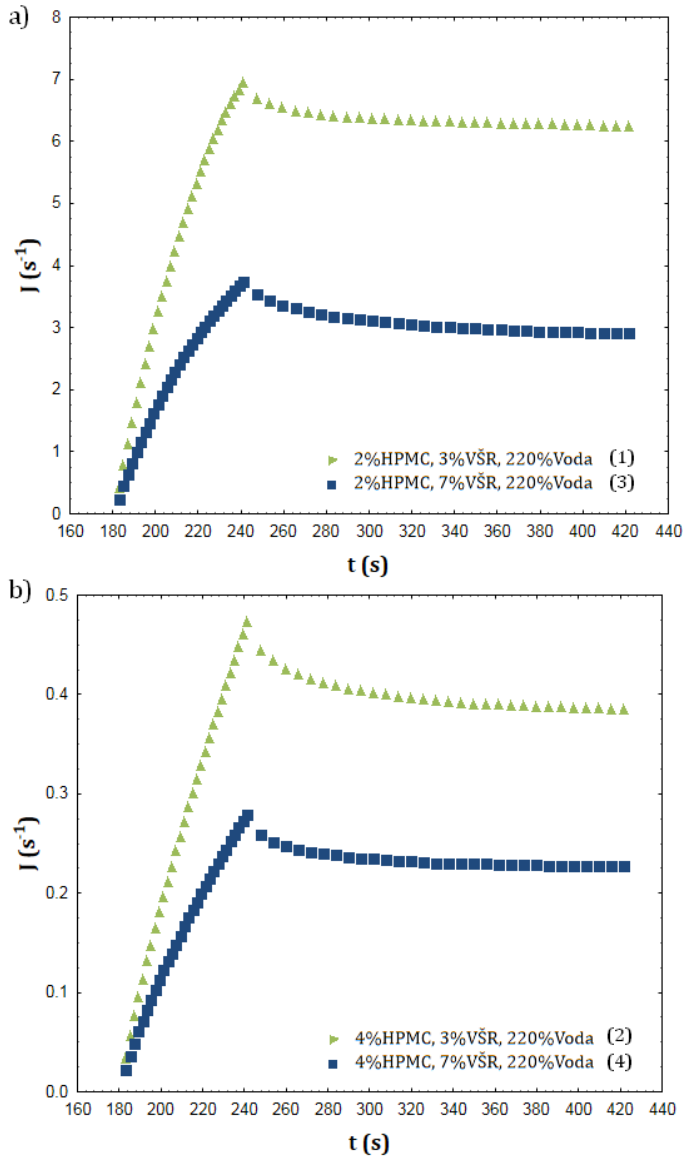
Dominacija G' nad G'' , odnosno vrednost $\tan \delta < 1$ zabeležena je u uzorku sa 4% HPMC, 5% vlakana šećerne repe i najmanjom količinom vode (uzorak 6, Tabela 15, Slika 16b). Elastičnije ponašanje pomenutog uzorka u odnosu na ostale verovatno je uzrokovano povezivanjem i ukrštanjem hidratiranih lanaca celuloze i

hemiceluloze poreklom iz HPMC i vlakana šećerne repe prisutnih u optimalnoj količini.

5.3.3 KRIVE PUZANJA I OPORAVKA BEZGLUTENSKOG TESTA SA VLAKNIMA ŠEĆERNE REPE

Viskoelastično ponašanje bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe pod dejstvom konstantnog napona definisano je krivama puzanja i oporavka predstavljениm na Slici 17. Dobijene krive puzanja i oporavka su matematički opisane primenom *Burgers*-ovog modela za fazu delovanja napona (faza puzanja) i fazu oporavka. Vrednosti karakterističnih parametara predstavljene su u Tabelama 16 i 17.

Sa povećanjem količine vlakana šećerne repe i HPMC zabeleženo je smanjenje vrednosti početne (J_0), viskoelastične naknadne (J_1) i maksimalne popustljivosti (J_{max}) bezglutenskih sistema u fazi puzanja (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 16, Slika 17). Smanjenje vrednosti pomenutih parametara puzavosti ukazuje na to da uzorci sa većim sadržajem vlakana šećerne repe i HPMC ispoljavaju veću otpornost na primenjeni napon pri čemu je uticaj HPMC dominantniji. Istovremeno, bezglutenska testa sa većim sadržajem vlakana šećerne repe i HPMC isticala su se i većim vrednostima Njutnovskog viskoziteta η_0 , odnosno izraženoj „jačini“ bezglutenskog testa (Tabela 16). U fazi oporavka sistema, vrednosti udela elastičnih deformacija (J_e/J_{max}) bile su manje u poređenju sa vrednostima udela viskoznih deformacija (J_v/J_{max}) (Tabela 17) što ukazuje na malu sposobnost bezglutenskog testa da se oporavi nakon prestanka dejstva napona smicanja usled nedostatka glutena koji je nosilac strukture. Pomenuta zapažanja potvrdili su i rezultati statističke analize prikazani u Tabeli 18.



Slika 17. Krive puzanja i oporavka bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe
a) uzorci 1 i 3; b) uzorci 2 i 4

Tabela 16. Vrednosti parametara *Burgers*-ovog modela krivih pužanja i oporavka bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe za fazu delovanja napona

Br. uzorka	HPMC (%)	VŠR (%)	Voda (%)	Faza delovanja napona $J(t) = J_0 + J_1[1 - \exp(-t/\lambda)] + t/\eta_0$				
				J_0 (Pa ⁻¹)	J_1 (Pa ⁻¹)	η_0 (Pa s)	λ (s)	J_{max} (Pa ⁻¹)
1	2	3	220	0,354	1,491	74,90	104,75	4,519
2	4	3	220	0,037	0,173	463,70	104,75	0,525
3	2	7	220	0,195	0,874	110,23	104,75	2,649
4	4	7	220	0,020	0,064	1546,85	104,75	0,194
5	2	5	210	0,559	0,851	93,64	104,70	2,578
6	4	5	210	0,008	0,027	3060,00	104,65	0,081
7	2	5	230	0,078	0,099	1133,45	104,65	0,303
8	4	5	230	0,045	0,231	347,55	104,70	0,699
9	3	3	210	0,051	0,171	1294,10	104,75	0,518
10	3	7	210	0,026	0,104	839,60	104,75	0,315
11	3	3	230	0,009	0,021	3747,50	104,65	0,065
12	3	7	230	0,064	0,275	294,35	104,70	0,833
13	3	5	220	0,123	0,691	115,25	104,75	2,096
14	3	5	220	0,050	0,231	347,90	104,80	0,702
15	3	5	220	0,090	0,471	234,89	104,65	1,357
OSTDEV				0,094	0,225	414,464	0,051	0,680

HPMC – hidrokspipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe; J_0 – početna popustljivost sistema; J_1 – viskoelastična naknadna popustljivost; J_{max} – maksimalna popustljivost sistema; η_0 – Njutnovski viskozitet; λ – srednja vrednost vremena oporavka sistema; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

Tabela 17. Vrednosti parametara *Burgers*-ovog modela krivih pužanja i oporavka bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe za fazu oporavka

Br. uzorka	HPMC (%)	VŠR (%)	Voda (%)	Faza oporavka					$J(t) = J_{max} - J_0 - J_1[1 - \exp(-t/\lambda)]$
				J_0 (Pa ⁻¹)	J_1 (Pa ⁻¹)	η_0 (Pas)	λ (s)	J_e/J_{max} (%)	
1	2	3	220	4,253	1,314	156,35	183,20	0,140	0,860
2	4	3	220	0,495	0,143	980,20	183,20	0,172	0,828
3	2	7	220	2,471	0,639	292,05	183,25	0,301	0,699
4	4	7	220	0,169	0,040	14329,50	183,20	0,520	0,480
5	2	5	210	2,354	0,519	325,45	183,20	0,402	0,598
6	4	5	210	0,073	0,022	7249,00	183,10	0,220	0,780
7	2	5	230	0,226	0,069	5117,50	183,05	0,429	0,571
8	4	5	230	0,669	0,199	706,80	183,20	0,139	0,861
9	3	3	210	0,467	0,117	8427,45	183,20	0,507	0,493
10	3	7	210	0,287	0,078	2386,50	183,20	0,297	0,703
11	3	3	230	0,054	0,012	11675,00	183,05	0,434	0,566
12	3	7	230	0,775	0,215	660,45	183,20	0,220	0,780
13	3	5	220	2,029	0,645	218,25	183,25	0,070	0,930
14	3	5	220	0,661	0,187	759,10	183,25	0,196	0,804
15	3	5	220	0,856	0,593	543,20	183,25	0,098	0,902
OSTDEV				0,680	0,210	409,28	0,033	0,153	0,153

HPMC – hidrokspipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe; J_0 – početna popustljivost sistema; J_1 – viskoelastična naknadna popustljivost; J_{max} – maksimalna popustljivost sistema; η_0 – Njutnovski viskozitet; λ – srednja vrednost vremena oporavka sistema; J_e/J_{max} – udeo elastičnih deformacija; J_v/J_{max} – udeo viskoznih deformacija; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

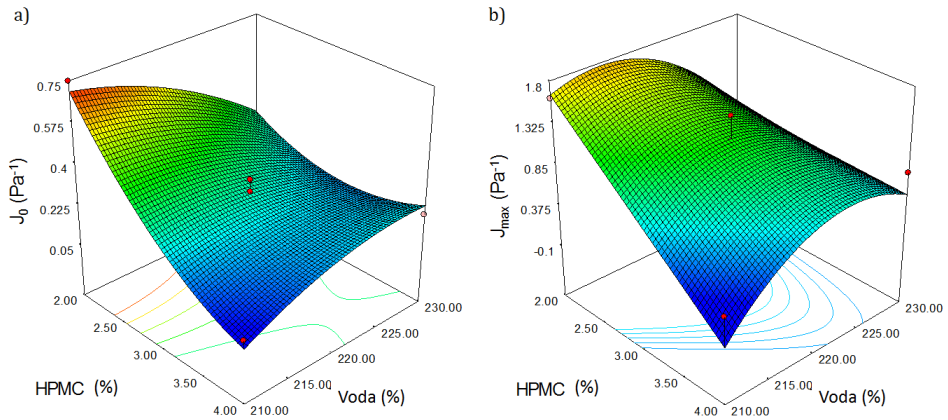
Uticaj količine HPMC, vlakana šećerne repe i vode kao nezavisno promenljivih na parametre puzavosti J_0 , J_{\max} i η_0 bezglutenskog testa određen je primenom kvadratne regresione jednačine, a dobijeni koeficijenti prikazani su u Tabeli 18.

Tabela 18. Vrednosti koeficijenata regresione jednačine za parametre krivih puzanja i oporavka bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe

Član	J_0 (Pa ⁻¹)	J_{\max} (Pa ⁻¹)	η_0 (Pa s)
Odsečak	-13,02	-189,79	5631,57
Linearni			
HPMC	-4,09*	-9,42*	342,68*
VŠR	-0,55	-2,34	99,96
Voda	0,19	1,93	-58,08
Kvadratni			
HPMC²	0,10	-	-
VŠR²	-0,01	-	-
Voda²	$-5,91 \times 10^{-4}$	$-4,80 \times 10^{-3*}$	0,15*
Interakcioni			
HPMC×VŠR	0,01	0,03	-
HPMC×Voda	0,02*	0,04	-1,52*
Voda×VŠR	$2,83 \times 10^{-3}$	0,01	-0,46
R²	0,93	0,81	0,75
Lack of fit	0,37	0,48	0,01

*koeficijenti su statistički značajni $p < 0,05$; HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe; J_0 – početna popustljivost sistema; J_{\max} – maksimalna popustljivost sistema; η_0 – Njutnovski viskozitet

Značajno smanjenje J_0 (statistički značajan negativan linearni koeficijent, Tabela 18) uočeno je sa povećanjem količine HPMC u bezglutenskom testu (Slika 18a). HPMC sa identičnim sadržajem metoksi i hidroksipropil grupa korišćenu u ovom istraživanju koristili su i Ronda i sar. (2013) prilikom ispitivanja fundamentalnih reoloških osobina bezglutenskog testa na bazi pirinčanog brašna. Pomenuti autori su takođe zabeležili smanjenje J_0 sa povećanjem sadržaja HPMC i vode u bezglutenskom testu. Pojavu smanjenja početne elastične popustljivosti bezglutenskog sistema pomenuti autori su objasnili činjenicom da za formiranje gela i ojačavanje strukture bezglutenskog testa HPMC zahteva prisustvo dovoljne količine vode u sistemu.



Slika 18. Uticaj količine hidroksipropil metil celuloze (HPMC) i vode na a) početnu (J_0) i b) maksimalnu (J_{max}) popustljivost bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe

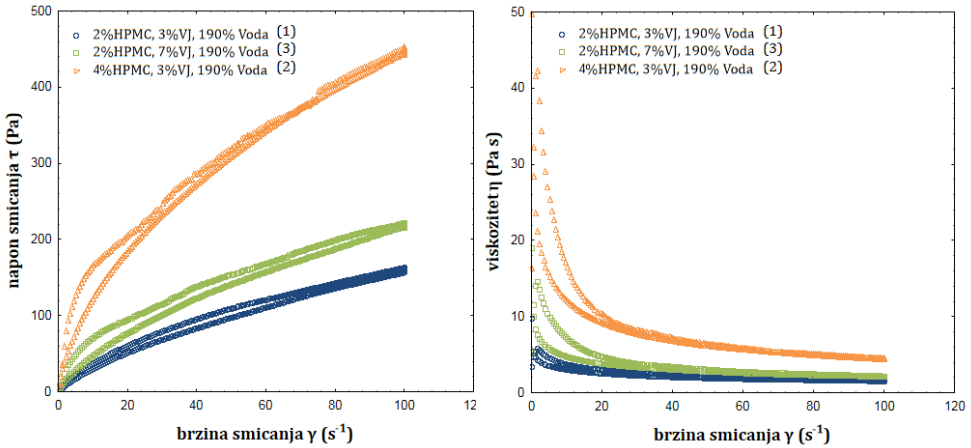
Sa druge strane, nizak stepen povezanosti molekula u suspenziji vlakana šećerne repe i vode doveo je samo do blagog smanjenja J_0 (negativan linearni koeficijent, Tabela 18) u uzorcima sa malom količinom vode. Pozitivni predznak statistički značajnog koeficijenta interakcije HPMC i vode ukazuje na mogućnost povećanja J_0 (Slika 18a) s obzirom da je zajednički efekat ovih dodataka na bezglutensko testo veći od njihovih pojedinačnih uticaja. HPMC i voda kao nezavisno promenljive su takođe imale najznačajniji uticaj i na maksimalnu popustljivost (J_{max}) bezglutenskog testa (negativni linearni i kvadratni koeficijenti, Tabela 18). U uzorcima sa malom količinom vode povećanje sadržaja HPMC dovelo je do naglog smanjenja J_{max} što se manifestovalo povećanom otpornošću bezglutenskog testa na deformaciju (Slika 18b). Suprotan efekat zabeležen je sa povećanjem količine vode u uzorcima sa 4% HPMC što ukazuje na veću deformaciju bezglutenskog testa pod dejstvom konstantnog napona. Sagledavajući dobijene rezultate, može se reći da voda predstavlja ključnu komponentu za optimizaciju reoloških osobina bezglutenskog testa s obzirom da na pomenute osobine može delovati dvojako: direktnim uticajem koji se ogleda u promeni „koncentracije“ dodatih komponentata u reološkom sistemu i indirektno kroz interakciju sa hidrokolidima (Ronda i sar., 2013).

Značajno povećanje Njutnovskog viskoziteta (η_0) zabeleženo je sa povećanjem količine HPMC (pozitivan linearni koeficijent, Tabela 18) i može se pripisati velikoj hidrofilnosti i sposobnosti HPMC da u prisustvu vode obrazuje gel strukturu (Bell, 1990). Doprinos vlakana šećerne repe povećanju η_0 bio je minimalan s obzirom na to da ih karakteriše velika hidrofilnost, ali nemaju sposobnost umrežavanja i strukturacije. Suprotan efekat, odnosno smanjenje η_0 uočeno je sa povećanjem sadržaja vode u uzorcima (negativan linearni i statistički značajan pozitivan kvadratni koeficijent, Tabela 18). U uzorcima bezglutenskog testa sa maksimalnim sadržajem vode uticaj HPMC na η_0 je izostao zbog interakcije HPMC i vode (statistički značajan negativan koeficijent interakcije, Tabela 18) što ukazuje da je viskozitet bezglutenskog sistema kao izlazni parametar uslovljen i sadržajem vode i količinom HPMC kao nezavisno promenljivim veličinama.

5.4 UTICAJ VLAKANA JABUKE NA FUNDAMENTALNE REOLOŠKE OSOBINE BEZGLUTENSKOG TESTA

5.4.1 KRIVE PROTICANJA BEZGLUTENSKOG TESTA SA VLAKNIMA JABUKE

Ponašanje bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke prilikom proticanja definisano je krivama proticanja predstavljenim na Slici 19. Pojava formiranja manjih histerezisnih površina karakteristična je za sve krive i ukazuje na određeni stepen strukturacije sistema. Pretpostavlja se da međusobne interakcije lanaca HPMC i vlakana jabuke utiču na pomenutu strukturaciju. Međutim, male histerezisne površine ukazuju na prisustvo slabih sekundarnih veza u ovim interakcijama, pa se ovako formirana struktura lako razrušava. Uočava se i da povećanje količine HPMC u uzorcima dovodi do povećanja njihovog viskoziteta. Pomenuti uticaj HPMC je značajniji u poređenju sa uticajem količine vlakana jabuke (Slika 19).



Slika 19. Krive proticanja i viskoziteta bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke uzorci 1, 2 i 3

Primenom *Stepenog zakona* dobijene krive proticanja opisane su preko koeficijenta konzistencije K i indeksa proticanja n (Tabela 19). Dobijene visoke vrednosti koeficijenta determinacije (R^2) od 0,991 do 0,999 za uzlaznu, i od 0,998 do 0,999 za silaznu krivu (Tabela 19) ukazuju na adekvatnost *Stepenog zakona* za opisivanje eksperimentalnih podataka.

Bezglutensko testo sa vlaknima jabuke ispoljava pseudoplastično ponašanje što potvrđuju vrednosti indeksa proticanja $n < 1$ (Tabela 19). Suprotno vlaknima šećerne repe, povećanje količine vlakana jabuke sa 3 na 7% dovelo je do smanjenja vrednosti indeksa proticanja i povećanja pseudoplastičnosti bezglutenskog sistema (uzorci 1 i 3, 2 i 4, 9 i 10, 11 i 12, Tabela 19, Slika 19). Identičan efekat zabeležen je i prilikom povećanja sadržaja HPMC sa 2 na 4% u uzorcima sa istim sadržajem vlakana jabuke i vode (uzorci 1 i 2, 3 i 4, 7 i 8, Tabela 19). Dobijene vrednosti indeksa proticanja za bezglutenska testa sa vlaknima jabuke, kao i sa vlaknima šećerne repe, značajno su veće od literaturnih podataka za bezglutenska testa sa vlaknima poreklom iz žita (Sabanis i sar., 2009).

Tabela 19. Vrednosti parametara *Power-law* modela krivih proticanja bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke

Br. uzorka	HPMC (%)	VJ (%)	Voda (%)	$\tau = K \cdot \gamma^n$					
				Uzlazna kriva		Silazna kriva			
				K (Pa s ⁿ)	n	R^2	K (Pa s ⁿ)	n	R^2
1	2	3	190	1,80 ^a	0,99 ^c	0,999	5,05 ^a	0,74 ^g	0,999
2	4	3	190	7,56 ^{cdef}	0,89 ^{ab}	0,997	23,69 ^{cd}	0,64 ^{cdef}	0,999
3	2	7	190	3,62 ^{ab}	0,89 ^b	0,999	9,57 ^{ab}	0,68 ^{fg}	0,999
4	4	7	190	12,16 ^g	0,83 ^{ab}	0,991	44,83 ^f	0,55 ^{ab}	0,999
5	2	5	180	20,05 ^h	0,80 ^a	0,994	59,96 ^g	0,56 ^{abc}	0,999
6	4	5	180	16,61 ^h	0,80 ^a	0,991	48,85 ^f	0,57 ^{abcd}	0,999
7	2	5	200	3,89 ^{abc}	0,87 ^{ab}	0,997	9,69 ^{ab}	0,67 ^{efg}	0,999
8	4	5	200	10,36 ^{fg}	0,83 ^{ab}	0,995	32,67 ^e	0,58 ^{abcde}	0,999
9	3	3	180	26,42 ⁱ	0,82 ^{ab}	0,997	96,82 ^h	0,52 ^a	0,998
10	3	7	180	9,93 ^{efg}	0,81 ^{ab}	0,996	28,02 ^{de}	0,59 ^{abcde}	0,999
11	3	3	200	8,18 ^{def}	0,88 ^{ab}	0,999	22,81 ^{cd}	0,65 ^{def}	0,999
12	3	7	200	7,41 ^{bcd^{ef}}	0,82 ^{ab}	0,999	18,39 ^{bc}	0,62 ^{bcd^{ef}}	0,999
13	3	5	190	6,01 ^{bcd}	0,85 ^{ab}	0,997	14,62 ^{bc}	0,65 ^{cdef}	0,999
14	3	5	190	6,44 ^{bcd^e}	0,84 ^{ab}	0,999	20,58 ^{cd}	0,53 ^{abcde}	0,999
15	3	5	190	6,31 ^{bcd^e}	0,83 ^{ab}	0,999	16,43 ^{bc}	0,61 ^{bcd^{ef}}	0,999
OSTDEV				1,15	0,02		2,64	0,03	

Srednje vrednosti svakog parametra u koloni označene različitim slovima su statistički značajno različite ($p < 0,05$);

HPMC – hidrokisipropil meril celuloza; VJ – vlakna jabuke; K – koeficijent konzistencije; n – indeks proticanja;

OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

Povećanje vrednosti koeficijenta konzistencije K zabeleženo je sa povećanjem sadržaja vlakana jabuke od 3 na 7% pri istom sadržaju HPMC i vode (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 19, Slika 19). Suprotno tome, u uzorcima sa minimalnim sadržajem vode povećanje količine vlakana jabuke sa 3 na 7% (uzorci 9 i 10, Tabela 19) i HPMC sa 2 na 4% (uzorci 5 i 6, Tabela 19) rezultovalo je smanjenjem koeficijenta konzistencije. Pojava smanjenja vrednosti pomenutog parametra u navedenim uzorcima može se objasniti nedovoljnom količinom vode da vlakna jabuke i HPMC u potpunosti ispolje svoj hidrofilni karakter i time utiču na konzistenciju bezglutenskog testa (Ronda i sar., 2013).

5.4.2 DINAMIČKA OSCILATORNA MERENJA BEZGLUTENSKOG TESTA SA VLAKNIMA JABUKE

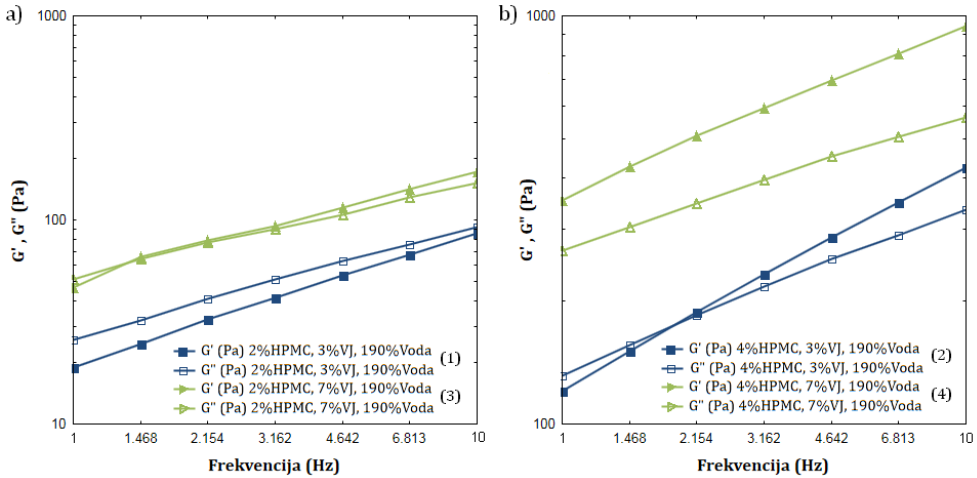
Doprinos elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula viskoelastičnim osobinama bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke definisan je posmatranjem zavisnosti pomenutih modula od frekvencije (Slika 20), a njihove vrednosti kao i vrednosti $\tan \delta$ prikazane su u Tabeli 20. Sa povećanjem sadržaja vlakana jabuke i HPMC, pri identičnom sadržaju vode u uzorcima, uočeno je povećanje vrednosti dinamičkih modula pri čemu je uticaj HPMC bio dominantniji.

Pojava ukrštanja modula (eng. "crossover point") odnosno izjednačavanja njihovih vrednosti na određenim frekvencijama uočena je u uzorcima 2, 3, 11 i 14 (Tabela 20). Na osnovu dijagrama promene modula G' i G'' u oblasti primenjene frekvencije primetno je da se ukrštanje modula za uzorke sa 3% vlakana jabuke i 4% HPMC i 5% vlakana jabuke i 3% HPMC, pri sadržaju vode od 190%, dešava na nižoj frekvenciji (uzorci 2 i 14, Slika 20a, Tabela 20).

Tabela 20. Vrednosti parametara dinamičkih oscilatornih merenja bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke

Br. uzorka	HPMC (%)	VJ (%)	Voda (%)	Granica LVR (Pa)	Crossover G'=G'' (Pa)	Crossover frekvencija (Hz)	G' (Pa)	G'' (Pa)	tan δ
1	2	3	190	0,15	-	-	49,10±2,72	59,90±5,49	1,27±0,06
2	4	3	190	0,5	153,75±21,15	1,56±0,34	-	-	-
3	2	7	190	0,2	82,83±18,77	2,38±0,98	-	-	-
4	4	7	190	0,25	-	-	612,56±5,44	394,44±10,46	0,66±0,01
5	2	5	180	0,6	-	-	754,73±24,43	502,97±17,34	0,68±0,002
6	4	5	180	0,5	-	-	630,99±32,14	419,91±17,20	0,68±0,007
7	2	5	200	0,15	-	-	88,30±4,64	101,11±0,45	1,20±0,07
8	4	5	200	0,6	-	-	449,94±34,41	326,93±23,30	0,75±0,004
9	3	3	180	0,4	-	-	891,95±49,88	662,01±40,11	0,77±0,006
10	3	7	180	0,3	-	-	350,56±17,07	271,31±7,49	0,80±0,02
11	3	3	200	0,25	195,00±13,60	1,90±0,36	-	-	-
12	3	7	200	0,25	-	-	224,94±9,41	187,74±6,39	0,86±0,009
13	3	5	190	0,25	-	-	258,76±28,81	198,96±17,26	0,79±0,02
14	3	5	190	0,2	122,10±3,50	1,44±0,09	-	-	-
15	3	5	190	0,15	-	-	336,23±4,78	272,12±5,56	0,81±0,04

HPMC – hidrokspipropil metil celuloza; VJ – vlakna jabuke; LVR – linearni viskoelastični region; G' – moduo elastičnosti; G'' – moduo viskoznosti; tan δ – tangens faznog ugla



Slika 20. Promene G' i G'' modula bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke sa porastom frekvencije a) uzorci 1 i 3; b) uzorci 2 i 4

Ukrštanje modula na nižim frekvencijama ukazuje na elastičniji odgovor kod pomenutih uzoraka usled povećanja koncentracije konstituenata što je u skladu sa rezultatima prethodnih istraživanja za bezglutensko testo sa vlaknima jabuke (Rocha Parra i sar., 2015).

Za razliku od bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe kod većine uzoraka sa vlaknima jabuke uočena je dominacija G' nad G'' u čitavom opsegu primenjenih frekvencija, pa su i vrednosti $\tan \delta < 1$ za uzorke 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13 i 15 (Tabela 20, Slika 20b). Povećanje količine vlakana jabuke sa 3 na 7% u uzorcima sa 2% HPMC i 190% vode (uzorci 1 i 3, Tabela 20) dovelo je do povećanja G' modula bezglutenskog sistema što se manifestovalo kroz tranziciju dominantnog viskozno ponašanja bezglutenskog testa u viskoelastično (Slika 20a). Takođe, u uzorcima sa 4% HPMC, pri identičnoj količini vode, uočeno je da povećanje sadržaja vlakana jabuke rezultuje promenom viskoelastičnog u dominantno elastično ponašanje testa (uzorci 2 i 4, Tabela 20, Slika 20b). Blago povećanje vrednosti $\tan \delta$ sa povećanjem sadržaja vlakana jabuke zabeleženo je u uzorcima sa 3% HPMC i minimalnom količinom vode (uzorci 9 i 10, Tabela 20), međutim, kod pomenutih uzoraka je takođe dominiralo elastično ponašanje ($\tan \delta < 1$). Iako celuloza, hemiceluloza, lignin i pektin čine osnovnu građu vlakana jabuke (Nawirska, Kwaśniewska, 2005) pretpostavlja se da je mali kapacitet vezivanja vode vlakana jabuke, u poređenju sa vlaknima šećerne repe, i prisustvo

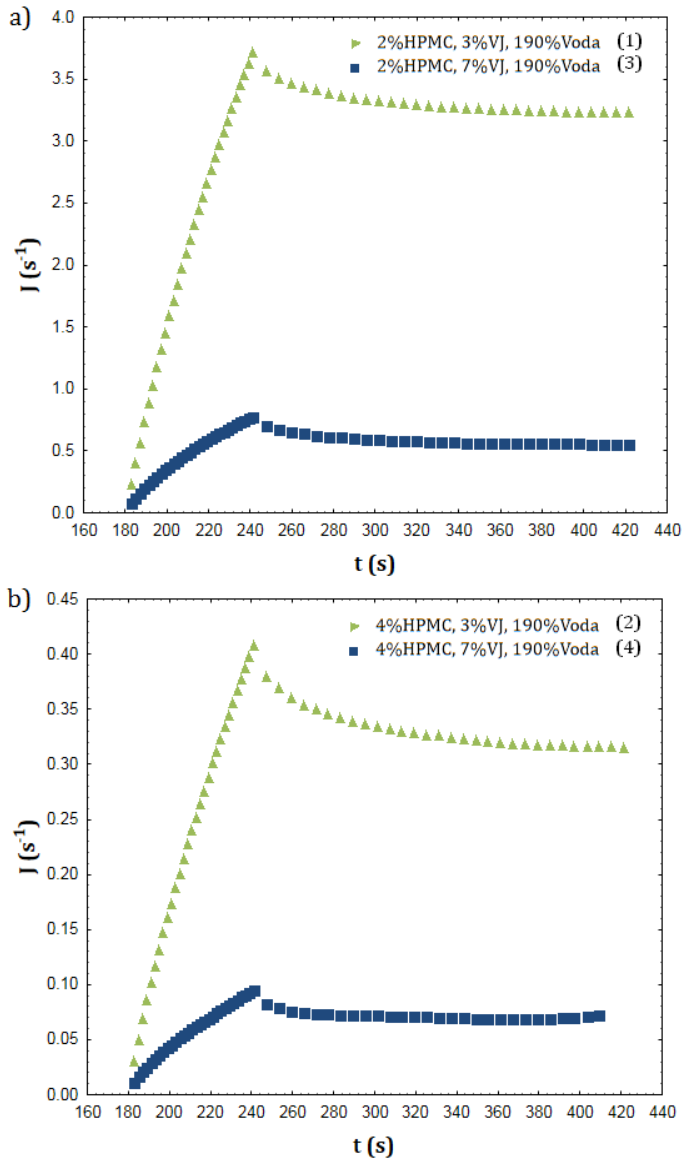
manje količine HPMC uzrokovalo blago povećanje $\tan \delta$ u navedenom uzorku. Značajno smanjenje vrednosti $\tan \delta$ uočeno je i sa povećanjem sadržaja HPMC sa 2 na 4% u uzorcima sa 5% vlakana jabuke i 200% vode (uzorci 7 i 8, Tabela 20) kao posledica velike hidrofилnosti molekula HPMC (Bell, 1990).

Dominantno viskozno ponašanje, odnosno vrednosti $\tan \delta > 1$ uočene su samo u uzorcima 1 i 7 usled prisustva veće količine slobodne vode u sistemu i efekta „razblaženja“ konstituenata (Ronda i sar., 2013).

5.4.3 KRIVE PUZANJA I OPORAVKA BEZGLUTENSKOG TESTA SA VLAKNIMA JABUKE

Krivama puzanja i oporavka definisano je viskoelastično ponašanje bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke pod dejstvom konstantnog napona (Slika 21). *Burgers*–ov model primenjen je za matematički opis dobijenih krivih puzanja i oporavka, a vrednosti karakterističnih parametara date su u Tabeli 21 za fazu delovanja napona i Tabeli 22 za fazu oporavka.

U fazi delovanja napona povećanje sadržaja vlakana jabuke i HPMC dovelo je do smanjenja vrednosti početne (J_0), viskoelastične naknadne (J_1) i maksimalne popustljivosti (J_{max}) bezglutenskih sistema (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 21, Slika 21), što se manifestuje većom otpornošću pomenutih uzoraka na primenjeni napon, a praćeno je i povećanjem vrednosti Njutnovskog viskoziteta η_0 (Tabela 21). Vrednosti udela elastičnih deformacija (J_e/J_{max}) bile su manje u odnosu na vrednosti udela viskoznih deformacija (J_v/J_{max}) u fazi oporavka sistema (Tabela 22), što se odražava malom sposobnošću oporavka bezglutenskog testa nakon prestanka dejstva napona smicanja.



Slika 21. Krive puzanja i oporavka bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke
a) uzorci 1 i 3; b) uzorci 2 i 4

Tabela 21. Vrednosti parametara *Burgers*-ovog modela krivih pužanja i oporavka bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke za fazu delovanja napona

Br. uzorka	HPMC (%)	VI (%)	Voda (%)	Faza delovanja napona				
				J_0 (Pa ⁻¹)	J_1 (Pa ⁻¹)	η_0 (Pas)	λ (s)	J_{max} (Pa ⁻¹)
1	2	3	190	0,211	1,070	75,88	104,75	3,244
2	4	3	190	0,030	0,126	632,95	104,70	0,382
3	2	7	190	0,074	0,254	313,25	104,75	0,770
4	4	7	190	0,011	0,030	2677,50	104,70	0,090
5	2	5	180	0,008	0,021	3870,50	104,80	0,062
6	4	5	180	0,011	0,028	2948,50	104,75	0,084
7	2	5	200	0,107	0,384	212,45	104,80	1,163
8	4	5	200	0,018	0,057	1437,00	104,75	0,173
9	3	3	180	0,007	0,022	3642,50	104,75	0,066
10	3	7	180	0,022	0,073	1095,50	104,80	0,220
11	3	3	200	0,028	0,120	663,40	104,80	0,365
12	3	7	200	0,037	0,138	590,15	104,75	0,420
13	3	5	190	0,036	0,122	656,90	104,90	0,371
14	3	5	190	0,046	0,175	459,05	104,95	0,531
15	3	5	190	0,051	0,153	407,54	104,90	0,559
OSTDEV				0,005	0,044	121,750	0,069	0,134

HPMC – hidrokspirpoli metil celuloza; VI – vlakna jabuke; J_0 – početna popustljivost sistema;

J_1 – viskoelastična naknadna popustljivost; J_{max} – maksimalna popustljivost sistema; η_0 – Njutnovski viskozitet;

λ – srednja vrednost vremena oporavka sistema; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

Tabela 22. Vrednosti parametara *Burgers*-ovog modela krivih pužanja i oporavka bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke za fazu oporavka

Br. uzorka	HPMC (%)	VJ (%)	Voda (%)	Faza oporavka						
				J_0 (Pa ⁻¹)	J_1 (Pa ⁻¹)	η_0 (Pa s)	λ (s)	J_e/J_{max} (%)	J_v/J_{max} (%)	J_e/J_{max} (%)
1	2	3	190	3,099	0,904	159,00	183,15	0,160	0,840	
2	4	3	190	0,356	0,097	1440,50	183,10	0,231	0,769	
3	2	7	190	0,702	0,192	727,50	183,35	0,244	0,756	
4	4	7	190	0,078	0,021	6763,50	183,10	0,296	0,704	
5	2	5	180	0,053	0,014	9614,50	183,20	0,296	0,704	
6	4	5	180	0,072	0,020	7498,00	183,20	0,295	0,705	
7	2	5	200	1,076	0,281	530,95	183,30	0,280	0,720	
8	4	5	200	0,153	0,039	3728,00	183,25	0,324	0,676	
9	3	3	180	0,057	0,011	12985,00	183,25	0,495	0,505	
10	3	7	180	0,199	0,060	2347,50	183,25	0,182	0,818	
11	3	3	200	0,339	0,095	1459,50	183,20	0,206	0,794	
12	3	7	200	0,383	0,106	1352,00	183,25	0,234	0,766	
13	3	5	190	0,334	0,083	1677,50	183,40	0,316	0,684	
14	3	5	190	0,494	0,156	929,65	183,45	0,120	0,880	
15	3	5	190	0,395	0,112	1043,56	183,40	0,174	0,637	
OSTDEV				0,133	0,047	539,087	0,069	0,051	0,051	

HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VJ – vlakna jabuke; J_0 – početna popustljivost sistema; J_1 – viskoelastična naknadna popustljivost; J_{max} – maksimalna popustljivost sistema; η_0 – Njutnovski viskozitet; λ – srednja vrednost vremena oporavka sistema; J_e/J_{max} – udeo elastičnih deformacija; J_v/J_{max} – udeo viskoznih deformacija; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

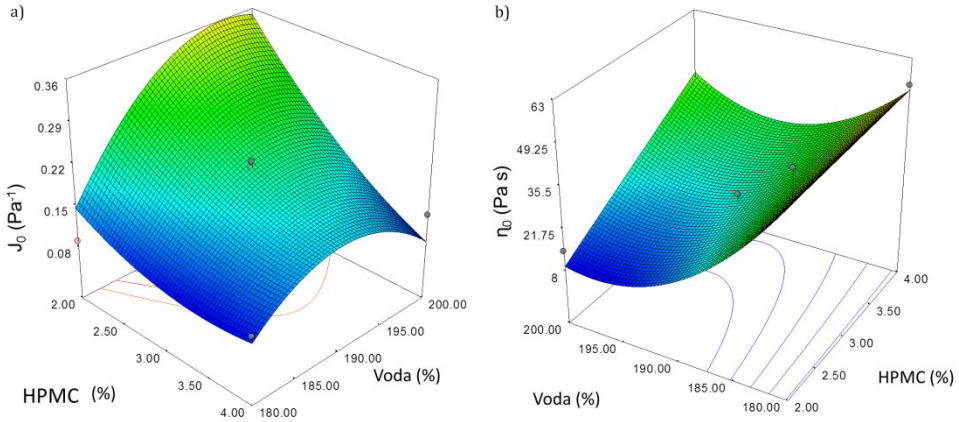
Primenom kvadratne regresione jednačine određen je uticaj količine HPMC, vlakana jabuke i vode na parametre puzavosti J_0 , J_{max} i η_0 bezglutenskog testa a dobijeni koeficijenti predstavljeni su u Tabeli 23.

Tabela 23. Vrednosti koeficijenata regresione jednačine za parametre krivih puzanja i oporavka bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke

Član	J_0 (Pa ⁻¹)	J_{max} (Pa ⁻¹)	η_0 (Pa s)
Odsečak	-30,58	-122,43	6309,84
Linearni			
HPMC	0,66*	2,66*	-140,18
VJ	-0,06	-0,29	-60,83
Voda	0,31	1,25	-61,15*
Kvadratni			
HPMC²	0,03	-	-
VJ²	-	-	-
Voda²	-7,67×10 ⁻⁴	-3,10×10 ⁻³	0,15*
Interakcioni			
HPMC×VJ	0,02	0,08	-
HPMC×Voda	-5,15×10 ⁻³	-0,02	0,78
Voda×VJ	-	-	0,32
R²	0,79	0,75	0,78
Lack of fit	0,06	0,06	0,05

*koeficijenti su statistički značajni $p < 0,05$; HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VJ – vlakna jabuke; J_0 – početna popustljivost sistema; J_{max} – maksimalna popustljivost sistema; η_0 – Njutnovski viskozitet

Povećanje sadržaja HPMC uslovalo je značajno smanjenje J_0 i J_{max} (statistički značajni linearni koeficijenti, Tabela 23, Slika 22a). Nastale promene ukazuju na jačanje strukture bezglutenskog testa i povećanje otpora na deformaciju što je rezultat sposobnosti HPMC da formira gel (Ronda i sar., 2013). Blago smanjenje J_0 i J_{max} zabeleženo je i sa povećanjem sadržaja vlakana jabuke (negativni linearni koeficijenti, Tabela 23) u uzorcima sa 190% vode. Prema literaturnim navodima rastvorljiva vlakna imaju sposobnost da obrazuju viskozne rastvore, pa se pretpostavlja da je pektin jabuke (O’Shea i sar., 2015b) uzrokovao ojačavanje stukture, odnosno smanjenje popustljivosti bezglutenskog sistema. Suprotno tome, povećanje količine vode uzrokovalo je povećanje J_0 i J_{max} koje je posebno izraženo u uzorcima sa malim sadržajem HPMC (Slika 22a). Pomenuto povećanje popustljivosti rezultovalo je neželjenim povećanjem deformacije bezglutenskog testa prilikom primene konstantnog napona.



Slika 22. Uticaj količine hidroksipropil metil celuloze (HPMC) i vode na a) početnu popustljivost (J_0) i b) Njutnovski viskozitet (η_0) bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke

Efekat HPMC na Njutnovski viskozitet (η_0) nije bio statistički značajan ali je zabeleženo povećanje η_0 sa povećanjem količine HPMC (Slika 22b). Suprotan efekat, zabeležen je pri povećanju sadržaja vlakana jabuke i vode u uzorcima, ali su jedino linearni i kvadratni koeficijenti za količinu vode kao nezavisno promenljivu imali statistički značajan uticaj na viskozitet (Tabela 23, Slika 22b). I u ovom slučaju rezultati potvrđuju veoma bitnu ulogu vode u formiranju bezglutenskog testa optimalnih reoloških osobina, posebno ako su u bezglutenskom sistemu prisutni i hidrokoloidi i vlakna.

5.5 UTICAJ VLAKANA ŠEĆERNE REPE NA KVALITET BEZGLUTENSKOG HLEBA

5.5.1 BOJA KORE I SREDINE BEZGLUTENSKOG HLEBA SA VLAKNIMA ŠEĆERNE REPE

Vrednosti parametara boje L*, a* i b* kore i sredine kao i izračunati indeks tamnjenja i indeks beline bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe dati su u Tabelama 24 i 25.

Tabela 24. Parametri boje kore bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe

Br. uzorka	HPMC (%)	VŠR (%)	Voda (%)	Boja kore			
				L*	a*	b*	IT
1	2	3	220	57,27 ^{abcd}	7,15 ^{ab}	31,87 ^{bcd}	86,14 ^{abcde}
2	4	3	220	65,44 ^f	5,82 ^a	35,20 ^{ef}	80,26 ^a
3	2	7	220	56,15 ^{ab}	10,28 ^{de}	30,82 ^{ab}	89,03 ^{abcde}
4	4	7	220	56,50 ^{abc}	9,29 ^{bcd}	30,83 ^{ab}	87,16 ^{abcde}
5	2	5	210	61,29 ^e	7,55 ^{abc}	37,04 ^f	96,45 ^{ef}
6	4	5	210	59,39 ^{bcde}	10,81 ^{de}	33,86 ^{de}	93,18 ^{cdef}
7	2	5	230	60,60 ^{de}	9,39 ^{cde}	34,49 ^e	91,39 ^{bcdef}
8	4	5	230	60,23 ^{cde}	10,21 ^{de}	31,08 ^{ab}	81,84 ^{ab}
9	3	3	210	54,96 ^a	10,81 ^{de}	31,09 ^{ab}	93,54 ^{def}
10	3	7	210	58,92 ^{bcde}	8,66 ^{bcd}	31,53 ^{bc}	83,93 ^{abcd}
11	3	3	230	55,55 ^{ab}	11,59 ^e	33,24 ^{cde}	100,95 ^f
12	3	7	230	59,30 ^{bcde}	7,18 ^{abc}	32,06 ^{bcd}	82,67 ^{abc}
13	3	5	220	53,91 ^a	9,96 ^{de}	29,01 ^a	87,11 ^{abcde}
14	3	5	220	53,45 ^a	7,78 ^{abc}	30,21 ^{ab}	89,58 ^{abcde}
15	3	5	220	54,82 ^a	8,68 ^{bcd}	29,06 ^a	83,72 ^{abcd}
OSTDEV				2,37	1,38	1,28	6,55

Srednje vrednosti svakog parametra u koloni označene različitim slovima su statistički značajno različite ($p < 0.05$); HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe; L* - svetloća boje; a* - udeo crvene (+) ili zelene (-) boje; b* - udeo žute (+) ili plave (-) boje; IT - indeks tamnjenja; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

Povećanje sadržaja vlakana šećerne repe sa 3 na 7% manifestovalo se tamnijom korom (manje vrednosti parametra L* i veće vrednosti indeksa tamnjenja) u uzorcima sa 2 i 4% HPMC i 220% vode (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 24) što je u skladu sa rezultatima prethodnih istraživanja za bezglutenske hlebove sa prehrambenim vlaknima (Martínez i sar., 2014; Rocha Parra i sar., 2015; Sabanis i sar., 2009). Međutim, u uzorcima sa 3% HPMC povećanje količine vlakana šećerne repe rezultovalo je svetlijom korom bezglutenskog hleba (uzorci, 9 i 10, 11 i 12, Tabela 24). Pomenuti uticaj vlakana šećerne repe rezultat je sporijeg odvijanja Maillard-ovih reakcija usled efekta „razblaženja“ prekursora ove reakcije uzrokovanog prisustvom veće količine vode (Pérez-Quirce i sar., 2014).

Tabela 25. Parametri boje sredine bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe

Br. uzorka	HPMC (%)	VŠR (%)	Voda (%)	Boja sredine			
				L*	a*	b*	IB
1	2	3	220	73,18 ^{cdef}	-3,89 ^a	27,87 ^{de}	61,01 ^{bc}
2	4	3	220	72,38 ^{abcdef}	-3,19 ^{cd}	28,96 ^e	59,79 ^b
3	2	7	220	76,76 ^{fg}	-3,88 ^a	24,71 ^c	65,81 ^{ef}
4	4	7	220	72,68 ^{bcdef}	-3,59 ^{abc}	20,70 ^a	65,45 ^{def}
5	2	5	210	67,73 ^a	-2,94 ^d	28,38 ^e	56,54 ^a
6	4	5	210	78,35 ^g	-3,53 ^{abc}	24,57 ^c	66,98 ^f
7	2	5	230	75,90 ^{efg}	-3,45 ^{abc}	29,01 ^e	62,12 ^{bc}
8	4	5	230	71,68 ^{abcde}	-3,78 ^{ab}	23,23 ^{bc}	63,14 ^{cdef}
9	3	3	210	71,40 ^{abcde}	-3,84 ^a	24,01 ^c	62,36 ^{bc}
10	3	7	210	68,60 ^{abc}	-3,39 ^{bc}	23,13 ^{bc}	60,69 ^{bc}
11	3	3	230	71,51 ^{abcde}	-3,83 ^a	25,71 ^{cd}	61,40 ^{bc}
12	3	7	230	73,65 ^{def}	-3,85 ^a	25,60 ^{cd}	62,92 ^{bcde}
13	3	5	220	71,41 ^{abcde}	-3,78 ^{ab}	23,41 ^{bc}	62,78 ^{bcd}
14	3	5	220	67,97 ^{ab}	-3,72 ^{ab}	21,47 ^{ab}	61,22 ^{bc}
15	3	5	220	70,52 ^{abcd}	-3,52 ^{abc}	23,44 ^{bc}	62,14 ^{bc}
OSTDEV				2,79	0,26	1,50	1,85

Srednje vrednosti svakog parametra u koloni označene različitim slovima su statistički značajno različite ($p < 0.05$); HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe; L* - svetloća boje; a* - udeo crvene (+) ili zelene (-) boje; b* - udeo žute (+) ili plave (-) boje; IB – indeks beline; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

Svetlija kora bezglutenskog hleba, odnosno povećanje vrednosti parametra L*, zabeleženo je i sa povećanjem sadržaja HPMC sa 2 na 4% (uzorci 1 i 2, 3 i 4, Tabela 24). Kod uzoraka sa 5% vlakana šećerne repe (uzorci 5 i 6, 7 i 8, Tabela 24) uočen je suprotan efekat HPMC na svetloću kore, sličan efektu koji je zabeležen i u istraživanju Sabanis, Tzia (2011b) (uzorci 5 i 6, 7 i 8, Tabela 24). Visoke pozitivne

vrednosti parametara a^* i b^* ukazuju na veći udeo crvenog ($a^* > 0$) i žutog tona ($b^* > 0$) u boji kore bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe (Tabela 24), što je u saglasnosti sa literaturnim podacima dobijenim za bezglutenski hleb sa prehrambenim vlaknima iz žita (Sabanis i sar., 2009).

Maillard-ove reakcije i reakcije karamelizacije koje se dešavaju tokom pečenja uglavnom utiču na boju kore dok boja sredine hleba uglavnom zavisi od boje upotrebljenih sirovina. Identično kori, trend smanjenja vrednosti parametra L^* sa povećanjem sadržaja vlakana šećerne repe u uzorcima sa 2 i 4% HPMC i 220% vode (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 25) zabeležen je i za sredinu bezglutenskog hleba, uz dodatno smanjenje vrednosti indeksa beline. Negativan predznak parametra a^* ukazuje na prisustvo zelenog tona u svim uzorcima (Tabela 25) koji potiče od kukuruznog brašna i vlakana šećerne repe, što je i očekivano s obzirom na negativne vrednosti ovog parametra dobijene pri određivanju boje pomenutih sirovina.

5.5.2 ZAPREMINA I TEKSTURNE OSOBINE BEZGLUTENSKOG HLEBA SA VLAKNIMA ŠEĆERNE REPE

Specifična zapremina bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i vrednosti teksturnih parametara dobijeni nakon TPA testa dati su u Tabeli 26, dok je spoljni izgled bezglutenskog hleba prikazan na Slici 23.

Povećanje količine vlakana šećerne repe sa 3 na 7% u uzorcima sa 3% HPMC, 210 i 230% vode rezultovalo je povećanjem specifične zapremine bezglutenskog hleba (uzorci 9 i 10, 11 i 12, Tabela 26). Suprotan efekat vlakana šećerne repe na specifičnu zapreminu zabeležen je u uzorcima sa 2 i 4% HPMC i 220% vode (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 26, Slika 23).

Tabela 26. Specifična zapremina i parametri teksture sredine bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe

Br. uzorka	HPMC (%)	VŠR (%)	Voda (%)	SZ (cm ³ /g)	Tvrdoća (N)	Kohezivnost	Tekstura sredine		
							Naknadna elastičnost	Otpor pri žvakanju	Inicijalna elastičnost
1	2	3	220	1,63	10,76	0,41	0,92	416,97	0,19
2	4	3	220	2,44	2,29	0,49	0,89	100,23	0,21
3	2	7	220	1,54	17,40	0,38	0,84	572,35	0,18
4	4	7	220	2,08	3,30	0,48	0,87	142,04	0,20
5	2	5	210	1,63	19,98	0,39	0,87	693,94	0,18
6	4	5	210	2,21	4,35	0,43	0,82	155,68	0,17
7	2	5	230	1,52	22,74	0,36	0,87	715,99	0,17
8	4	5	230	1,97	4,01	0,41	0,88	147,57	0,17
9	3	3	210	2,04	7,03	0,43	0,93	289,77	0,19
10	3	7	210	2,22	3,84	0,41	0,89	142,44	0,17
11	3	3	230	1,84	8,87	0,44	0,92	370,65	0,19
12	3	7	230	2,04	7,76	0,47	0,90	332,67	0,21
13	3	5	220	2,04	4,75	0,44	0,94	199,72	0,18
14	3	5	220	2,03	4,11	0,48	0,91	183,10	0,21
15	3	5	220	2,07	4,34	0,45	0,94	179,93	0,20
OSTDEV				6,49	1,07	0,02	0,03	48,48	0,01

HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe; SZ – specifična zapremina; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija



Slika 23. Razlike u zapremini i spoljnom izgledu bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe

Uočeno smanjenje specifične zapremine bezglutenskog hleba sa povećanjem sadržaja vlakana šećerne repe može biti posledica ili efekta „razblaženja“ konstituenata bezglutenskog sistema, ili povećanja njegove tvrdoće usled čega se smanjuje sposobnost širenja gasova i narastanje tokom fermentacije. Rezultati istraživanja Cappa i sar. (2013) takođe pokazuju manju specifičnu zapreminu bezglutenskog hleba sa dodatkom 1,5% komercijalnih vlakana šećerne repe (Fibrex®) i 1,5% psilijuma (1,8–2,1 cm³/g) u poređenju sa bezglutenskim hlebom koji u svom sastavu ima 0,5% Fibrex® vlakana i 2,5% psilijuma (2,4–2,7 cm³/g). Zaključak pomenutih autora je da je psilijum imao dominantniju ulogu u razvoju strukture testa i hleba, tokom fermentacije i pečenja, u odnosu na Fibrex® vlakna. Značajan pozitivan uticaj na specifičnu zapreminu imalo je povećanje sadržaja HPMC sa 2 na 4% (uzorci 1 i 2, 3 i 4, 5 i 6, 7 i 8, Tabela 26, Slika 23), što je u skladu sa rezultatima prethodnih istraživanja za bezglutenski hleb na bazi kukuruznog (Hager, Arendt, 2013) i pirinčanog brašna (Kittisuban i sar., 2014; Sabanis, Tzia, 2011b) sa dodatkom HPMC. Pretpostavlja se da pozitivan efekat HPMC na specifičnu zapreminu potiče od jače interakcije između samih lanaca HPMC nakon otpuštanja molekula vode na višim temperaturama, tokom procesa pečenja, pri čemu se formira stabilna umrežena struktura koja rezultira poroznom sredinom hleba (Bell, 1990).

Pronalaženje optimalne konzistencije testa prilagođavanjem količine vode potrebne za zames, predstavlja ozbiljan problem u proizvodnji bezglutenskog hleba. Prema istraživanju Sabanis i Tzia (2011a) veće vrednosti indeksa

konzistencije krivih proticanja u bezglutenskom testu sa različitim hidrokolidima manifestovale su se smanjenjem specifične zapremine bezglutenskog hleba. Međutim, rezultati dobijeni istraživanjem u okviru ovog doktorata pokazali su da su uzorci sa većim indeksom konzistencije (uzorci 2, 4, 6, 8, 10, Tabela 14) rezultovali bezglutenskim hlebom veće specifične zapremine (uzorci 2, 4, 6, 8, 10, Tabela 26, Slika 23). Prisustvo vlakana šećerne repe, HPMC i vode u odgovarajućim količinama i njihova moguća interakcija, podstaknuta povećanom mobilnošću molekula, mogu uticati na formiranje stabilnije strukture bezglutenskog testa koja rezultuje hlebom veće zapremine, što objašnjava navedene kontradiktorne rezultate.

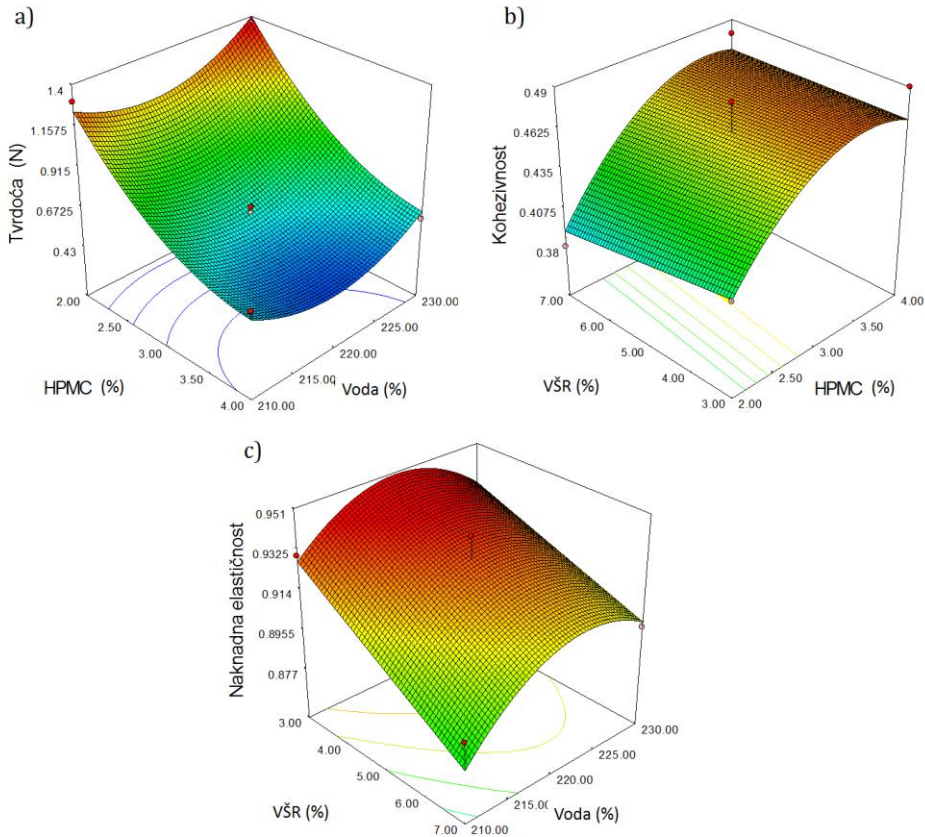
Vrednosti teksturnih parametara bezglutenskog hleba prikazani u Tabeli 26 pokazuju dvojak uticaj vlakana šećerne repe na teksturu u zavisnosti od količine HPMC i vode prisutnih u uzorku. U Tabeli 27 dati su i koeficijenti regresione jednačine čijom je primenom definisan uticaj količine HPMC, vlakana šećerne repe i vode na parametre teksture (tvrdoću, kohezivnost i naknadnu elastičnost). Povećanje sadržaja vlakana šećerne repe sa 3 na 7% u uzorcima sa 2 i 4% HPMC i 220% vode (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 26) rezultovalo je povećanjem tvrdoće sredine bezglutenskog hleba. Povećanje tvrdoće sredine hleba može biti posledica povećanja debljine zidova pora i smanjene zapremine kao i već pomenutog efekta „razblaženja“ konstituenata (značajan pozitivni kvadratni koeficijent za vodu Tabela 27) (Morreale i sar., 2018; Pérez-Quirce i sar., 2014). Smanjenje tvrdoće sredine sa povećanjem količine vlakana šećerne repe uočeno je u uzorcima sa 3% HPMC i 210 i 230% vode (uzorci 9 i 10, 11 i 12, Tabela 26, negativan linearni koeficijent Tabela 27). Pretpostavlja se da je pomenuto smanjenje tvrdoće posledica većeg kapaciteta zadržavanja vode, kao i prisustva veće količine rastvorljivih vlakana (pektina) koji usporavaju gubitak vode i time daju percepciju vlažne sredine (Cappa i sar., 2013).

Tabela 27. Vrednosti koeficijenata regresione jednačine teksturnih parametara bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe

Član	Tvrdoća (N)	Kohezivnost	Naknadna elastičnost
Odsečak	90,96	-15,23	-7,90
<i>Linearni</i>			
HPMC	-0,76*	0,19*	-0,07
VŠR	-0,56	-0,12	-0,09*
Voda	-0,80	0,14	0,08
<i>Kvadratni</i>			
HPMC²	0,15*	-0,03	-5,0×10 ⁻² *
VŠR²	-	-	0
Voda²	1,81×10 ⁻³ *	-3,29×10 ⁻⁴ *	-2,0×10 ⁻⁴
<i>Interakcioni</i>			
HPMC×VŠR	2,56×10 ⁻³	2,5×10 ⁻³	7,5×10 ⁻³
HPMC×Voda	-2,30×10 ⁻³	-	1,5×10 ⁻³
Voda×VŠR	-	5,0×10 ⁻⁴	2,5×10 ⁻⁴
R²	0,94	0,80	0,92
Lack of fit	0,06	0,46	0,55

*koeficijenti su statistički značajni p < 0,05; HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe

Značajno smanjenje tvrdoće zabeleženo je i sa povećanjem količine HPMC sa 2 na 4%, bez obzira na količinu vlakana šećerne repe i vode (uzorci 1 i 2, 3 i 4, 5 i 6, 7 i 8, Tabela 26, značajan negativan linearni koeficijent Tabela 27, Slika 24a). Ovaj rezultat u saglasnosti je sa rezultatima istraživanja Hager i Arendt (2013) gde je smanjenje tvrdoće zabeleženo sa dodatkom 2% HPMC u bezglutenski hleb na bazi kukuruznog brašna u poređenju sa hlebom bez dodatka HPMC, kao i u bezglutenskom hlebu na bazi pirinčanog brašna (Crockett i sar., 2011a; Morreale i sar., 2018). Umrežena struktura HPMC formirana tokom pečenja omogućava stabilizaciju želatinizovane strukture sredine hleba, predstavlja barijeru za difuziju gasa, smanjuje gubitak vodene pare i na taj način povećava finalni sadržaj vlage što se manifestuje unapređenom teksturom i mekoćom sredine (Bell, 1990; Crockett i sar., 2011a). Uzorci bezglutenskog hleba sa manjom tvrdoćom sredine imali su veću zapreminu (uzorci 2, 4, 6, 8, 10, Tabela 26). Obrnutu zavisnost između zapremine i tvrdoće sredine zabeležili su mnogi autori (Mancebo i sar., 2015; Martínez i sar., 2014; Sabanis i sar., 2009).



Slika 24. Uticaj količine hidroksipropil metil celuloze (HPMC), vlakana šećerne repe (VŠR) i vode na a) tvrdoću, b) kohezivnost i c) naknadnu elastičnost bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe

Sa povećanjem sadržaja vlakana šećerne repe sa 3 na 7% zabeleženo je smanjenje kohezivnosti kod većine uzoraka (negativni linearni koeficijent Tabela 27, Slika 24b) osim kod uzorka sa 3% HPMC i 230% vode (uzorci 11 i 12, Tabela 26). Sa druge strane, značajno povećanje kohezivnosti uočeno je sa povećanjem količine HPMC bez obzira na količinu vlakana šećerne repe (značajan pozitivan linearni koeficijent Tabela 27, Slika 24b). Niže vrednosti kohezivnosti ukazuju na krhku strukturu proizvoda i njegovo lakše žvakanje (Rubel i sar., 2015).

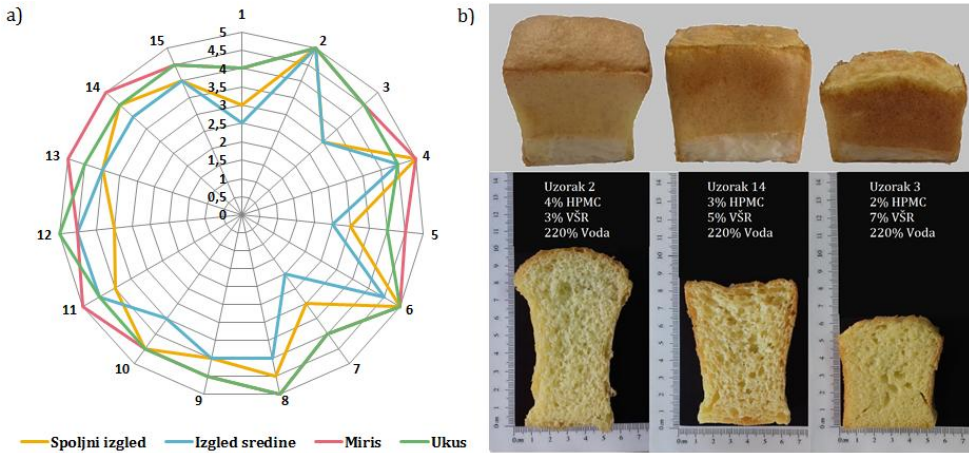
Na smanjenje naknadne elastičnosti bezglutenskog hleba značajan uticaj imalo je povećanje sadržaja vlakana šećerne repe i HPMC (Tabela 26, značajni linearni i kvadratni koeficijenti Tabela 27, Slika 24c). Najveće vrednosti naknadne elastičnosti zabeležene su u uzorcima sa 3% HPMC, 3 i 5% vlakana šećerne repe i 220% i 210% vode (uzorci 9, 13 i 15, Tabela 26), ukazujući na brži oporavak strukture sredine nakon prestanka dejstva sile deformacije (Rubel i sar., 2015).

Uočeni trend povećanja otpora pri žvakanju u uzorcima sa 2 i 4% HPMC i 220% vode (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 26), odnosno smanjenja otpora prilikom žvakanja u uzorcima sa 3% HPMC i 210 i 230% vode (uzorci 9 i 10, 11 i 12, Tabela 26) sa povećanjem količine vlakana šećerne repe u skladu je sa rezultatima dobijenim za tvrdoću sredine uzimajući u obzir direktnu vezu između ovih teksturnih osobina.

Povećanje sadržaja vlakana šećerne repe sa 3 na 7% manifestovalo se smanjenjem vrednosti inicijalne elastičnosti (uzorci 1 i 3, 2 i 4, 9 i 10, Tabela 26), dok je suprotan efekat uočen prilikom povećanja količine HPMC.

5.5.3 SENZORSKA OCENA BEZGLUTENSKOG HLEBA SA VLAKNIMA ŠEĆERNE REPE

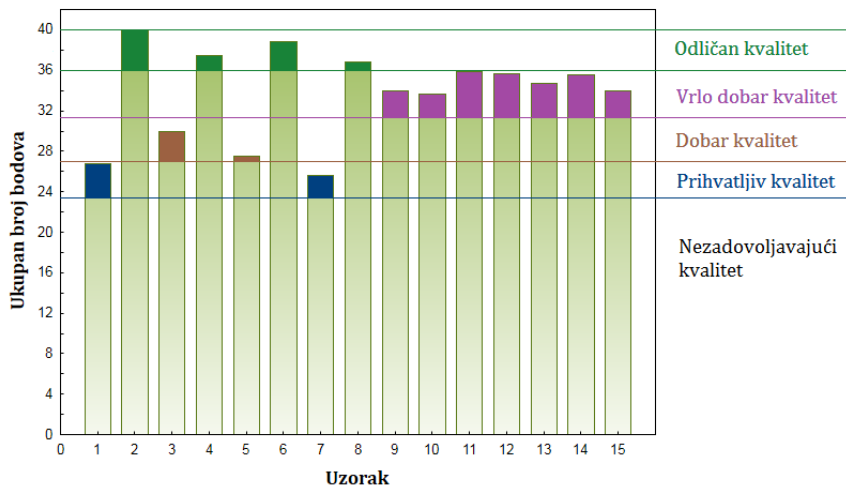
Ocena senzorskog kvaliteta bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe sprovedena je metodom bodovanja. Ocene za spoljni izgled, izgled sredine, miris i ukus kore i sredine svakog pojedinačnog uzorka predstavljene su na Slici 25. Na osnovu ukupnog broja ostvarenih bodova, dobijenih množenjem ocene sa odgovarajućim koeficijentom važnosti, uzorci su svrstani u kategorije: nezadovoljavajući kvalitet, <22,4 boda; prihvatljiv kvalitet, od 22,5 – 26,9 boda; dobar kvalitet, od 27,0 – 31,4 boda; vrlo dobar kvalitet, od 31,5 – 35,9 boda; odličan kvalitet, 36,0 – 40,0 boda (Slika 26).



Slika 25. Rezultati senzorske ocene bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe (a), spoljni i izgled sredine hleba (b)

Svi uzorci bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe ocenjeni su kao prihvatljivi od strane šestočlanog panela ocenjivača s obzirom na to da su imali ukupan broj bodova u rasponu od 26,8 do 40, odnosno veći od 22,4 (Slika 26). Bezglutenski hlebovi koji su u svom sastavu imali 4% HPMC i 3, 5, ili 7% vlakana šećerne repe (uzorci 2, 4, 6 i 8, Slika 25a) dobili su najviše ocene i imali odličan kvalitet (uzorci 2, 4, 6 i 8, Slika 26). Pomenuti uzorci karakterisali su se vrlo dobrim ukusom, mekom sredinom sa porama srednje veličine dobre uniformnosti, žutom bojom, dopadljivim i svežim izgledom kao i većom zapreminom (Slika 25b).

Na osnovu analize senzorskog kvaliteta evidentno je da bezglutenski hleb sa vlaknima šećerne repe po svom izgledu i ukusu podseća na tradicionalni proizvod od kukuruznog brašna (proja), što predstavlja veoma bitnu činjenicu sa aspekta prihvatljivosti novog proizvoda od strane potrošača. Trend pogoršanja kvaliteta bezglutenskog hleba uočen je sa smanjenjem količine HPMC i istovremenim povećanjem sadržaja vlakana šećerne repe (Slika 25b). Sagledavajući sve ocenjivane parametre, najveće razlike u kvalitetu uočene su kod spoljnog izgleda i izgleda sredine bezglutenskog hleba (Slika 25).



Slika 26. Ukupan broj bodova ostvaren nakon senzorske ocene bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i odgovarajuće kategorije kvaliteta

Dodatak vlakana šećerne repe u količini do 7% nije imao negativan uticaj na ukus i miris kore i sredine bezglutenskog hleba. Do sličnih rezultata došli su i Sabanis i sar. (2009) prilikom aplikacije vlakana žita u bezglutenski hleb na bazi kukuruznog skroba, pri nivou supstitucije kukuruznog skroba vlaknima od 6%. Prema dobijenom ukupnom broju bodova, najveći broj uzoraka bezglutenskog hleba pripadao je kategoriji vrlo dobrog kvaliteta (Slika 26). Bezglutenski hleb sa 2% HPMC i 5 ili 7% vlakana šećerne repe (uzorci 3 i 5, Slika 26) imao je dobar kvalitet, dok su uzorci sa 3% vlakana šećerne repe, 2% HPMC i većom količinom vode ocenjeni kao prihvatljivi. Manja zapremina i tvrđa sredina pomenutih uzoraka uticali su da ostvareni ukupan broj bodova bude manji od 27 (uzorci 1 i 7, Slika 26).

5.6 UTICAJ VLAKANA JABUKE NA KVALITET BEZGLUTENSKOG HLEBA

5.6.1 BOJA KORE I SREDINE BEZGLUTENSKOG HLEBA SA VLAKNIMA JABUKE

Rezultati određivanja boje kore i sredine bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke izraženi preko parametara L*, a* i b* i izračunati indeksi tamnjenja i beline dati su u Tabelama 28 i 29.

Tabela 28. Parametri boje kore bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke

Br. uzorka	HPMC (%)	VJ (%)	Voda (%)	Boja kore			
				L*	a*	b*	IT
1	2	3	190	51,87 ^{abcd}	10,66 ^b	32,28 ^e	105,77 ^f
2	4	3	190	56,75 ^f	11,14 ^{bc}	31,17 ^{de}	90,38 ^c
3	2	7	190	49,25 ^a	12,40 ^{efg}	28,69 ^{bc}	101,21 ^{ef}
4	4	7	190	53,15 ^{cde}	12,19 ^{def}	27,70 ^b	72,51 ^{ab}
5	2	5	180	51,18 ^{abc}	11,17 ^{bc}	29,79 ^{cd}	79,96 ^b
6	4	5	180	55,12 ^{ef}	12,71 ^{fg}	30,45 ^d	76,91 ^b
7	2	5	200	55,03 ^{ef}	9,01 ^a	30,35 ^d	79,48 ^b
8	4	5	200	54,34 ^{def}	11,52 ^{cd}	30,04 ^{cd}	76,71 ^b
9	3	3	180	49,58 ^a	11,75 ^{cde}	27,81 ^b	67,38 ^a
10	3	7	180	49,60 ^a	12,84 ^{fg}	26,26 ^a	73,38 ^{ab}
11	3	3	200	52,72 ^{bcde}	12,73 ^{fg}	30,92 ^{de}	79,94 ^b
12	3	7	200	50,09 ^{ab}	13,04 ^g	28,09 ^b	75,00 ^b
13	3	5	190	53,07 ^{cde}	12,64 ^{fg}	30,41 ^d	97,88 ^{de}
14	3	5	190	53,75 ^{cde}	12,34 ^{efg}	29,81 ^{cd}	93,59 ^{cd}
15	3	5	190	53,88 ^{cdef}	12,67 ^{fg}	30,21 ^{cd}	95,25 ^{cde}
OSTDEV				1,83	0,53	0,99	4,53

Srednje vrednosti svakog parametra u koloni označene različitim slovima su statistički značajno različite ($p < 0.05$); HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VJ – vlakna jabuke;

L* - svetloća boje; a* - udeo crvene (+) ili zelene (-) boje; b* - udeo žute (+) ili plave (-) boje;

IT - indeks tamnjenja; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

Tamnija boja kore, odnosno manje vrednosti parametra L* i veće vrednosti indeksa tamnjenja, uočene su sa povećanjem količine vlakana jabuke sa 3 na 7% u uzorcima sa 2 i 4% HPMC i 220% vode (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 28). Rocha Parra i sar. (2015) su takođe uočili trend smanjenja svetloće bezglutenskog hleba pri dodatku vlakana jabuke u količini od 5 do 20%. Upoređivanjem rezultata za svetloću kore bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke uočene su niže vrednosti parametra L* kod uzoraka sa vlaknima jabuke. Ovi rezultati su bili i očekivani s obzirom da je prilikom određivanja boje sirovina najmanja vrednost parametra L* upravo dobijena za vlakna jabuke.

Tabela 29. Parametri boje sredine bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke

Br. uzorka	HPMC (%)	VJ (%)	Voda (%)	Boja sredine			
				L*	a*	b*	IB
1	2	3	190	61,35 ^{bcd}	0,96 ^b	22,22 ^{cd}	55,39 ^{bcd}
2	4	3	190	71,57 ^e	0,47 ^a	22,00 ^{bcd}	63,33 ^f
3	2	7	190	56,01 ^a	3,99 ^h	22,56 ^{cd}	50,35 ^a
4	4	7	190	61,37 ^{bcd}	3,27 ^f	21,93 ^{bcd}	55,44 ^{bcd}
5	2	5	180	59,77 ^{abc}	2,79 ^e	22,22 ^{cd}	53,89 ^{bc}
6	4	5	180	63,93 ^{cd}	2,27 ^d	20,94 ^{abc}	58,19 ^{de}
7	2	5	200	59,51 ^{ab}	3,48 ^{fg}	23,39 ^d	53,09 ^{ab}
8	4	5	200	62,82 ^{bcd}	2,00 ^{cd}	20,28 ^a	57,46 ^{de}
9	3	3	180	65,02 ^d	0,80 ^{ab}	21,26 ^{abc}	59,02 ^e
10	3	7	180	58,81 ^{ab}	3,27 ^f	21,02 ^{abc}	53,60 ^{bc}
11	3	3	200	62,79 ^{bcd}	0,53 ^a	20,31 ^a	57,58 ^{de}
12	3	7	200	61,17 ^{bcd}	3,85 ^{gh}	22,02 ^{bcd}	55,17 ^{bcd}
13	3	5	190	61,57 ^{bcd}	2,77 ^e	21,54 ^{abc}	55,84 ^{bcd}
14	3	5	190	61,98 ^{bcd}	1,69 ^c	20,42 ^{ab}	56,75 ^{cde}
15	3	5	190	61,42 ^{bcd}	2,19 ^d	20,94 ^{abc}	55,98 ^{bcd}
OSTDEV				2,21	0,26	0,93	1,61

Srednje vrednosti svakog parametra u koloni označene različitim slovima su statistički značajno različite ($p < 0.05$); HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VJ – vlakna jabuke;

L* - svetloća boje; a* - udeo crvene (+) ili zelene (-) boje; b* - udeo žute (+) ili plave (-) boje; IB – indeks beline; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

Pored pomenute prirodne boje vlakana jabuke, tamnjenje kore može se objasniti i reakcijama tamnjenja (Maillard-ove reakcije i reakcije karamelizacije) koje se odvijaju tokom procesa pečenja hleba, a u ovom slučaju dodatno su podstaknute prisustvom značajne količine redukujućih šećera u vlaknim jabuke. Iako rezultati prethodnih istraživanja pokazuju smanjenje svetloće bezglutenskog

hleba sa povećanjem količine HPMC do 2% (Sabaniš, Tzia, 2011b), u ovoj disertaciji povećanje sadržaja HPMC sa 2 na 4% (uzorci 1 i 2, 3 i 4, Tabela 28) manifestovalo se svetlijom korom hleba. Zabeležene visoke pozitivne vrednosti parametara a^* i b^* (Tabela 28) takođe ukazuju na efekat tamnjenja, odnosno povećanja udela crvenog ($a^* > 0$) i žutog tona ($b^* > 0$) u boji kore bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke, što je u skladu sa rezultatima istraživanja Rocha Parra i sar. (2015). Udeo crvenog tona ($a^* > 0$) u boji kore u direktnoj je vezi sa odigravanjem Maillard-ovih reakcija (Acquistucci, 2000) što potvrđuju i veće vrednosti pomenutog parametra za bezglutenski hleb sa vlaknima jabuke u poređenju sa bezglutenskim hlebom koji sadrži vlakna šećerne repe (Tabele 28 i 24).

Trend smanjenja vrednosti parametra L^* kao i indeksa beline sredine bezglutenskog hleba uočen je, kao i kod kore, sa povećanjem sadržaja vlakana jabuke od 3 na 7% u uzorcima sa 2 i 4% HPMC i 220% vode (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 29). Identično kori, visoke pozitivne vrednosti parametara a^* i b^* (Tabela 29) ukazuju na veći udeo crvenog i žutog tona u boji sredine koji proističu od boje samih sirovina, odnosno vlakana jabuke i kukuruznog brašna. Tamnija boja bezglutenskog hleba je zapravo i poželjna s obzirom na to da se bezglutenski hleb obično karakteriše svetlijom bojom u odnosu na pšenični hleb koja nije dopadljiva potrošačima (Gallagher i sar., 2002).

5.6.2 ZAPREMINA I TEKSTURNE OSOBINE BEZGLUTENSKOG HLEBA SA VLAKNIMA JABUKE

U Tabeli 30 predstavljeni su rezultati određivanja specifične zapremine i teksturnih parametara bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke, dok je na Slici 27 prikazan spoljni izgled bezglutenskog hleba.

Tabela 30. Specifična zapremnina i parametri teksture sredine bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke

Br. uzorka	HPMC (%)	VJ (%)	Voda (%)	Tekstura sredine					
				SZ (cm ³ /g)	Tvrdoća (N)	Kohezivnost	Naknadna elastičnost	Otpor pri žvakanju	Inicijalna elastičnost
1	2	3	190	1,72	7,47	0,43	0,95	311,59	0,18
2	4	3	190	3,29	2,60	0,43	0,80	91,06	0,16
3	2	7	190	2,88	5,28	0,43	0,85	198,79	0,18
4	4	7	190	3,97	2,10	0,44	0,82	78,13	0,17
5	2	5	180	2,20	6,57	0,42	0,89	250,88	0,18
6	4	5	180	3,31	3,95	0,41	0,84	137,73	0,17
7	2	5	200	1,83	13,93	0,38	0,88	464,15	0,18
8	4	5	200	3,22	2,73	0,45	0,90	113,06	0,18
9	3	3	180	2,29	4,85	0,44	0,91	198,31	0,19
10	3	7	180	3,61	3,33	0,39	0,93	124,11	0,16
11	3	3	200	2,98	4,43	0,43	0,91	177,66	0,19
12	3	7	200	3,12	4,61	0,43	0,91	185,95	0,18
13	3	5	190	2,97	5,48	0,42	0,92	212,56	0,17
14	3	5	190	3,35	2,86	0,43	0,89	111,19	0,17
15	3	5	190	3,02	3,91	0,42	0,91	151,30	0,17
OSTDEV				7,37	0,58	0,02	0,04	18,49	0,01

HPMC – hidrokspipropil metil celuloza; VJ – vlakna jabuke; SZ – specifična zapremina; OSTDEV – objedinjena standardna devijacija

Povećanje specifične zapremine bezglutenskog hleba zabeleženo je pri povećanju sadržaja vlakana jabuke sa 3 na 7% (uzorci 1 i 3, 2 i 4, 9 i 10, 11 i 12, Tabela 30, Slika 27), bez obzira na količinu HPMC i vode u uzorcima. Iako su Rocha Parra i sar. (2015) u svom istraživanju zabeležili smanjenje specifične zapremine bezglutenskog hleba sa povećanjem sadržaja vlakana jabuke od 5 na 20%, vrednosti specifičnih zapremina (1,6–3,2 cm³/g) nisu se značajno razlikovale od vrednosti dobijenih u ovoj disertaciji (1,72–3,97 cm³/g). Takođe, bezglutenski hleb sa vlaknima jabuke odlikovao se većom specifičnom zapreminom u poređenju sa bezglutenskim hlebom koji je u svom sastavu imao vlakna šećerne repe. Pretpostavlja se da je veći uticaj vlakana jabuke na povećanje specifične zapremine rezultat boljih želirajućih osobina pektina jabuke u odnosu na pektin šećerne repe (Schieber i sar., 2003).



Slika 27. Razlike u zapremini i spoljnom izgledu bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke

Positivan uticaj povećanja količine HPMC sa 2 na 4% (uzorci 1 i 2, 3 i 4, 5 i 6, 7 i 8, Tabela 30, Slika 27) na specifičnu zapreminu bezglutenskog hleba potvrđen je i rezultatima prethodnih istraživanja za bezglutenski hleb sa HPMC kao jedinim dodatkom (Hager, Arendt, 2013; Sabanis, Tzia, 2011b) kao i u bezglutenskom sistemu koji pored HPMC sadrži i β - glukan i proteine surutke (Kittisuban i sar., 2014). Iako je u suprotnosti sa literaturnim navodima, veće vrednosti indeksa konzistencije bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke (uzorci 2, 4, 6, 8, 10, Tabela 19) rezultovale su hlebom veće zapremine (uzorci 2, 4, 6, 8, 10, Tabela 30, Slika 27), kao i kod uzoraka sa vlaknima šećerne repe.

Vrednosti teksturnih parametara bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke prikazani su u Tabeli 30, dok su koeficijenti regresione jednačine za procenu uticaja količine HPMC, vlakana jabuke i vode na tvrdoću, kohezivnost i naknadnu elastičnost sredine hleba dati u Tabeli 31.

Tabela 31. Vrednosti koeficijenata regresione jednačine teksturnih parametara bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke

Član	Tvrdoća (N)	Kohezivnost	Naknadna elastičnost
Odsečak	382,40	-0,99	3,99
<i>Linearni</i>			
HPMC	28,65*	-0,41	-0,25
VJ	-2,16	-0,14	-0,04
Voda	-4,42	0,02	-0,03
<i>Kvadratni</i>			
HPMC²	1,39	-	-0,04*
VJ²	-0,28	$2,65 \times 10^{-3}$	$5,52 \times 10^{-4}$
Voda²	0,01	$-8,88 \times 10^{-5}$	$6,21 \times 10^{-5}$
<i>Interakcioni</i>			
HPMC×VJ	0,21	-	0,02*
HPMC×Voda	-0,21*	$2,20 \times 10^{-3}$ *	$1,80 \times 10^{-3}$
Voda×VJ	0,02	$5,75 \times 10^{-4}$	$-1,88 \times 10^{-4}$
R²	0,90	0,80	0,90
Lack of fit	0,42	0,24	0,34

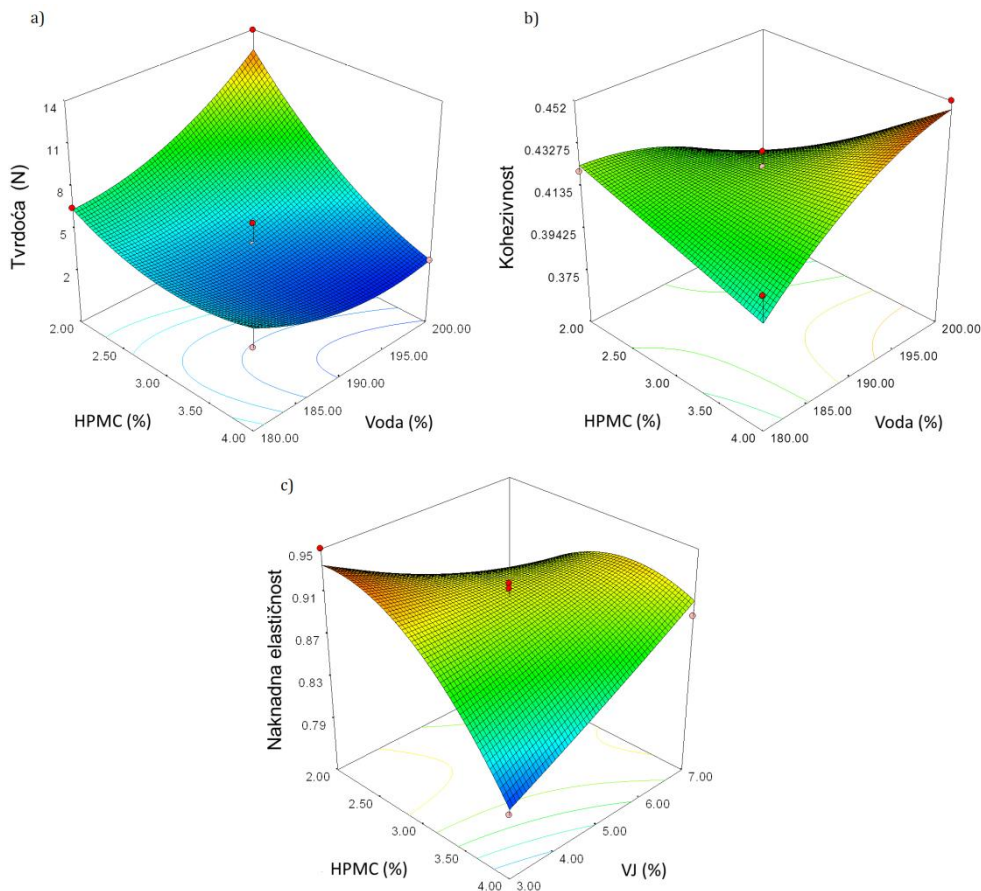
*koeficijenti su statistički značajni $p < 0,05$; HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VJ – vlakna jabuke

Povećanje količine vlakana jabuke sa 3 na 7% manifestovalo se smanjenjem tvrdoće sredine bezglutenskog hleba (uzorci 1 i 3, 2 i 4, 9 i 10, Tabela 30, negativan linearni koeficijent Tabela 31). Da dodatak rastvorljivih i nerastvorljivih prehrambenih vlakana pozitivno utiče na mekoću sredine potvrđuju i rezultati prethodnih istraživanja (Martínez i sar., 2014; Sabanis i sar., 2009). Pozitivan uticaj vlakana na mekoću sredine objašnjava se velikim kapacitetom vezivanja vode vlakana kao i potencijalnim stvaranjem vodoničnih veza između vlakana i skroba, što usporava njegovu retrogradaciju. Međutim, Rocha Parra i sar. (2015) su prilikom povećanja sadržaja vlakana jabuke od 17,8 do 20%, u prisustvu 115–150% vode, uočili značajno povećanje tvrdoće sredine bezglutenskog hleba. Ova neusaglašenost rezultata može se objasniti značajno manjim količinama vlakana jabuke (3–7%) i većom količinom vode (180–200%) upotrebljenim u ovoj disertaciji. U skladu sa prethodnim istraživanjima (Crockett i sar., 2011a; Hager,

Arendt, 2013; Morreale i sar., 2018), značajno smanjenje tvrdoće bezglutenskog hleba uočeno je i prilikom povećanja sadržaja HPMC sa 2 na 4% (uzorci 1 i 2, 3 i 4, 5 i 6, 7 i 8, Tabela 30, značajan linearni koeficijent Tabela 31, Slika 28a) nezavisno od sadržaja vlakana jabuke i vode u uzorcima. Identično bezglutenskom hlebu sa vlaknima šećerne repe, obrnuta zavisnost između zapremine i tvrdoće sredine uočena je i kod bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke (uzorci 2, 4, 6, 8, 10, Tabela 30), što potvrđuju i literaturni navodi za bezglutenski hleb sa dodatkom različitih prehrambenih vlakana (Mancebo i sar., 2015; Martínez i sar., 2014; Sabanis i sar., 2009).

Smanjenje kohezivnosti uočeno je pri povećanju sadržaja vlakana jabuke sa 3 na 7% (negativni linearni koeficijent Tabela 31) u uzorcima sa 3% HPMC i 180 i 200% vode, dok se kohezivnost povećala u uzorcima sa 2 i 4% HPMC i 190% vode (uzorci 1 i 3, 2 i 4, Tabela 30). Povećanje količine HPMC sa 2 na 4% je kod većine uzoraka rezultovalo povećanjem kohezivnosti, osim u uzorcima sa najmanjom količinom vode (uzorci 9 i 10, Tabela 30, Slika 28b). Značajan koeficijent interakcije HPMC i vode (Tabela 31) ukazuje da je pri najvećim količinama HPMC i vode kohezivnost hleba bila najveća (Slika 28b).

Povećanje količine vlakana jabuke sa 2 na 4% je kod većine uzoraka rezultovalo povećanjem naknadne elastičnosti (Slika 28c), osim u uzorcima sa 2% HPMC i 190% vode (uzorci 1 i 3, Tabela 30, Slika 28c) što ukazuje da vlakna jabuke pozitivno utiču na strukturu sredine omogućavajući brži oporavak nakon prestanka dejstva sile. Sa druge strane, povećanje sadržaja HPMC značajno smanjuje naknadnu elastičnost (značajan negativan kvadratni koeficijent Tabela 31, Slika 28c). Pomenuto smanjenje je najizraženije u uzorcima sa najmanjim sadržajem vlakana jabuke (uzorci 1 i 2, Tabela 30, značajan koeficijent interakcije Tabela 31, Slika 28c).



Slika 28. Uticaj količine hidroksipropil metil celuloze (HPMC), vlakana jabuke (VJ) i vode na a) tvrdoću, b) kohezivnost i c) naknadnu elastičnost bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke

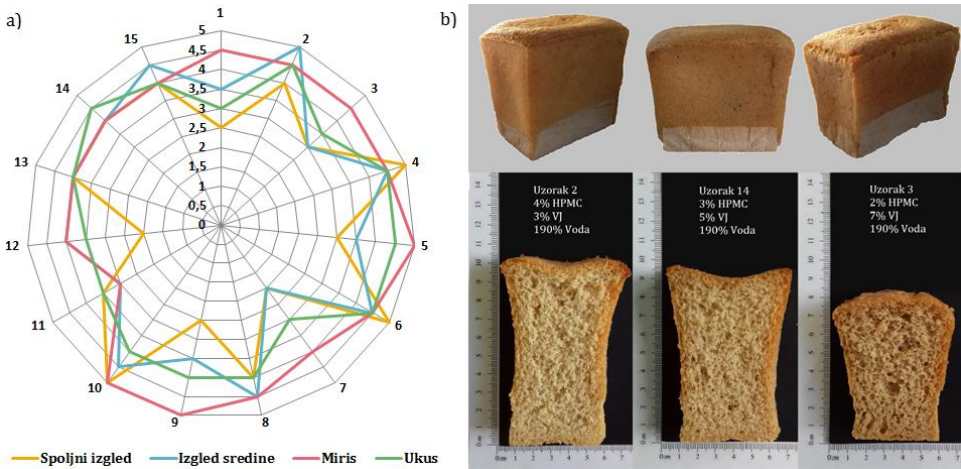
Smanjenje otpora pri žvakanju sa povećanjem količine vlakana jabuke sa 3 na 7%, i HPMC sa 2 na 4% zabeleženo je kod većine uzoraka (Tabela 30) i u saglasnosti je sa rezultatima merenja tvrdoće s obzirom na direktnu povezanost ova dva parametra.

Povećanje količine vlakana jabuke sa 3 na 7%, i HPMC sa 2 na 4% rezultovalo je smanjenjem inicijalne elastičnosti kod većine uzoraka (Tabela 30). Identičan trend smanjenja inicijalne elastičnosti sa povećanjem sadržaja vlakana

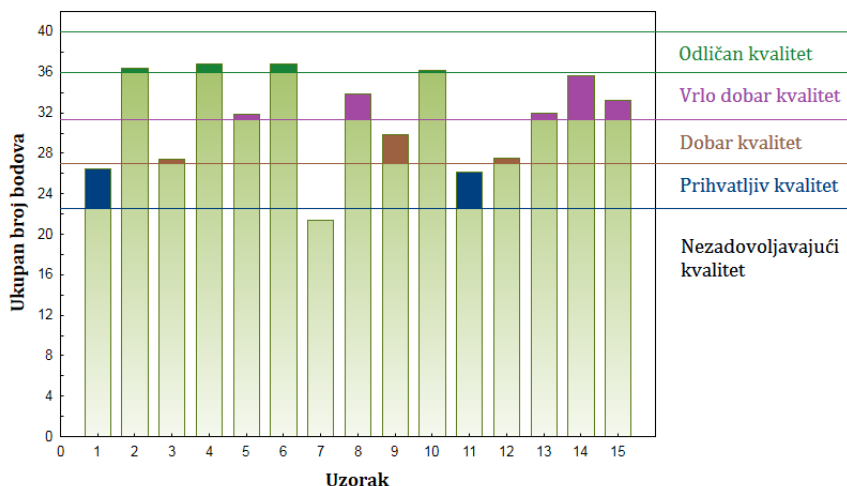
šećerne repe zabeležili su i Rocha Parra i sar. (2015) s tim što su vrednosti inicijalne elastičnosti dobijene u ovoj disertaciji značajno niže (0,16–0,19) u poređenju sa vrednostima dobijenim u pomenutom istraživanju (0,299–0,385).

5.6.3 SENZORSKA OCENA BEZGLUTENSKOG HLEBA SA VLAKNIMA JABUKE

Metodom bodovanja ocenjen je senzorski kvalitet bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke, a dobijene ocene kao i kategorizacija uzoraka prema ukupnom broju ostvarenih bodova prikazani su na Slikama 29 i 30. Osim uzorka sa 2% HPMC, 5% vlakana jabuke i 200% vode (uzorak 7), svi ostali uzorci bezglutenskog hleba ocenjeni su kao prihvatljivi sa ukupnim brojem ostvarenih bodova u rasponu od 26,1 do 36,8 (Slika 30). Pomenuti uzorak imao je najmanji broj bodova (21,4) i nezadovoljavajući kvalitet zbog zbijene i tvrde sredine, male zapremine, ispucale kore, nedovoljno izraženog ukusa i mirisa.



Slika 29. Rezultati senzorske ocene bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke (a), spoljni i izgled sredine hleba (b)



Slika 30. Ukupan broj bodova ostvaren nakon senzorske ocene bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke i odgovarajuće kategorije kvaliteta

Najviše ocene i odličan kvalitet imali su bezglutenski hlebovi sa 4% HPMC i 3, 5 ili 7% vlakana jabuke (uzorci 2, 4, 6, 10, Slika 29a, Slika 30). Pomenuti uzorci odlikovali su se većom zapreminom, mekom i finom sredinom sa uniformnim sitnim porama, smeđom bojom i dobrim ukusom (Slika 29b). Pogoršanje kvaliteta bezglutenskog hleba uočeno je sa istovremenim smanjenjem količine HPMC i povećanjem sadržaja vlakana jabuke (Slika 29b), identično bezglutenskom hlebu sa vlaknima šećerne repe. Prema proceni panela ocenjivača vlakna jabuke su, u poređenju sa kukuruznim brašnom, imala dominantniji uticaj na ukus bezglutenskog hleba posebno u uzorcima sa maksimalnom količinom vlakana gde se osetio i blago gorak ukus. Najveće razlike u kvalitetu među uzorcima zabeležene su kod spoljnog izgleda i izgleda sredine bezglutenskog hleba (Slika 29b). Vrlo dobar kvalitet imali su uzorci sa 5% vlakana jabuke i 2 i 3% HPMC (uzorci 5, 13, 14, 15, Slika 30), dok su dobar kvalitet imali uzorci sa 7 i 3% vlakana jabuke i 2 i 3% HPMC (uzorci 3, 9, 12, Slika 30) usled manje zapremine, neuniformne veličine pora i tvrde sredine, ispucale kore (Slika 29b). Bezglutenski hleb sa vlaknima jabuke ostvario je manji ukupan broj bodova u poređenju sa bezglutenskim hlebom koji sadrži vlakna šećerne repe verovatno zbog manje dopadljivog ukusa koji nije podsećao na tradicionalni kukuruzni hleb.

5.7 UTICAJ VRSTE VLAKANA NA REOLOŠKE OSOBINE TESTA, KVALITET I NUTRITIVNU VREDNOST BEZGLUTENSKOG HLEBA

5.7.1 FUNDAMENTALNE REOLOŠKE OSOBINE BEZGLUTENSKOG TESTA SA VLAKNIMA ŠEĆERNE REPE I VLAKNIMA JABUKE

Sagledavajući rezultate dinamičkih oscilatornih merenja za bezglutenska testa sa vlaknima šećerne repe i vlaknima jabuke, prezentovane u Tabelama 15 i 20, uočava se dominantnije elastično ponašanje kod bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke (veći broj uzoraka sa $\tan \delta < 1$, i veće vrednosti elastičnog modula, Tabela 20), dok je većina uzoraka bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe bila na prelazu iz viskoznog u elastično ponašanje (veći broj uzoraka sa ukrštanjem modula, odnosno izjednačavanjem njihovih vrednosti, Tabela 15). Shodno uzročno - posledičnoj vezi reoloških osobina testa i kvaliteta hleba, nakon senzorske ocene uzorci bezglutenskog hleba dobijeni od testa sa preovlađujućim elastičnim osobinama, nezavisno od vrste vlakana, pripadali su kategoriji odličnog i vrlo dobrog kvaliteta.

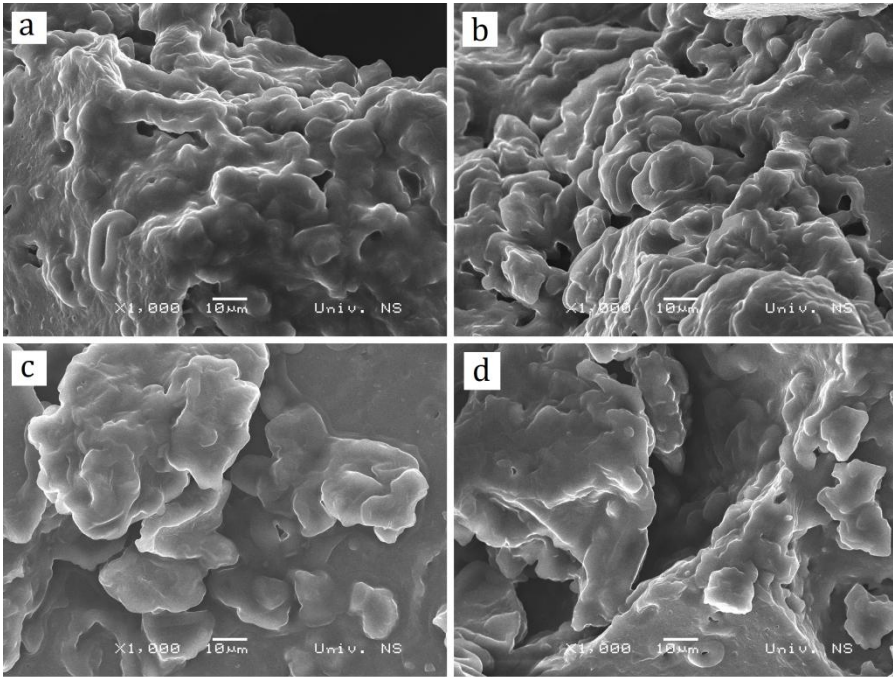
U skladu sa rezultatima dinamičkih oscilatornih merenja uzorci bezglutenskog testa koji su ispoljavali elastičnije ponašanje takođe su pokazivali i veći otpor deformaciji, odnosno manje vrednosti početne (J_0) i maksimalne (J_{max}) popustljivosti sistema (Tabele 16 i 21). I dok značajne razlike u vrednostima J_0 i J_{max} za bezglutenska testa sa različitom vrstom vlakana nisu uočene, veće vrednosti Njutnovskog viskoziteta (η_0) zabeležene su kod bezglutenskog testa sa vlaknima jabuke. Dominantnije elastično ponašanje bezglutenskog testa, ojačavanje njegove strukture i samim tim povećanje otpora na deformaciju rezultirali su dobrim fizičkim i zadovoljavajućim senzorskim karakteristikama bezglutenskog hleba. Najbolji kvalitet bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe postignut je kod uzoraka sa pojavom ukrštanja modula pri vrednostima od 140,15–150 Pa i $\tan \delta = 0,78$, i vrednostima J_0 od 0,008–0,045 Pa⁻¹. Bezglutenski

hleb sa vlaknima jabuke najboljeg kvaliteta dobijen je pri vrednostima $\tan \delta$ od 0,66–0,80 i vrednostima J_0 od 0,011–0,030 Pa⁻¹.

Direktna povezanost indeksa konzistencije, dobijenog registrovanjem krivih proticanja bezglutenskog testa, sa specifičnom zapreminom bezglutenskog hleba i indirektna sa tvrdoćom sredine već je prethodno opisana u poglavljima 4.5.2 i 4.6.2. Ukratko, veće vrednosti indeksa konzistencije bezglutenskog testa rezultovale su hlebom veće specifične zapremine i manjom tvrdoćom sredine. Nešto veće specifične zapremine zabeležene su kod bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke, iako na same vrednosti indeksa konzistencije nije značajnije uticala vrsta vlakana.

5.7.2 TEHNOLOŠKI I SENZORSKI KVALITET BEZGLUTENSKOG HLEBA SA VLAKNIMA ŠEĆERNE REPE I VLAKNIMA JABUKE

Poređenjem rezultata parametara tehnološkog i senzorskog kvaliteta bezglutenskog hleba u zavisnosti od vrste dodatih vlakana uočavaju se određene razlike pre svega u vrednostima tehnoloških parametara koje su naročito značajne kod specifične zapremine, tvrdoće sredine hleba i otpora pri žvakanju (Tabele 26 i 30) kao i boje kore i sredine hleba (Tabele 24 i 25; 28 i 29). Specifična zapremina bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke je za 40–60% veća u poređenju sa specifičnom zapreminom bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe. Uzimajući u obzir obrnutu zavisnost između zapremine i tvrdoće sredine evidentno je da su uzorci bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke imali i mekšu sredinu i to za 40–90%. Najveća specifična zapremina (3,97 cm³/g) zabeležena je kod uzorka koji je u svom sastavu imao 4% HPMC, 7% vlakana jabuke i 190% vode, a shodno tome i najmanja tvrdoća od 2,10 N. Kako je otpor pri žvakanju direktno povezan sa tvrdoćom sredine, manje vrednosti ovog parametra su takođe zabeležene kod bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke. SEM mikrofografije sredine bezglutenskog hleba sa različitom količinom vlakana šećerne repe i jabuke prikazane su na Slici 31.



Slika 31. SEM mikrografije sredine bezglutenskog hleba sa 3% (a) i 7% (b) vlakana šećerne repe, i 3% (c) i 7% (d) vlakana jabuke

Rezultati merenja boje kore i sredine bezglutenskog hleba ukazuju na veći udeo zelenog tona (negativne vrednosti parametra a^*) u boji bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe, odnosno crvenog tona (pozitivne vrednosti parametra a^*) u boji bezglutenskog hleba sa vlaknima jabuke (Slike 25 i 29).

Tehnološka i senzorska svojstva uzoraka bezglutenskog hleba sa različitim vrstom i količinom vlakana, kod kojih je postignut najbolji kvalitet, prikazana su u Tabeli 32. Razmatrajući uticaj povećanja količine vlakana šećerne repe ili jabuke takođe se uočavaju određene razlike pre svega u tehnološkim parametrima kvaliteta. Dodatak vlakana šećerne repe od 7% povećao je tvrdoću i otpor pri žvakanju bezglutenskog hleba za oko 30%, a smanjio zapreminu hleba za 15% u poređenju sa bezglutenskim hlebom sa 3% vlakana šećerne repe (Tabela 32).

Tabela 32. Parametri tehnološkog i senzorskog kvaliteta bezglutenskog hleba u zavisnosti od vrste i količine vlakana

	Uzorak 2		Uzorak 4	
	VŠR	VJ	VŠR	VJ
HPMC (%)	4	4	4	4
VŠR/VJ (%)	3	3	7	7
Voda (%)	220	190	220	190
SZ (cm ³ /g)	2,44	3,29	2,08	3,97
Tvrdoća (N)	2,29	2,60	3,30	2,10
Kohezivnost	0,49	0,43	0,48	0,44
Naknadna elastičnost	0,89	0,80	0,87	0,82
Otpor pri žvakanju	100,23	91,06	142,04	78,13
Inicijalna elastičnost	0,21	0,16	0,20	0,17
Boja kore				
L*	65,44	56,75	56,50	53,15
a*	5,82	11,14	9,29	12,19
b*	35,20	31,17	30,83	27,70
Boja sredine				
L*	72,38	71,57	72,68	61,37
a*	-3,19	0,47	-3,59	3,27
b*	27,87	22,00	20,70	21,93
Ukupan broj bodova	40	36,4	37,5	36,8
Kategorija kvaliteta	odličan	odličan	odličan	odličan

HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe; VJ – vlakna jabuke; SZ – specifična zapremina

Povećane vrednosti pomenutih parametara kod uzorka sa 7% vlakana šećerne repe nisu značajnije narušile senzorske osobine bezglutenskog hleba, jer je ukupan broj bodova bio u intervalu koji pripada kategoriji odličan kvalitet proizvoda (Tabela 32). Pri povećanju količine vlakana jabuke sa 3 na 7% uočen je suprotan efekat, odnosno smanjenje tvrdoće i otpora pri žvakanju za oko 15% dok se zapremina bezglutenskog hleba povećala za 17% (Tabela 32).

Razlike u ocenama senzorskih parametara bile su najizraženije kod ukusa bezglutenskog hleba, pri čemu je bezglutenski hleb sa vlaknima šećerne repe, verovatno zbog veće dopadljivosti i sličnosti sa tradicionalnim proizvodom kukuruznom projom, dobio veće ocene i veći ukupan broj bodova (Slike 26 i 30, Tabela 32).

5.7.3 NUTRITIVNA VREDNOST BEZGLUTENSKOG HLEBA SA VLAKNIMA ŠEĆERNE REPE I VLAKNIMA JABUKE

Ispitivanje mogućnosti poboljšanja nutritivne vrednosti bezglutenskog hleba, pre svega povećanja sadržaja prehrambenih vlakana, predstavlja postavljeni cilj ovog istraživanja. Rezultati određivanja nutritivne vrednosti bezglutenskog hleba sa 3 i 7% vlakana šećerne repe odnosno vlakana jabuke koji su nakon senzorske ocene kategorisani kao odlični predstavljani su u Tabeli 33.

Tabela 33. Nutritivna vrednost uzoraka bezglutenskog hleba sa 3 i 7% vlakana šećerne repe ili jabuke izražena u g/100 g

	Uzorak 2		Uzorak 4	
	VŠR	VJ	VŠR	VJ
HPMC (%)	4	4	4	4
VŠR/VJ (%)	3	3	7	7
Voda (%)	220	190	220	190
Energetska vrednost	775 kJ 183 kcal	915 kJ 216 kcal	779 kJ 184 kcal	907 kJ 215 kcal
Masti	2,31	2,86	2,46	2,93
Ugljeni hidrati	36,10	42,66	35,51	41,26
Ukupna prehrambena vlakna	4,98	4,56	6,07	5,89
Proteini	2,14	2,80	2,14	2,98

Sadržaj ugljenih hidrata izračunat je prema formuli: $100 - (\text{vlaga} + \text{pepeo} + \text{proteini} + \text{masti} + \text{ukupna prehrambena vlakna})$; HPMC – hidroksipropil metil celuloza; VŠR – vlakna šećerne repe; VJ – vlakna jabuke;

Sadržaj vlage u uzorcima bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe je oko 50 g/100 g i veći je u poređenju sa bezglutenskim hlebom sa vlaknima jabuke (oko 45 g/100 g). Veći sadržaj vlage verovatno je posledica većeg kapaciteta zadržavanja vode vlakana šećerne repe u odnosu na vlakna jabuke. Vrednosti sadržaja pepela uzoraka bezglutenskog hleba su u intervalu od 2,55 do 2,64 g/100 g, bez značajnog uticaja vrste vlakana.

Energetska vrednost bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i vlaknima jabuke je u granicama od 775 do 915 kJ/100 g (Tabela 33) i niža je u poređenju sa energetsom vrednošću komercijalnog bezglutenskog hleba na

tržištu Brazila prema rezultatima nedavno sprovedene studije (Santos i sar., 2019). Bezglutenski hleb sa vlaknima jabuke imao je veću energetska vrednost u odnosu na bezglutenski hleb sa vlaknima šećerne repe (Tabela 33) usled većeg sadržaja ugljenih hidrata uključujući i proste šećere prirodno prisutne u vlaknima jabuke. Vrednosti dobijene za sadržaj masti i proteina u uzorcima bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i jabuke (Tabela 33) u saglasnosti su sa vrednostima navedenih parametara dobijenim za komercijalno dostupne bezglutenske hlebove (Matos Segura, Rosell, 2011). Uzorci bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe i vlaknima jabuke imali su manji sadržaj ugljenih hidrata (35,51–42,66 g/100 g) u poređenju sa literaturnim podacima za komercijalne (Matos Segura, Rosell, 2011) i uzorke bezglutenskog hleba na bazi kinoe i amaranta sa dodatim zaslađivačima (Machado Alencar i sar., 2015). Pri dodatku 3% vlakana šećerne repe ili jabuke sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana u bezglutenskom hlebu bio je 4,98 i 4,56 g/100 g, dok se pri dodatku 7% vlakana šećerne repe ili jabuke povećao na 5,89 odnosno 6,07 g/100 g (Tabela 33). Shodno dobijenom sadržaju ukupnih prehrambenih vlakana, prema Eur-lex-u (2006) i u skladu sa zahtevima Pravilnika o deklarisanju, označavanju i reklamiranju hrane („Sl. Glasnik RS“, br. 19/2017 i 16/2018) dobijeni optimalni uzorci bezglutenskog hleba mogu nositi nutritivnu izjavu „izvor vlakana“ s obzirom na to da sadrže više od 3 g vlakana na 100 g proizvoda. Vrednosti dobijene za sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana u ovom istraživanju u skladu su sa prethodno objavljenim rezultatima za bezglutenski hleb obogaćen vlaknima žita i pomorandže (Sabanis i sar., 2009; O’Shea i sar., 2015a).

6

ZAKLJUČAK

Rezultati istraživanja ove disertacije potvrdili su mogućnost primene sporednih proizvoda industrije šećera i prerade voća bogatih prehranbenim vlaknima u proizvodnji bezglutenskog hleba. Na bazi rezultata prikazanih u okviru ove disertacije izvedeni su sledeći zaključci:

- Vlakna šećerne repe i vlakna jabuke odlikuju se visokim sadržajem prehranbenih vlakana (78%, odnosno 55%) i zapreminskim srednjim prečnikom od 280 μm , odnosno 120 μm . Bolje hidratacione osobine (veći kapacitet zadržavanja vode, vezivanja vode i veća sposobnost bubrenja) vlakana šećerne repe omogućile su dodatak veće količine vode u zames bezglutenskog testa sa vlaknima šećerne repe u odnosu na testo sa vlaknima jabuke.
- Svi uzorci bezglutenskog testa ispoljavali su pseudoplastično ponašanje sa vrednostima indeksa proticanja u opsegu 0,67–0,99. Sadržaj HPMC i vode ima statistički značajniji uticaj na svojstva proticanja bezglutenskog testa sa vlaknima, dok je uticaj količine i vrste vlakana prisutan, ali manje izražen. Strukturacija bezglutenskog testa, usled koje krive proticanja imaju oblik histerezisnih površina, izraženija je u uzorcima sa vlaknima jabuke.
- Povećanje sadržaja HPMC manifestovalo se značajnim povećanjem viskoziteta i koeficijenta konzistencije i smanjenjem indeksa proticanja bezglutenskog sistema nezavisno od vrste prisutnih vlakana.
- Sa povećanjem količine vlakana šećerne repe i jabuke sa 3% na 7%, pri identičnom sadržaju HPMC i vode, u većini uzoraka uočeno je povećanje viskoziteta i koeficijenta konzistencije bezglutenskog testa.
- Smanjenje indeksa proticanja zabeleženo je pri povećanju količine vlakana jabuke u uzorcima, dok je sa porastom sadržaja vlakana šećerne repe kod većine uzoraka prisutan suprotan efekat.
- Nezavisno od vrste vlakana, sa povećanjem količine vlakana i HPMC u uzorcima bezglutenskog testa elastični moduo dominira u odnosu na viskozni usled hidrokoloidnog vezivanja vode od strane HPMC i vlakana i formiranja gela u strukturi testa.
- Uzorci koji su ispoljavali elastičnije ponašanje pri dinamičkim oscilatornim merenjima pružali su i veći otpor deformaciji u fazi puzanja.
- Povećanje količine HPMC sa 2 na 4% i vlakana sa 3 na 7%, nezavisno od vrste vlakana, rezultovalo je manjim vrednostima početne (J_0), viskoelastične naknadne (J_1) i maksimalne (J_{max}) popustljivosti sistema

kao i većim vrednostima Njutnovskog viskoziteta (η_0) što je pokazatelj veće otpornosti bezglutenskog testa na primenjeni napon.

- U svim uzorcima, uočena je mala sposobnost oporavka bezglutenskog testa nakon prestanka dejstva napona, s obzirom na manje vrednosti udela elastičnih deformacija (J_e/J_{max}) u poređenju sa udelom viskoznih deformacija (J_v/J_{max}).
- Uzorci bezglutenskog testa sa preovlađujućim elastičnim osobinama i većim otporom na deformaciju obezbeđuju veću zapreminu i bolju teksturu bezglutenskog hleba.
- Pozitivan uticaj povećanja sadržaja HPMC na reološke osobine bezglutenskog testa manifestovao se boljim kvalitetom hleba (veća zapremina, manja tvrdoća sredine). Dodatak vlakana nije umanjio ključnu ulogu HPMC u razvoju i formiranju strukture bezglutenskog hleba tokom fermentacije i pečenja. Međutim, pri istom sadržaju HPMC zapremina hleba sa vlaknima jabuke veća je u proseku za 50%, a tvrdoća sredine manja za 65% u odnosu na hleb sa vlaknima šećerne repe.
- Najbolji tehnološki kvalitet hleba postignut je kod uzoraka sa maksimalnom količinom HPMC (4%), i 3 i 7% vlakana. Bezglutenski hleb sa vlaknima šećerne repe je imao za 35% manju specifičnu zapreminu u odnosu na hleb sa istom količinom vlakana jabuke.
- Bezglutenski hleb sa vlaknima jabuke odlikovao se crveno - žutom bojom sredine, manjom svetloćom boje, većim indeksom tamnjenja i nižim vrednostima indeksa beline u poređenju sa bezglutenskim hlebom sa vlaknima šećerne repe.
- Pored dobrih senzorskih svojstava hleb sa 7% vlakana jabuke karakteriše i blago gorak ukus. Ukus bezglutenskog hleba sa vlaknima šećerne repe je sličniji ukusu tradicionalnih proizvoda od kukuruznog brašna što je presudno uticalo i na veći ukupan broj bodova koji definiše senzorski kvalitet proizvoda.
- Pri dodatku 3% vlakana šećerne repe ili vlakana jabuke sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana u bezglutenskom hlebu je 4,98 g/100 g, odnosno 4,56 g/100 g, dok pri dodatku 7% vlakana iznosi oko 6 g/100 g. Ostvareni sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana je iznad propisane vrednosti za proizvode koji mogu biti nosioci nutritivne izjave „izvor vlakana“.

- Ispitivanjem uticaja vlakana šećerne repe i vlakana jabuke na reološka svojstva bezglutenskog testa, tehnološki kvalitet i nutritivnu vrednost bezglutenskog hleba definisan je sirovinski sastav i tehnološki postupak proizvodnje novog funkcionalnog i nutritivno poboljšanog proizvoda. Primena ostvarenih rezultata ove disertacije u proizvođačkoj praksi može doprineti povećanju asortimana pekarskih proizvoda namenjenih osobama obolelim od celijakije.

7

LITERATURA

- AACC International (1983). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, Method 88-04 (8th ed.). St. Paul, MN, USA: The Association.
- AACC International (1995). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, Method 32-07 (9th ed.). St. Paul, MN, USA: The Association.
- AACC International (2000). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists (10th ed.). St. Paul, MN, USA: The Association.
- Acquistucci, R. (2000). Influence of Maillard reaction on protein modification and colour development in pasta. Comparison of different drying conditions. *LWT – Food Science and Technology*, 33, 48-52. <https://doi.org/10.1006/fstl.1999.0606>
- Ahlborn, G.J., Pike, O.A., Hendrix, S.B., Hess, W.M., Huber, C.S. (2005). Sensory, mechanical, and microscopic evaluation of staling in low-protein and gluten-free breads. *Cereal Chemistry*, 82, 328-335.
- Allen, B., Orfil, C. (2018). The Availability and Nutritional Adequacy of Gluten-Free Bread and Pasta. *Nutrients*, 10, 1370. <https://doi.org/10.3390/nu10101370>
- Altobelli, E., Paduano, R., Petrocelli, R., Di Orio, F. (2014). Burden of celiac disease in Europe: a review of its childhood and adulthood prevalence and incidence as of September 2014. *Annali di igiene : medicina preventiva e di comunità*, 26, 485-498.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E., Gallagher, E. (2009). Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 60(4), 240-57. <https://doi.org/10.1080/09637480902950597>
- Anderson, J.W., Baird, P., Davis, J.R.H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67, 188-205. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x>
- Anton, A., Artfield, S. (2008). Hydrocolloids in gluten-free breads: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(1), 11-23. <https://doi.org/10.1080/09637480701625630>
- AOAC (1991). Total, soluble and insoluble dietary fiber in foods. AOAC Official Method 991.43. Association of Official Analytical Chemists.
- Arendt, E.K., Renzetti, S., Dal Bello, F. (2009). Dough Microstructure and Textural aspects of Gluten-Free Yeast Bread and biscuits. In: E. Gallagher (Ed.), *Gluten-Free Food Science and Technology*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, (pp. 107-128).
- Barnes, H. (2000). *A Handbook of Elementary Rheology*. University of Wales, Aberystwyth.
- Bascunan, K.A, Vespa, M.C., Araya, M. (2017). Celiac disease: understanding the gluten-free diet. *European Journal of Nutrition*, (56), 449-459. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1238-5>
- Bell, D.A. (1990). Methylcellulose as a structure enhancer in bread baking. *Cereal Food World*, 35, 1001-1006.
- Bertin, C., Rouau, X., Thibault, J-F. (1988). Structure and properties of sugar beet fibres. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 44, 15-29.

- Bloksma, A.H. (1990). Rheology of the breadmaking process. *Cereal Foods World*, 35, 228-236.
- Broughton, N., Dalton, C., Jones, G., Williams, E. (1995). Adding value to sugar beet pulp. *International Sugar Journal*, 97, 57-60, 93-95.
- Cagely, P.M., Kysilka, J.O., McGillivray, T.D. (1992). Process for the improvement of edible fiber and product. Patent Number U.S. 5, 112, 638.
- Cappa, C., Lucisano, M., Mariotti, M. (2013). Influence of Psyllium, sugar beet fibre and water on gluten-free dough properties and bread quality. *Carbohydrate Polymers*, 98, 1657-1666. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.007>
- Capriles V.D., Arêas, J.A.G. (2013). Effects of prebiotic inulin-type fructans on structure, quality, sensory acceptance and glycemic response of gluten-free breads. *Food & Function*, 4(1), 104-10. <https://doi.org/10.1039/c2fo10283h>
- Capriles, V., Arêas, J.A. (2014). Novel approaches in gluten-free breadmaking: interface between food science, nutrition and health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 871-890. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12091>
- Capriles, V., dos Santos, F., Arêas, J.A. (2016). Gluten-free breadmaking: Improving nutritional and bioactive compounds. *Journal of Cereal Science*, 67, 83-91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2015.08.005>
- Cato, L., Gan, J.J., Rafael, L.G.B., Small, D.M. (2004). Gluten free breads using rice flour and hydrocolloid gums. *Food Australia*, 56, 75-78.
- Christensen, E.H. (1989). Characteristics of sugar beet fiber allow many food uses. *Cereal Foods World*, 34, 541-544.
- CIE (1976). International Commission on Illumination, Colorimetry, Official Recommendation of the International Commission on Illumination. Publication CIE No. (E-1.31), Paris, France: Bureau Central de la CIE.
- Codex Standard 118-1979, (2008). Codex Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten. Codex Alimentarius Commission. Revision 1.
- Cornicelli, M., Saba, M., Machello, N., Silano, M., Neuhold S. (2018). Nutritional composition of gluten-free food versus regular food sold in the Italian market. *Digestive and Liver Disease*, 50(12), 1305-1308. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2018.04.028>
- Costantini, L., Lukšič, L., Molinari, R., Kreft, I., Bonafaccia, G., Manzi, L., Merendino, N. (2014). Development of gluten-free bread using tartary buck- wheat and chia flour rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. *Food Chemistry*, 165(15), 232-240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.095>
- Crockett, R., Ie, P., Vodovotz, Y. (2011b). Effects of soy protein isolate and egg white solids on the physicochemical properties of gluten-free bread. *Food Chemistry*, 129(1), 84-91. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.030>
- Crockett, R., Vodovotz, P., Ie, Y. (2011a). How do xanthan and hydroxypropyl methylcellulose individually affect the physicochemical properties in a model gluten-free dough? *Journal of Food Science*, 76, 274-282. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02088.x>

- Cummings, J.H., Mann, J.I., Nishida, C., Vorster, H.H. (2009). Dietary fibre: an agreed definition. *Lancet*, 373(9661), 365–366.
- Czaja-Bulsa, G. (2015). Non coeliac gluten sensitivity: A new disease with gluten intolerance. *Clinical Nutrition*, 34, 189-194. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2014.08.012>
- Dapčević Hadnađev, T. (2013). Uticaj dodatka emulgujućih skrobova na tehnološke karakteristike testa i kvalitet hleba. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu.
- de la Hera, E., Rosell, C.M., Gomez, M. (2014). Effect of water content and flour particle size on gluten-free bread quality and digestibility. *Food Chemistry*, 151, 526–531. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.115>
- de la Hera, E., TALEGÓN, M., Caballero, P., GÓMEZ, M. (2013). Influence of maize flour particle size on gluten-free breadmaking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 924–932. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5826>
- Demirkesen, I., Campanella, O.H., Sumnu, G., Sahin, S., Hamaker, B.R. (2014b). A study on staling characteristics of gluten-free breads prepared with chestnut and rice flours. *Food and Bioprocess Technology*, 7(3), 806-820. <https://doi.org/10.1016/10.1007/s11947-013-1099-3>
- Demirkesen, I., Kelkar, S., Campanella, O.H., Sumnu, G., Sahin, S., Okos, M. (2014a). Characterization of structure of gluten-free breads by using X-ray Microtomography. *Food Hydrocolloids*, 36, 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.09.002>
- Demirkesen, I., Mert, B., Sumnu, G., Sahin, S. (2010b). Utilization of chestnut flour in gluten-free bread formulations. *Journal of Food Engineering*, 101, 329-336. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.07.017>
- Demirkesen, I., Mert, B., Sumnu, G., Sahin, S. (2010a). Rheological properties of gluten-free bread formulations. *Journal of Food Engineering*, 96(2), 295–303. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.004>
- Demirkesen, I., Sumnu, G., Sahin, S. (2013). Image Analysis of gluten-free breads prepared with chestnut and rice flour and baked in different ovens. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 1749-1758. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0850-5>
- Dinand, E., Chanzy, H., Vignon, M. (1996). Parenchymal cell cellulose from sugar beet pulp: preparation and properties. *Cellulose*, 3, 183–188.
- Dinand, E., Chanzy, H., Vignon, M.R. (1998). Suspensions of cellulose microfibrils from sugar beet pulp. *Food Hydrocolloids*, 13, 275-283.
- Dłużewska, E., Marciniak-Lukasiak, K., Kurek, N. (2015). Effect of transglutaminase additive on the quality of gluten-free bread. *CyTA - Journal of Food*, 13(1), 80-86. <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.917336>
- do Nascimento, A., Fiates, G., dos Anjos, A., Teixeira, E. (2013). Analysis of ingredient lists of commercially available gluten-free and gluten-containing food products using the text mining technique. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 64(2), 217–222. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.718744>

- Dobraszczyk, B.J. (1997). Development of a new dough inflation system to evaluate doughs. *Cereal Foods World*, 42, 516–519.
- Dobraszczyk, B.J., Morgenstern, M.P. (2003). Rheology and the Breadmaking Process. *Journal of Cereal Science*, 38(3), 229-245. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(03\)00059-6](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(03)00059-6)
- Dreher, M. (1999). Food sources and uses of dietary fiber. In: S. S. Cho, L. Prosky, & M. Dreher (Eds.), *Complex carbohydrates in foods*. CRC Press, New York, USA (pp. 327–371).
- Dronnet, V., Renard, C., Axelos, M., Thibault, J-F. (1997). Binding of divalent metal cations by sugar-beet pulp. *Carbohydrate Polymers*, 34, 73-82.
- Đorđević, M. (2013). Proizvodnja prehrambenih vlakana. Završni rad, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu.
- Đorđević, M. (2014). Definisanje kvaliteta vlakana šećerne repe namenjenih izradi hleba poboljšane nutritivne vrednosti. Master rad, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu.
- Đurišić, S., Lazić, S., Petrović, T., Savić-Jevđenić, S., Lupulović, D. (2003). Immunoenzyme: Elisa diagnostics in veterinary medicine. *Veterinarski glasnik*, 57(1-2), 63-72.
- Edwards, N.M., Dexter, J.E., Scanlon, M.G., Cenkowski, S. (1999). Relationship of creep-recovery and dynamic oscillatory measurements to durum wheat physical dough properties. *Cereal Chemistry*, 76, 638–645.
- Edwards, N.M., Scanlon, M.G., Kruger, J.E., Dexter, J.E. (1996). Oriental noodle dough rheology: relationship to water absorption, formulation, and work input during dough sheeting. *Cereal Chemistry*, 73, 708–711.
- Elgeti, D., Nordlohne, S.D., Föste, M., Besl, M., Linden, M.H., Heinz, V., Jekl, M., Becker, T. (2014). Volume and texture improvement of gluten-free bread using quinoa white flour. *Journal of Cereal Science*, 59, 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.10.010>
- Eur-lex (2006). 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. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX:32006R1924>. Pristupljeno 08.02. 2019.
- Ferry, J.D. (1980). *Viscoelastic Properties of Polymers*. Wiley, New York.
- Figuerola, F., Hurtado, M.L., Estévez, A.M., Chiffelle, I., Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, 91, 395–401. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.036>
- Foschia, M., Horstmann, S., Arendt, E.K., Zannini, E. (2016). Nutritional therapy – Facing the gap between coeliac disease and gluten-free food. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 113–124. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.014>
- Fratelli, C., Muniz, D.G., Santos, F.G., Capriles, V.D. (2018). Modelling the effects of psyllium and water in gluten-free bread: An approach to improve the bread

- quality and glycemic response. *Journal of Functional Foods*, 42, 339–345.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.01.01>
- Fry, L., Madden, A.M., Fallaize, R. (2018). An investigation into the nutritional composition and cost of gluten-free versus regular food products in the UK. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 31, 108–120.
<https://doi.org/10.1111/jhn.12502>
- Gallagher E., Polenghi O., Gormley T.R. (2002). Improving the quality of gluten-free breads. *Farm and Food*, 12, 8–13.
- Gambús, H. (2005). Linseed (*Linum usitatissimum* L.) as a source of nutrients in gluten-free bread. *ZYWNOSC-Nauka Technologia Jakosc*, 45, 61–74.
- Gan, Z., Ellis, P.R., Schofield, J.D. (1995). Gas cell stabilization and gas retention in wheat bread dough. *Journal of Cereal Science*, 21, 215–230.
<https://doi.org/10.1006/jcrs.1995.0025>
- Gobbetti, M., Pontonio, E., Filannino, P., Rizzello, C.G., De Angelis, M., Di Cagno, R. (2017). How to improve the gluten-free diet: The state of the art from a food science perspective. *Food Research International*, 110, 22–32.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.04.010>
- Gomaa, A., Boye, J. (2015). Simultaneous detection of multi-allergens in an incurred food matrix using ELISA, multiplex flow cytometry and liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS). *Food Chemistry*, 175, 585–592.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.017>
- Govedarica, O. (2017). Određivanje optimalnih uslova izvođenja procesa epoksidovanja biljnih ulja persirćetnom kiselinom. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu.
- Green, P.H.R., Lebwohl, B., Greywoode, R. (2015). Celiac disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 135(5), 1099–1106.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2015.01.044>
- Gujral, H., Rosell, C.M. (2004a). Functionality of rice flour modified with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science*, 39, 225–230.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.10.004>
- Gujral, H.S., Rosell, C.M. (2004b). Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Research International*, 37, 75–81.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.08.001>
- Gyura, J., Šereš, Z., Pajin, B., Šoronja Simović, D. (2016) Proizvodnja i primena prehrambenih vlakana, Deo 1. Tehnološki fakultet Novi Sad, Novi Sad, Srbija.
- Hager, A.S., Arendt, E.K. (2013). Influence of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), xanthan gum and their combination on loaf specific volume, crumb hardness and crumb grain characteristics of gluten-free breads based on rice, maize, teff and buckwheat. *Food Hydrocolloids*, 32, 195–203.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.12.021>
- Hager, A.S., Ryan, L.A.M., Schwab, C., Gänzle, M.G., O'Doherty, J.V., Arendt, E.K. (2011). Influence of the soluble fibres inulin and oat β-glucan on quality of dough and bread. *European Food Research and Technology*, 232(3), 405–413.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-010-1409-1>

- Horstmann, S.W., Foschia M., Arendt, E.K. (2017). Correlation analysis of protein quality characteristics with gluten-free bread properties. *Food & Function*, 8, 2465-2474. <http://dx.doi.org/10.1039/c7fo00415j>
- Houben, A., Hochstotter, A., Becker, T. (2012). Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: an overview. *European Food Research and Technology*, 235(2), 195–208. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-012-1720-0>
- Hsua, C.-L., Chen, W., Wenga, Y.-M., Tseng, C.-Y. (2003). Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, 83, 85–92. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00053-0)
- ISO 8586–2 (2008). Sensory analysis–General guidance for the selection, training and monitoring of assessors–Part 2: Expert sensory assessors. International Organization for Standardization.
- ISO 8589 (2007). Sensory analysis–General guidance for the design of test rooms. International Organization for Standardization.
- Juszczak, L., Witczak, T., Ziobro, R., Korus, J., Cieślík, E., Witczak, M. (2012). Effect of inulin on rheological and thermal properties of gluten-free dough. *Carbohydrate Polymers*, 90, 353–360. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.071>
- Kaluđerski, G., Filipović, N. (1998). Metode ispitivanja kvaliteta žita, brašna i gotovih proizvoda. Tehnološki fakultet, Zavod za tehnologiju žita i brašna, Novi Sad.
- Kendall, C.W.C., Esfahani, A., Jenkins, D.J.A. (2010). The link between dietary fibre and human health. *Food Hydrocolloids*, 24, 42–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.08.002>
- Khosla, C., Gray, G.M., Sollid, L.M. (2005). Putative efficacy and dosage of prolyl endopeptidase for digesting and detoxifying gliadin peptides. *Gastroenterology*, 129, 1362-1363. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.08.044>
- Khuri, A.I. (2006). Response surface methodology and related topics. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapur.
- Kieffer, R., Schurer, F., Koehler, P., Wieser, H. (2007). Effect of hydrostatic pressure and temperature on the chemical and functional properties of wheat gluten: studies on gluten, gliadin and glutenin. *Journal of Cereal Science*, 45, 285-292. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.11.004>
- Kinsey, L., Burden, S., Bannerman, E. (2008). A dietary survey to determine if patients with coeliac disease are meeting current healthy eating guidelines and how their diet compares to that of the British general population. *European Journal of Clinical Nutrition*, 62(11), 1333–1342. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602856>
- Kiskini, A., Argiri, K., Kalogeropoulos, M., Komaitis, M., Kostaropoulos, A., Mandala, I., Kapsokefalou, M. (2007). Sensory characteristics and iron dialyzability of gluten-free bread fortified with iron. *Food Chemistry*, 102(1), 309–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.022>
- Kittisuban, P., Ritthiruangdej, P., Suphantharik, M. (2014). Optimization of hydroxypropylmethylcellulose, yeast β -glucan, and whey protein levels based on physical properties of gluten-free rice bread using response surface

- methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 57, 738-748. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.045>
- Koehler, P., Schwalb, T., Immer, U., Lacorn, M., Wehling, P., Don, C. (2013a). AACCI approved methods technical committee report: collaborative study on the immunochemical determination of intact gluten using an R5 sandwich ELISA. *Cereal Foods World*, 58, 36-40. <https://doi.org/10.1094/CFW-58-1-0036>
- Koehler, P., Schwalb, T., Immer, U., Lacorn, M., Wehling, P., Don, C. (2013b). AACCI approved methods technical committee report: collaborative study on the immunochemical determination of partially hydrolyzed gluten using an R5 competitive ELISA. *Cereal Foods World* 58, 154-158. <https://doi.org/10.1094/CFW-58-3-0402>
- Korus, J., Grzelak, K., Achremowicz, K., Sabat, R. (2006). Influence of prebiotic additions on the quality of gluten-free bread and on the content of inulin and fructooligosaccharides. *Food Science and Technology International*, 12(6), 489-95. <https://doi.org/10.1177/1082013206073072>
- Korus, J., Juszczak, L., Ziobro, R., Witczak, M., Grzelak, K., Sójka, M. (2012). Defatted strawberry and blackcurrant seeds as functional ingredients of gluten free bread. *Journal of Texture Studies*, 43, 29-39. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2011.00314.x>
- Korus, J., Witczak, M., Ziobro, R., Juszczak, L. (2009). The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 988-95. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.010>
- Korus, J., Witczak, M., Ziobro, R., Juszczak, L. (2015a). The influence of acorn flour on rheological properties of gluten-free dough and physical characteristics of the bread. *European Food Research and Technology*, 240, 1135-1143. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2417-y>
- Korus, J., Witczak, M., Ziobro, R., Juszczak, L. (2015b). Linseed (*Linum usitatissimum* L.) mucilage as a novel structure forming agent in gluten-free bread. *LWT - Food Science and Technology*, 62, 257-264. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.040>
- Krupa-Kozak, U., Altamirano-Fortoul, R., Wronkowska, M., Rosell, C. (2012). Breadmaking performance and technological characteristic of gluten-free bread with inulin supplemented with calcium salts. *European Food Research and Technology*, 235(3), 545-54. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1782-z>
- Krupa-Kozak, U., Troszynska, A., Baczek, N., Soral-Smietana, M. (2011). Effect of organic calcium supplements on the technological characteristic and sensory properties of gluten-free bread. *European Food Research and Technology*, 232(3), 497-508. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1421-5>
- Ktenioudaki, A., Gallagher, E. (2012). Recent advances in the development of high-fibre baked products. *Trends in Food Science & Technology*, 28, 4-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.06.004>
- Ktenioudaki, A., O'Shea, N., Gallagher, E. (2013). Rheological properties of wheat dough supplemented with functional by-products of food processing: Brewer's

- spent grain and apple pomace. *Journal of Food Engineering*, 116, 362–368. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.12.005>
- Lapasin, R. Pricl, S. (1995). *Rheology of Industrial Polysaccharides*. Blackie Academic & Professional, London, UK, (pp. 351–373).
- Lazaridou, A., Biliaderis, C.G. (2009). Gluten-free doughs: rheological properties, testing procedures–methods and potential problems. In: Gallagher, E. (Ed.), *Gluten-free food science and technology*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, (pp. 52–82).
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C.G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 1033–1047. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.03.032>
- Lee, B. (1988). Process for cleaning sugar beet pulp. U.S. Patent 4, 770, 886.
- Lee, M., Lee, Y. (2006). Properties of gluten-free rice breads using different rice flours prepared by dry, wet and semi-wet milling. *Food Engineering Progress*, 10, 180–185.
- Lopez, A.C.B., Pereira, A.J.G., Junqueira, R.G. (2004). Flour mixture of rice flour, corn and cassava starch in the production of gluten-free white bread. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47, 63–70.
- Lundberg, B., Pan, X., White, A., Chau, H., Hotchkiss, A. (2014). Rheology and composition of citrus fibre. *Journal of Food Engineering*, 125, 97–104. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.021>
- Machado Alencar, N.M., Steel, C.J., Alvim, I.D., Carvalho de Morais, E., Andre-Bolini, H.M. (2015). Addition of quinoa and amaranth flour in gluten-free breads: Temporal profile and instrumental analysis. *LWT – Food Science and Technology*, 62(2), 1011–1018. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.02.029>
- Mancebo, C.M., Miguel, M.A.S., Martinez, M.M., Gomez, M. (2015). Optimisation of rheological properties of gluten-free doughs with HPMC, psyllium and different levels of water. *Journal of Cereal Science*, 61, 8–15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2014.10.005>
- Marco, C., Rosell, C.M. (2008a). Functional and rheological properties of protein enriched gluten free composite flours. *Journal of Food Engineering*, 88(1), 94–103. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.01.018>
- Marco, C., Rosell, C.M. (2008b). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 227, 1205–1213. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0838-6>
- Mariotti, M., Lucisano, M., Pagani, M., Ng, P.K.W. (2009). The role of corn starch, amaranth flour, pea isolate, and Psyllium flour on the rheological properties and the ultrastructure of gluten-free doughs. *Food Research International*, 42(8), 963–975. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.04.017>
- Mariotti, M., Pagani, M.A., Lucisano, M. (2013). The role of buckwheat and HPMC on the breadmaking properties of some commercial gluten-free bread mixtures. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.07.005>

- Martínez, M.M., Díaz, Á., Gómez, M. (2014). Effect of different microstructural features of soluble and insoluble fibres on gluten-free dough rheology and bread-making. *Journal of Food Engineering*, 142, 49–56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.06.020>
- Martínez, M.M., Gómez, M. (2017). Rheological and microstructural evolution of the most common gluten-free flours and starches during bread fermentation and baking. *Journal of Food Engineering*, 197, 78-86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.11.008>
- Matos Segura, M.E., Rosell, C.M. (2011). Chemical composition and starch digestibility of different gluten-free breads. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66, 224–230. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0244-2>
- Matos, M.A., Rosell, C.M. (2013). Quality indicators of rice-based gluten-free bread-like products: relationships between dough rheology and quality characteristics. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 2331-2341. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0903-9>
- Matos, M.E., Rosell C.M. (2015). Understanding gluten-free dough for reaching breads with physical quality and nutritional balance. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 653–661. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6732>
- Mena, M.C., Lombardía, M., Hernando, A., Mendez, E., Albar, J.P. (2012). Comprehensive analysis of gluten in processed foods using a new extraction method and a competitive ELISA based on the R5 antibody. *Talanta*, 91, 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.12.073>
- Mendez, E., Vela, C., Immer, U., Janssen, F.W. (2005). Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 17, 1053-1063. <https://doi.org/10.1097/00042737-200510000-00008>
- Mezger, T. (2002). *The Rheology Handbook: For users of rotational and oscillation rheometers*, 1st ed. Vincentz Verlag, Hannover.
- Minarro, B., Albanell, E., Aguilar, N., Guamis, B., Capellas, M. (2012). Effect of legume flours on baking characteristics of gluten-free bread. *Journal of Cereal Science*, 56, 476-481. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.04.012>
- Mir, S.A., Shah, M.A., Naik, H.R., Zargar, I.A. (2016). Influence of hydrocolloids on dough handling and technological properties of gluten-free breads. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 49-57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.005>
- Miranda, J., Lasa, A., Bustamante, M.A., Churruga, I., Simon, E. (2014). Nutritional differences between a gluten-free diet and a diet containing equivalent products with gluten. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69, 182–187. <https://doi.org/10.1007/s11130-014-0410-4>
- Mohammadi, M., Sadeghnia, N., Azizi, M.H., Neyestani, T.R., Mortazavian, A.M. (2014). Development of gluten-free flat bread using hydrocolloids: xanthan and CMC. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20, 1812-1818. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2013.08.035>

- Moore, M.M., Heinbockel, M., Dockery, P., Ulmer, H.M., Arendt, E.K. (2006). Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. *Cereal Chemistry*, 83, 28-36. <https://doi.org/10.1094/CC-83-0028>
- Moreira, R., Chenlo, F., Torres, M.D. (2013). Effect of chia (*Sativa hispanica* L.) and hydrocolloids on the rheology of gluten-free doughs based on chestnut flour. *LWT - Food Science and Technology*, 50, 160-166. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.06.008>
- Morreale, F., Benavent-Gil, Y., Rosell, C.M. (2019). Inulin enrichment of gluten free breads: interaction between inulin and yeast. *Food Chemistry*, 278, 545-551. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.066>
- Morreale, F., Garzón, R., Rosell, C.M. (2018). Understanding the role of hydrocolloids viscosity and hydration in developing gluten-free bread. A study with hydroxypropylmethylcellulose. *Food Hydrocolloids*, 77, 629-635. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.004>
- Naqash, F., Gani, A., Gani, A., Masoodi, F.A. (2017). Gluten-free baking: Combating the challenges - A review. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 98-107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.004>
- Nawirska, A., Kwaśniewska, M. (2005). Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. *Food Chemistry*, 91, 221-225. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.10.005>
- Nicolae, A., Radua, G.L., Belc, N. (2016). Effect of sodium carboxymethyl cellulose on gluten-free dough rheology. *Journal of Food Engineering*, 168, 16-19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.07.006>
- Nikolić, I. (2015). Fizičke i senzorske karakteristike funkcionalnih prehrambenih namaza na bazi celuloznih hidrokoloida i brašna pogače uljane tikve. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu.
- Nitcheu Ngemakwe, P.H., Le Roes-Hill, M., Jideani, V.A. (2014). Advances in gluten-free bread technology. *Food Science and Technology International*, 21(4), 256-276. <https://doi.org/10.1177/1082013214531425>
- Nunes, M., Moore, M., Ryan, L., Arendt, E. (2009b). Impact of emulsifiers on the quality and rheological properties of gluten-free breads and batters. *European Food Research and Technology*, 228(4), 633-642. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-008-0972-1>
- Nunes, M., Ryan, L., Arendt, E. (2009a). Effect of low lactose dairy powder addition on the properties of gluten-free batters and bread quality. *European Food Research and Technology*, 229(1), 31-41. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-009-1023-2>
- O'Shea, N., Ktenioudaki, A., Smyth, T.P., McLoughlin, P., Doran, L., Auty, M.A.E., Arendt, E., Gallagher, E. (2015b). Physicochemical assessment of two fruit by-products as functional ingredients: Apple and orange pomace. *Journal of Food Engineering*, 153, 89-95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.12.014>
- O'Shea, N., Rößle, C., Arendt, E., Gallagher, E. (2015a). Modelling the effects of orange pomace using response surface design for gluten-free bread baking. *Food Chemistry*, 166, 223-230. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.157>

- Onyango, C., Mutungi, C., Unbehend, G., Lindhauer, M.G. (2010). Rheological and baking characteristics of batter and bread prepared from pregelatinised cassava starch and sorghum and modified using microbial transglutaminase. *Journal of Food Engineering*, 97, 465–470. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.11.002>
- Onyango, C., Unbehend, G., Lindhauer, M. (2009). Effect of cellulose-derivatives and emulsifiers on creep-recovery and crumb properties of gluten-free bread prepared from sorghum and gelatinised cassava starch. *Food Research International*, 42(8), 949–955. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.04.011>
- Oosterveld, A., Beldman, G., Schols, H., Voragen, A. (2000). Characterization of arabinose and ferulic acid rich pectic polysaccharides and hemicelluloses from sugar beet pulp. *Carbohydrate Research*, 328, 185–197.
- Palabiyik, I., Yildiz, O., Toker, O.S., Cavus, M., Ceylan, M.M., Yurt, B. (2016). Investigating the addition of enzymes in gluten-free flours - The effect on pasting and textural properties. *LWT - Food Science and Technology*, 69, 633-641. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.019>
- Palou, E., López-Malo, A., Barbosa-Cánovas, G.V., Welte-Chanes, J., Swanson, B.G. (1999). Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of Food Science*, 64, 42–45. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb09857.x>
- Papathanasopoulos, A., Camilleri, M. (2010). Dietary fiber supplements: effects in obesity and metabolic syndrome and relationship to gastrointestinal functions. *Gastroenterology*, 138, 65-72. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2009.11.045>
- Pellegrini, N., Agostoni, C. (2015). Nutritional aspects of gluten-free products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 2380–2385. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7101>
- Pérez-Quirce, S., Caballero, P.A., Vela, A.J., Villanueva, M., Ronda, F. (2018). Impact of yeast and fungi (1–3)(1–6)- β -glucan concentrates on viscoelastic behavior and bread making performance of gluten-free rice-based doughs. *Food Hydrocolloids*, 79, 382-390. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.004>
- Pérez-Quirce, S., Collar, C., Ronda, F. (2014). Significance of healthy viscous dietary fibres on the performance of gluten-free rice-based formulated breads. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 1375–1382. <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.12439>
- Pérez-Quirce, S., Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., Ronda, F. (2017). Effect of β -glucan molecular weight on rice flour dough rheology, quality parameters of breads and in vitro starch digestibility. *LWT - Food Science and Technology*, 82, 446-453. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.065>
- Petrović, J. (2018). Valorizacija nutritivnog profila keksa proizvedenog sa dodatkom sporednih proizvoda prehrambene industrije. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu.
- Phimolsiripol, Y., Mukprasirt, A., Schoenlechner, R. (2012). Quality improvement of rice-based gluten-free bread using different dietary fibre fractions of rice bran. *Journal of Cereal Science*, 56(2), 389-395. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.06.001>

- Phongthai, S., D'Amico, S., Schoenlechner, R., Rawdkuen, S. (2016). Comparative study of rice bran protein concentrate and egg albumin on gluten-free bread properties. *Journal of Cereal Science*, 72, 38-45. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2016.09.015>
- Preichardt, L.D., Gularte, M.A. (2015). Gluten-Free Bakery products. In: R.T. Longdon, (Ed.), *Gluten-Free Diets: Food Sources, Role in Celiac Disease and Health Benefits*. Nova Science Publishers, Inc. New York, USA, (pp. 117-133).
- Raghavendra, S.N., Rastogi, N.K., Raghavendra, K.M., Tharanathan, R.N. (2004). Dietary fiber from coconut residue: effects of different treatments. *European Food Research and Technology*, 218 (6), 563–567. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-004-0889-2>
- Renzetti, S., Arendt, E.K. (2009). Effects of oxidase and protease treatments on the breadmaking functionality of a range of gluten-free flours. *European Food Research and Technology*, 229, 307-317. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1048-6>
- Renzetti, S., Behr, J., Vogel, R.F., Arendt, E.K. (2008b). Transglutaminase polymerization of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) proteins. *Journal of Cereal Science*, 48, 747-754. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.04.005>
- Renzetti, S., Behr, J., Vogel, R.F., Barbiroli, A., Iametti, S., Bonomi, F., Arendt, E.K. (2012). Transglutaminase treatment of brown rice flour: a chromatographic, electrophoretic and spectroscopic study of protein modifications. *Food Chemistry*, 131, 1076-1085. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.029>
- Renzetti, S., Dal Bello, F., Arendt, E.K. (2008a). Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science*, 48, 33-45. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.07.011>
- Renzetti, S., Rosell, C.M. (2016). Role of enzymes in improving the functionality of proteins in non- wheat dough systems. *Journal of Cereal Science*, 67, 35-45. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2015.09.008>
- Roberfroid, M.B. (2008). Prebiotics: Concept, Definition, Criteria, Methodologies, and Products. In: G.R. Gibson & M.B. Roberfroid (Eds.), *Handbook of Prebiotics*. CRC Press, Boca Raton, USA, (pp. 39-68).
- Rocha Parra, A.F., Ribotta, P.D., Ferrero, C. (2015). Apple pomace in gluten-free formulations: effect on rheology and product quality. *International Journal of Food Science and Technology*. 50, 682–690. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12662>
- Ronda, F., Perez-Quirce, S., Angioloni, A., Collar, C. (2013). Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behaviour of gluten-free formulated rice doughs: a fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids*, 32, 252-262. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.014>
- Ronda, F., Perez-Quirce, S., Lazaridou, A., Biliaderis, C.G. (2015). Effect of barley and oat β -glucan concentrates on gluten-free rice-based doughs and bread characteristics. *Food Hydrocolloids* 48, 197-207. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.031>

- Ronda, F., Pérez-Quirce, S., Villanueva, M. (2017). Rheological Properties of Gluten-Free Bread Doughs: Relationship With Bread Quality. In: J. Ahmed, P. Ptaszek, S. Basu (Eds.), *Advances in Food Rheology and Its Applications*. Woodhead Publishing, UK, (297-334). <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100431-9.00012-7>
- Rosell, C.M., Barro, F., Sousa, C., Mena, M.C. (2014). Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection. *Journal of Cereal Science*, 59, 354-364. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.10.001>
- Rozenberg, O., Lerner, A., Pacht, A., Grinberg, M., Reginashvili, D., Henig, C., Barak, M. (2012). A novel algorithm for the diagnosis of celiac disease and a comprehensive review of celiac disease diagnostic. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 42, 331-341. <http://dx.doi.org/10.1007/s12016-010-8250-y>
- Rubel, I.A., Pérez, E.E., Manrique, G.D., Genovese, D.B. (2015). Fibre enrichment of wheat bread with Jerusalem artichoke inulin: Effect on dough rheology and bread quality. *Food Structure*, 3, 21-29. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foostr.2014.11.001>
- Sabanis, D., Lebesi, D., Tzia, C. (2009). Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten-free bread. *LWT- Food Science and Technology*, 42(8), 1380-1389. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.010>
- Sabanis, D., Tzia, C. (2011a). Effect of hydrocolloids on selected properties of gluten-free dough and bread. *Food Science and Technology International*, 17(4), 279-291. <https://doi.org/10.1177/1082013210382350>
- Sabanis, D., Tzia, C. (2011b). Selected structural characteristics of HPMC- containing gluten free bread: a response surface methodology study for optimizing quality. *International Journal of Food Properties*, 14(2), 417-431. <http://dx.doi.org/10.1080/10942910903221604>
- Sangnark, A., Noomhorm, A., (2003). Effect of particle sizes on functional properties of dietary fibre prepared from sugarcane bagasse. *Food Chemistry*, 80, 221-229. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00257-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00257-1)
- Santos, F.G., Aguiar, E.V., Capriles, V.D. (2019). Analysis of ingredient and nutritional labeling of commercially available gluten-free bread in Brazil. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 70(5), 562-569. <https://doi.org/10.1080/09637486.2018.1551336>
- Sarawong, C., Gutierrez, Z., Berghofer, E., Schoenlechner, R. (2014). Effect of green plantain flour addition to gluten-free bread on functional bread properties and resistant starch content. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 1825-1833. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12491>
- Sarkar, N., Walker, L.C. (1995). Hydration dehydration properties of methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose. *Carbohydrate Polymers*, 27(3), 177-185.
- Scherf, K.A., Koehler, P., Deutsche, H.W. (2016). Gluten and wheat sensitivities - An overview. *Journal of Cereal Science*, 67, 2-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2015.07.008>
- Scherf, K.A., Poms, R.E. (2016). Recent developments in analytical methods for tracing gluten. *Journal of Cereal Science*, 67, 112-122. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2015.08.006>

- Schieber, A., Hilt, P., Streker, P., Endreß, H.U., Rentschlerb, C., Carlea, R. (2003). A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4, 99-107. [https://doi.org/10.1016/s1466-8564\(02\)00087-5](https://doi.org/10.1016/s1466-8564(02)00087-5)
- Schober, T.J. (2009). Manufacture of gluten-free speciality breads and confectionery products. In: E. Gallagher (Ed.), *Gluten-free food science and technology*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, (pp. 130-180).
- Schober, T.J., Bean, S.R. (2008). Sorghum and maize. In: E.K Arendt & F. Dal Belo (Eds.), *Gluten-free cereal products and beverages*. Academic Press, USA, (pp. 101-118).
- Schoenlechner, R., Mandala, I., Kiskini, A., Kostaropoulos, A., Berghofer, E. (2010). Effect of water, albumen and fat on the quality of gluten-free bread containing amaranth. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(4), 661-669. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02154.x>
- Sciarini, L.S., Ribotta, P.D., Leon, A.E., Perez, G.T. (2010). Effect of hydrocolloids on gluten-free batter properties and bread quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 2306-2313. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02407.x>
- Sehn, G.A.R., Nogueira, A.C., Steel, C.J. (2016). Non-conventional Raw Materials for Nutritional Improvement of Breads. In: C. Rosell, J. Bajerska, A.F. El Sheikha (Eds.), *Bread and its fortification: Nutrition and health benefits*. CRC Press, Boca Raton, USA, (pp. 248-272).
- Sharma, G.M., Pereira, M., Williams, K.M. (2015). Gluten detection in foods available in the United States – A market survey. *Food Chemistry*, 169, 120-126. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.134>
- Shepherd, S.J., Gibson, P.R., (2013). Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 26, 349-358. <http://dx.doi.org/10.1111/jhn.12018>
- Shewry, P.R., Tatham, A.S. (2016). Improving wheat to remove coeliac epitopes but retain functionality. *Journal of Cereal Science*, 67, 12-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2015.06.005> 0733-5210
- Shin, D., Kim, W., Kim, Y. (2013). Physicochemical and sensory properties of soy bread made with germinated, steamed, and roasted soy flour. *Food Chemistry*, 141, 517-523. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.005>
- Skendi, A., Mouselimidou, P., Papageorgiou, M., Papastergiadis, E. (2018). Effect of acorn meal-water combinations on technological properties and fine structure of gluten-free bread. *Food Chemistry*, 253, 119-126. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.144>
- Sl. Glasnik RS (2017). Pravilnik o deklarisanju, označavanju i reklamiranju hrane. Službeni glasnik RS, 19.
- Sl. Glasnik RS (2018). Pravilnik o deklarisanju, označavanju i reklamiranju hrane. Službeni glasnik RS, 16.
- Steffe, J.F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*, 2nd ed. Freeman Press, East Lansing, MI.

- Steffolani, E., de la Hera, E., Pérez, G., Gómez, M. (2014). Effect of Chia (*Salvia hispanica* L) Addition on the Quality of Gluten-Free Bread. *Journal of Food Quality*, 37(5), 309-317. <https://doi.org/10.1111/jfq.12098>
- Stojanović, Z., Marković, S., Uskoković, D. (2010). Merenje raspodele veličina čestica metodom difrakcije laserske svetlosti. *Novi Materijali*, 19 (5), 1–15.
- Storck, C.R., da Rosa Zavareze, E., Gualarte, M.A., Elias, M.C., Rosell, C.M., Dias, A.R.G. (2013). Protein enrichment and its effects on gluten-free bread characteristics. *LWT- Food Science and Technology* 53, 346–354. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.005>
- Sudha, M.L. (2011). Apple pomace (by-product of fruit juice industry) as a flour fortification strategy. In: V.R. Preedy, R.R. Watson, V.B. Patel (Eds.), *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*. Academic Press, USA, (pp. 395-405). <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-380886-8.10036-4>
- Sun, R., Hughes, S. (1999). Fractional isolation and physico-chemical characterization of hemicelluloses and cellulose from sugar beet pulp. *Carbohydrate Polymers*, 36, 293–299.
- Sun-Waterhouse, D., Chen, J., Chuah, C., Wibisono, R., Melton, L., Laing, W., Ferguson, L., Skinner, M. (2009). Kiwifruit-based polyphenols and related anti-oxidants for functional foods: kiwifruit extract-enhanced gluten-free bread. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 60, 251-264. <http://dx.doi.org/10.1080/09637480903012355>
- Šoronja-Simović, D., Šereš, Z., Maravić, N., Djordjević, M., Djordjević, M., Luković, J., Tepić, A. (2016). Enhancement of physicochemical properties of sugar beet fibres affected by chemical modification and vacuum drying. *Food and Bioproducts Processing*, 100, 432–439. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2016.09.003>
- Šušić, S., Kukić, G., Sinodob, V., Perunović, P., Koronsovac, B., Bašić, Đ. (1994). *Osnovi tehnologije šećera*. Industrija šećera Jugoslavije, "Jugošećer" D.D., Beograd.
- Thebaudin, J.Y., Lefebvre, A.C., Harrington, M., Bourgeois, C.M. (1997). Dietary fibres: nutritional and technology interest. *Trends in Food Science and Technology*, 8, 41–48. [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244\(97\)01007-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244(97)01007-8)
- Theethira, T.G., Dennis, M., Leffler, D.A. (2014). Nutritional consequences of celiac disease and the gluten-free diet. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 8, 123–129. <https://doi.org/10.1586/17474124.2014.876360>
- Thibault, J-F. (2000). New ways to valorize sugar beet pulp. SPRI Conference, Porto, Portugal.
- Thompson, T. (2000). Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten free diet. *Journal of The American Dietetic Association*, 100, 389–S1396. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(00\)00386-2](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(00)00386-2)
- Thompson, T., Dennis, M., Higgins, L.A., Lee, A.R., Sharrett, M.K. (2005). Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium, and grain foods? *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 18, 163–169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2005.00607.x>

- Tjebbes, J. (1988). Utilization of fiber and other non-sugar products from sugarbeet. In: M.A., Clarke & M.A. Godshall (Eds.), *Chemistry and processing of sugarbeet and sugarcane*. Amsterdam, (pp. 139-45).
- Tsatsaragkou, K., Gounaropoulos, G., Mandala, I. (2014b). Development of gluten free bread containing carob flour and resistant starch. *LWT- Food Science and Technology*, 58, 124-129. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.043>
- Tsatsaragkou, K., Yiannopoulos, S., Kontogiorgi, A., Poulli, E., Krokida, M., Mandala, I. (2012). Mathematical approach of structural and textural properties of gluten free bread enriched with carob flour. *Journal of Cereal Science*, 56, 603-609. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.07.007>
- Tsatsaragkou, K., Yiannopoulos, S., Kontogiorgi, A., Poulli, E., Krokida, M., Mandala, I. (2014a). Effect of carob flour addition on the rheological properties of gluten-free breads. *Food and Bioprocess Technology*, 7(3), 868-876. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-013-1104-x>
- Tsatsaragkou, K., Protonotariou, S., Mandala, I. (2016). Structural role of fibre addition to increase knowledge of non-gluten bread. *Journal of Cereal Science*, 67, 58-67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2015.10.003>
- Turkut, G.M., Cakmak, H., Kumcuoglu, S., Tavman, S. (2016). Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. *Journal of Cereal Science*, 69, 174-181. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2016.03.005>
- Tye-Din, J.A., Stewart, J.A., Dromey, J.A., Beissbarth, T., van Heel, D.A., Tatham, A., Henderson, K., Mannering, S.I., Gianfrani, C., Jewell, D.P., Hill, A.V.S., McCluskey, J., Rossjohn, J., Anderson, R.P. (2010). Comprehensive, quantitative mapping of T cell epitopes in gluten in celiac disease. *Science Translational Medicine*, 2, 41ra51. <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3001012>
- Van Bockstaele, F., De Leyn, I., Eeckhout, M., Dewettinck, K. (2011). Non-linear creep-recovery measurements as a tool for evaluating the viscoelastic properties of wheat flour dough. *Journal of Food Engineering*, 107(1), 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.001>
- Vergnes, B., Della Valle, G., Colonna, P. (2003). Rheological properties of biopolymers and applications to cereal processing. In: G. Kalentuz & K.J. Breslaner (Eds.), *Characterization of Cereals and Flours. Properties, analysis and Applications*. Marcel Dekker Inc, New York.
- Vici, G., Belli, L., Biondi, M., Polzonetti, V. (2016). Gluten free diet and nutrient deficiencies: A review. *Clinical Nutrition*, 35, 1236-1241. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2016.05.002>
- Walker, C.E., Hazelton, J.L. (1996). Dough rheological tests. *Cereal Foods World*, 41, 23-28.
- Weipert, D. (1990). The Benefits of Basic Rheometry in Studying Dough Rheology. *Cereal Chemistry*, 67(4), 311-317.
- Weipert, D. (1992). Descriptive and fundamental rheometry in a new light. *Cereal Foods World*, 37, 15-24.

- Weipert, D. (2006). Fundamentals of rheology and spectrometry. In: L. Popper, W. Schafer, W. Freund (Eds.), *Future of flour a compendium of flour improvement*. Clenze, Agrimedia, Germany, (pp. 117-146).
- Wieser, H., Koehler, P., Konitzer, K. (2014). *Celiac Disease and Gluten - Multidisciplinary Challenges and Opportunities*, 1st ed. Academic Press Elsevier, London, Waltham, San Diego.
- Williams, E., Conzens, A., Smith, S., Gay, M., Theobald, T., Cole, J. (1994). Palatable compositions comprising sugar beet fibre. U.K. Patent 2, 287, 636.
- Witczak, M., Ziobro, R., Juszcak, L., Korus, J. (2016). Starch and starch derivatives in gluten-free systems - A review. *Journal of Cereal Science*, 67, 46-57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2015.07.007>
- Wronkowska, M., Haros, M., Soral-Śmietana, M. (2013). Effect of starch substitution by buckwheat flour on gluten-free bread quality. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 1820-1827. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0839-0>
- Zandonadi, R.P., Botelho, A.R.B., Arunjo C.W.M. (2009). Psyllium as a substrate for gluten in bread. *Journal of the American Dietetic Association*, 109, 1781-1784.
- Zannini, E., Jones, J.M., Renzetti, S., Arendt, E.K. (2012). Functional replacements for gluten. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 227-245. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101203>
- Ziobro, R., Korus, J., Juszcak, L., Witczak, T. (2013b). Influence of inulin on physical characteristics and staling rate of gluten-free bread. *Journal of Food Engineering*, 116, 21-27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.10.049>
- Ziobro, R., Witczak, T., Juszcak, L., Korus, J. (2013a). Supplementation of gluten-free bread with non-gluten proteins. Effect on dough rheological properties and bread characteristic. *Food Hydrocolloids*, 32, 213-220. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.006>
www.drugs.com/mcd/celiac-disease

8

PRILOG

SENZORSKA OCENA BEZGLUTENSKOG HLEBA SA PREHRAMBENIM VLAKNIMA - Formular

OSOBI NE HLEBA	Nivo kvaliteta	OPIS NIVOA KVALITETA	Koeficijent važnosti	Ocena (1-5)	Bodovi
Spoljni izgled	5	Oblik pravilan-odgovara kalupu, boja kore karakteristična i ujednačena, kora bez nabora, mehura i pukotina.	1,6	5	8
	4,5	Oblik pravilan- neznatno sužen u odnosu na kalup, boja kore karakteristična, kora neznatno naborana bez mehura i pukotina.		4,5	7,2
	4	Oblik delimično izmenjen- neznatno sužen u odnosu na kalup, boja kore blago neujednačena, ali karakteristična, kora malo naborana bez mehura i pukotina.		4	6,4
	3,5	Oblik delimično izmenjen- neznatno sužen u odnosu na kalup, boja kore neujednačena, ali karakteristična, kora naborana bez mehura i pukotina.		3,5	5,6
	3	Oblik izmenjen- malo sužen u odnosu na kalup, boja kore primetno neujednačena, ali karakteristična, kora naborana sa mehurima i sa delimičnom pojavom pukotina.		3	4,8
	2,5	Oblik izmenjen- spljošten i sužen u odnosu na kalup, boja kore neujednačena, kora naborana sa pojavom mehura i bez pukotina		2,5	4

Izgled sredine	2	Oblik nepravilan-spljošten, sužen i malo nagnječen, boja kore neujednačena, kora naborana sa pojavom manjih mehura i pukotina.	1,6	2	3,2
	1,5	Oblik nepravilan-spljošten, sužen i nagnječen, boja kore izrazito neujednačena, kora izrazito naborana sa pojavom mehura i pukotina.		1,5	2,4
	1	Oblik deformisan, nagnječen, kora nagorela(nepečena), izrazito naborana sa pojavom mehura i pukotina.	1	1,6	
	5	Boja sredine karakteristična i ujednačena, ravnomerne i ujednačene pore srednje veličine, sunderaste, sredina odlične elastičnosti, bez grudvica soli i brašna i slaninastih slojeva.	2,4	5	12
	4,5	Boja sredine karakteristična i ujednačena, ravnomerne i ujednačene pore srednje veličine, pore fine, sredina odlične elastičnosti, bez grudvica soli i brašna i slaninastih slojeva.		4,5	10,8
Boja sredine Ravnomernost i finoća pora Elastičnost	4	Boja sredine ujednačena, pore ravnomerne i skoro fine, sredina vrlo dobre elastičnosti, bez grudvica soli i brašna i slaninastih slojeva.	2,4	4	9,6
	3,5	Boja sredine blago neujednačena, pore prilično ravnomerne i malo grube, sredina vrlo dobre elastičnosti, bez grudvica soli i brašna i slaninastih slojeva.		3,5	8,4

	3	Boja sredine primetno neujednačena, pore sitne, neravnomerne i grube, sredina dobre elastičnosti, malo zbijena, bez grudvica soli i brašna i slaninastih slojeva.		3	7,2
	2,5	Boja sredine neujednačena, pore sitne, neravnomerne i neujednačene, grube, elastičnost zadovoljava, sredina nerazvijena, bez grudvica soli i brašna i slaninastih slojeva.		2,5	6
	2	Boja sredine neujednačena, pore neravnomerne i neujednačene, grube, elastičnost zadovoljava, sredina malo gnjecava, sa delimičnom pojavom užih slaninastih slojeva.	2,4	2	4,8
	1,5	Boja sredine veoma neujednačena, pore neravnomerne i neujednačene, izrazito grube, elastičnost ne zadovoljava, sredina gnjecava, sa pojavom užih slaninastih slojeva.		1,5	3,6
	1	Boja sredine veoma neujednačena, pore neravnomerne i neujednačene, izrazito grube, elastičnost ne zadovoljava, sredina gnjecava, sa nepečena sa slaninastim slojevima.		1	2,4
Miris kore i sredine	5	Miris svojstven, veoma izražen, zaokružen, aromatičan, stalan tokom dužeg vremena.		5	7
	4,5	Miris svojstven, zaokružen, aromatičan.		4,5	6,3
	4	Miris svojstven, izražen, prijatan, delimično aromatičan.	1,4	4	5,6

	3,5	Miris svojstven, slabije izražen, svež, neznatno aromatičan.	1,4	3,5	4,9		
	3	Miris svojstven, slabije izražen i zaokružen.		3	4,2		
	2,5	Miris nedovoljno izražen, nezaokružen, slabo aromatičan.		2,5	3,5		
	2	Miris svojstven sa neznatnim primesama stranog mirisa, nedostatak svežine.		2	2,8		
	1,5	Miris nesvojstven proizvodu, nedostatak svežine.		1,5	2,1		
	1	Miris nesvojstven proizvodu, kiseo, plesniv, miris na kvasac.		1	1,4		
	Ukus kore i sredine	5		Ukus svojstven, veoma izražen, zaokružen, aromatičan, topivost kore i sredine odlična.	2,6	5	13
		4,5		Ukus svojstven, izražen, zaokružen, aromatičan, topivost kore i sredine odlična.		4,5	11,7
		4		Ukus svojstven, izražen, nešto slabije zaokružen i aromatičan, topivost kore i sredine vrlo dobra, kora malo tvrda, sredina se ne lepi i ne mrvi.		4	10,4
		3,5		Ukus svojstven, slabije izražen, nedovoljno aromatičan, topivost kore i sredine vrlo dobra, kora malo tvrda, sredina se malo lepi ili mrvi.		3,5	9,1

	3	Ukus svojstven, nedovoljno izražen i aromatičan, topivost kore i sredine dobra, kora malo žilava ili tvrda, sredina se lepi ili mrvli.		3	7,8
	2,5	Ukus izmenjen, ali svojstven, topivost kore i sredine zadovoljavajuća, kora tvrda ili žilava, sredina se lepi ili mrvli..		2,5	6,5
	2	Nesvojstven ukus, topivost kore i sredine ne zadovoljavajuća, kora suviše tvrda ili žilava, sredina se veoma lepi ili mrvli.		2	5,2
	1,5	Nesvojstven ukus, topivost kore i sredine ne zadovoljavajuća.		1,5	3,9
	1	Nesvojstven, kiseo, gorak, bljutav ili stran ukus, neprihvatljiv.		1	2,6

KATEGORIJE SENZORSKOG KVALITETA

Kategorija kvaliteta	Zbir bodova
Odličan	36,0-40,0
Vrlo dobar	31,5-35,9
Dobar	27,0-31,4
Prihvatljiv	22,5-26,9
Neprihvatljiv	<22,4

OCENJIVAČKI LISTIĆ

Uzorak:			Datum:	
OSOBINE HLEBA	Koeficijent važnosti	Ocena	Broj bodova	Kategorija kvaliteta
Spoljni izgled	1,6			
Izgled sredine	2,4			
Miris kore i sredine	1,4			
Ukus kore i sredine	2,6			
Ukupno				

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укоричити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
Утицај прехранбених влакана шећерне репе и јабуке на реолошке параметре теста и квалитет безглутенског хлеба
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
а) Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду (Србија) б) в)
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
Пројекат који је реализован у оквиру програма Министарства просвете, науке и технолошког развоја: „Развој нових функционалних кондиторских производа на бази уљарица“, ТР 31014
1. Опис података
<i>1.1 Врста студије</i> <i>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</i> Докторска дисертација _____ _____

1.2 Врсте података

а) квантитативни

б) квалитативни

1.3. Начин прикупљања података

а) анкете, упитници, тестови

б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи

в) генотипови: навести врсту _____

г) административни подаци: навести врсту _____

д) узорци ткива: навести врсту _____

ђ) снимци, фотографије: навести врсту _____

е) текст, навести врсту _литература_____

ж) мапа, навести врсту _____

з) остало: описати __ експериментални подаци _____

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

а) Excel фајл, датотека _____

б) SPSS фајл, датотека _____

в) PDF фајл, датотека _____

г) Текст фајл, датотека _____

д) JPG фајл, датотека _____

е) Остало, датотека _____

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли _велики број_____

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) _велики број_____

1.3.3. Поновљена мерења

а) да

б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) временски размак између поновљених мера је _зависи од мерења_____

б) варијабле које се више пута мере односе се на _својства протицања, вискоеластична својства теста, боја, запремина, текстура хлеба, садржај влаге, протеина, масти и укупних прехранбених влакана у хлебу__

в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

а) Да

б) Не

Ако је одговор не, образложити

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент, навести тип _полуиндустријска производња, хемијска анализа _____

б) корелационо истраживање, навести тип _____

ц) анализа текста, навести тип _____

д) остало, навести шта _____

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

_Колориметар Minolta Chroma Meter CR-400, Mastersizer 2000, Ротациони вискозиметар Haake Rheo Stress 600, Анализатор текстуре TA.HD Plus _____

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да Не

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) Колики је број недостајућих података? _____

б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да
Не

в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

__Квалитет података контролисан је применом статистичких тестова и одбацивањем екстрема.

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

__Контрола уноса података у матрицу извршена је поређењем добијених података са
__литературним подацима _____

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у __НаРДуС_____ репозиторијум.

3.1.2. URL адреса __накнадно _____

3.1.3. DOI _____

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

а) Да

б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____

в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен?

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму?

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да Не

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности

(https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да Не

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- а) Подаци нису у отвореном приступу
- б) Подаци су анонимизирани
- ц) Остало, навести шта

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

а) јавно доступни

б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области

ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

_Маријана Ђорђевић, maridjo@tf.uns.ac.rs_____

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

_Маријана Ђорђевић, maridjo@tf.uns.ac.rs _____

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

_Маријана Ђорђевић, maridjo@tf.uns.ac.rs_____