



UNIVERZITET U NOVOM SADU
TEHNOLOŠKI FAKULTET

Zamenjivači masti na bazi pšeničnih i ovsenih mekinja i njihova primena u formulaciji keksa

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentori:

Prof. dr Biljana Pajin
Dr Marijana Sakač

Kandidat:

Nataša Milićević, dipl. inž.

Novi Sad, 2018.

**Univerzitet u Novom Sadu
Tehnološki fakultet**

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:

RBR

Identifikacioni broj:

IBR

Tip dokumentacije:

TD

Monografska dokumentacija

Tip zapisa:

TZ

Tekstualni štampani materijal

Vrsta rada (dipl., mag., dokt.):

VR

Doktorska disertacija

Ime i prezime autora:

AU

Nataša Milićević

Mentor (titula, ime, prezime, zvanje):

MN

Dr Biljana Pajin, redovni profesor

Dr Marijana Sakač, naučni savetnik

Naslov rada:

NR

Zamenjivači masti na bazi pšeničnih i ovsenih mekinja i njihova primena u formulaciji keksa

Jezik publikacije:

JP

Srpski, latinica

Jezik izvoda:

JI

srp. / eng.

Zemlja publikovanja:

ZP

Republika Srbija

Uže geografsko područje:

UGP

Vojvodina

Godina:

GO

2018.

Izdavač:

IZ

autorski reprint

Mesto i adresa:

MA

Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija

Fizički opis rada:

FO

poglavlja: 7 / stranica: 166 / slika: 27 / tabela: 36 /

referenci: 229 / priloga: 2

Naučna oblast:

NO

Tehnološko inženjerstvo

Naučna disciplina:

ND

Prehrambeno inženjerstvo

Predmetna odrednica, ključne reči:

PO

Pšenične mekinje; ovsene mekinje; gelovi; zamenjivači

UDK

masti; keks

Čuva se:

ČU

U biblioteci Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, Bul. cara Lazar 1, 21000 Novi Sad

Važna napomena:

VN

nema

Izvod:
IZ

Sporedni proizvodi dobijeni u procesu mlevenja žitarica, pšenične i ovsene mekinje, hidrotermički su tretirane u cilju dobijanja gelova, koji se, kao zamenjivači masti, mogu koristiti u formulacijama prehrambenih proizvoda. Optimizacija procesnih parametara (koncentracija mekinja, vreme homogenizacije i temperatura homogenizacije) proizvodnje gelova vršena je primenom postupka odzivne funkcije (RSM). Gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja, koji su pripremljeni po prethodno utvrđenim optimalnim parametrima (za pšenične mekinje: 22,0% koncentracija mekinja, vreme homogenizacije od 11,7 min i temperatura homogenizacije od 83,2 °C; za ovsene mekinje: 22,0% koncentracija mekinja, vreme homogenizacije od 10,0 min i temperatura homogenizacije od 95,0 °C), su, dalje, kao zamenjivači masti, bili inkorporirani u formulaciju keksa na različitim nivoima supstitucije masti (30%, 40% i 50%).

Fizičke, teksturne i senzorske karakteristike keksa sa zamenjivačima masti ispitane su u poređenju sa kontrolnim (punomasnim) keksom, te je nivo zamene od 30% izabran kao najpogodniji u smislu sniženja sadržaja masti, sa jedne strane, i ostvarenja željenih karakteristika, sa druge strane.

S obzirom da su proizvedeni zamenjivači masti na bazi mekinja nutritivno vredni i bogati funkcionalnim komponentama, ustanovljeno je da je dodatak ova dva funkcionalana zamenjivača masti na nivou od 30% doprineo poboljšanju nutritivnih i funkcionalnih svojstava keksa u pogledu povećanog sadržaja prehrambenih vlakana i minerala, povoljnijeg odnosa PUFA/SFA, kao i porasta sadržaja antioksidativno delotvornih komponenti.

Datum prihvatanja teme od strane 22.12.2016.

Senata:
DP

Datum odbrane:
DO

Članovi komisije:
(ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status)
KO

1. Dr Aleksandar Fišteš, vanredni profesor, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, predsednik
2. Dr Biljana Pajin, redovni profesor, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, mentor
3. Dr Marijana Sakač, naučni savetnik, Naučni institut za prehrambene tehnologije, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, mentor

**University of Novi Sad
Faculty of Technology**

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number:	
ANO	
Identification number:	
INO	
Document type:	Monograph documentation
DT	
Type of record:	Textual printed material
TR	
Contents code:	PhD Thesis
CC	
Author:	Nataša Milićević
AU	
Mentor:	Biljana Pajin, PhD, full professor, Faculty of Technology, Novi Sad
MN	Marijana Sakač, PhD, principal research fellow, Institute of Food Technology, Novi Sad
Title:	Wheat and oat bran based fat replacers and their application in cookie formulation
TI	
Language of text:	Serbian, Latin
LT	
Language of abstract:	eng. / srp.
LA	
Country of publication:	Republic of Serbia
CP	
Locality of publication:	Vojvodina
LP	
Publication year:	2018.
PY	
Publisher:	Author's reprint
PU	
Publication place:	Serbia, 21000 Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1
PP	
Physical description:	(chapters: 7 / pages: 166 / figures: 27 / tables: 36 / references: 229 / annex: 2)
PD	
Scientific field	Technology engineering
SF	
Scientific discipline	Food engineering
SD	
Subject, Key words	Wheat bran; oat bran; gels; fat replacers; cookies
SKW	

UC

Holding data:

Library of Faculty of Technology, Novi Sad

HD

Note:

/

N

Abstract:

Wheat and oat brans, by-products of grain processing, were processed by hydrothermal treatments into the form of gels for partial replacement of fat in food products.

AB

Response surface methodology (RSM) approach was applied to examine the effects and to optimize process parameters (bran concentration, homogenization time and homogenization temperature).

Wheat and oat bran gels prepared according to the previously determined optimal parameters (for wheat bran: 22.0% bran concentration, homogenization time of 11.7 min and homogenization temperature of 83.2 °C; for oat bran: 22.0 % bran concentration, homogenization time of 10.0 min and homogenization temperature of 95.0 °C) were further incorporated as fat substitutes into the cookie formulation at different levels of substitution (30%, 40% and 50%).

The physical, texture and sensory properties of cookies with fat replacers were examined in comparison with the control (full fat) cookies, and the fat replacement level of 30% was chosen as the most suitable in terms of reducing the fat, on the one hand, and achieving the desired mentioned characteristics, on the other.

Knowing that the produced fat replacers are nutritionally valuable and rich in functional components, it has been found that the addition of these two functional fat replacers at the level of 30% contributed to the improvement of the nutritional properties of cookies in terms of higher content of dietary fibers, minerals and more favourable ratio of PUFA/SFA, as well as higher content of antioxidant components.

Accepted on Senate on:

22.12.2016.

AS

Defended:

DE

Thesis Defend Board:

DB

1. Aleksandar Fišteš, PhD, assistant professor, Faculty of Technology, University of Novi Sad, Novi Sad, president
2. Biljana Pajin, PhD, full professor, Faculty of Technology, University of Novi Sad, Novi Sad, mentor
3. Marijana Sakač, PhD, principal research fellow, Institute of Food Technology, University of Novi Sad, Novi Sad, mentor

Zahvalnica

SADRŽAJ

1. UVOD -----	1
2. OPŠTI DEO-----	4
2.1. FUNKCIONALNA HRANA-----	4
2.1.1. RAZVOJ KONCEPTA, DEFINICIJA I KLASIFIKACIJA FUNKCIONALNE HRANE -----	4
2.1.2. FUNKCIONALNE KOMPONENTE ŽITARICA-----	7
2.2. SPOREDNI PROIZVODI PRERADE ŽITARICA KAO IZVOR FUNKCIONALNIH JEDINJENJA-----	12
2.2.1. MEKINJE ŽITARICA – KOMPONENTE FUNKCIONALNE HRANE -----	12
2.2.1.1. Uloga vlakana iz mekinja i njihova antioksidativna aktivnost -----	15
2.2.1.2. Mekinje pšenice i ovsa – fitohemikalije i nutrijenti-----	19
2.3. ZAMENA MASTI U PREHRAMBENIM PROIZVODIMA-----	27
2.3.1. KLASIFIKACIJA ZAMENJIVAČA MASTI -----	28
2.3.1.1. Zamenjivači masti na bazi ugljenih hidrata -----	30
2.3.1.2. Zamenjivači masti na bazi proteina-----	32
2.3.1.3. Zamenjivači masti na bazi masnoća -----	32
2.3.2. OZNAČAVANJE PROIZVODA SA NISKIM SADRŽAJEM MASTI-----	34
2.3.3. ULOGA MASTI U BRAŠNENO-KONDITORSKIM PROIZVODIMA -----	35
2.3.4. KEKS I ULOGA MASTI U KEKSU -----	36
2.3.5. ZAMENA MASTI U BRAŠNENO-KONDITORSKIM PROIZVODIMA-----	38
2.3.6. ZAMENA MASTI U FORMULACIJAMA ZA KEKS I SRODNIM PROIZVODIMA -----	40
2.3.7. STAV POTROŠAČA PREMA NAMIRNICAMA SA NISKIM SADRŽAJEM MASTI -----	45
3. EKSPERIMENTALNI DEO-----	48
3.1 MATERIJAL -----	48
3.1.1. SIROVINE-----	48
3.1.2. HEMIKALIJE I REAGENSI-----	50
3.2. PRIPREMA GELOVA MEKINJA -----	51
3.3. PRIPREMA SMEŠA GELOVA MEKINJA I BILJNE MASTI (GMM MODEL SISTEMI)---	53
3.4. PROIZVODNJA KEKSA SA DODATKOM FUNKCIONALNOG ZAMENJIVAČA MASTI --	53

3.5. METODE -----	55
3.5.1. ODREĐIVANJE NUTRITIVNIH KARAKTERISTIKA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA, KONTROLNOG KEKSA I KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI -----	55
3.5.1.1. Određivanje hemijskog sastava -----	55
3.5.1.2. Određivanje sadržaja mineralnih materija metodom atomske apsorpcione spektrometrije (AAS) -----	55
3.5.1.3. Određivanje sadržaja masnih kiselina metodom gasne hromatografije (GC- FID) -----	56
3.5.2. ODREĐIVANJE FUNKCIONALNIH KARAKTERISTIKA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA -----	56
3.5.2.1. Priprema ekstrakata za određivanje sadržaja ukupnih rastvorljivih polifenola, polifenolnog profila i antiradikalske aktivnosti na DPPH -----	56
3.5.2.2. Određivanje sadržaja ukupnih rastvorljivih polifenola -----	57
3.5.2.3. Određivanje antiradikalske aktivnosti ekstrakata na DPPH -----	58
3.5.2.4. Određivanje sadržaja polifenolnih jedinjenja u mekinjama HPLC metodom -	59
3.5.2.5. Priprema ekstrakata pšeničnih i ovsenih mekinja uz upotrebu ultrazvučnog predtretmana -----	60
3.5.3. ODREĐIVANJE FUNKCIONALNIH KARAKTERISTIKA KONTROLNOG KEKSA I ODABRANOGL KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI -----	61
3.5.4. ODREĐIVANJE AKTIVITETA VODE PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA, KONTROLNOG KEKSA I KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI-----	61
3.5.5. ODREĐIVANJE VISKOZITETNOG PROFILA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA -----	62
3.5.6. ODREĐIVANJE REOLOŠKIH KARAKTERISTIKA MASTI, GMM MODEL SISTEMA I TESTA ZA KEKS-----	62
3.5.7. ODREĐIVANJE TEKSTURNIH KARAKTERISTIKA MASTI I GMM MODEL SISTEMA – ODREĐIVANJE MAZIVOSTI-----	63
3.5.8. MIKROSTRUKTURA MEKINJA I LIOFILIZOVANIH GELOVA MEKINJA -----	64
3.5.8.1. Optička mikroskopija primenom propuštenog svetla-----	64
3.5.8.2. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) -----	65
3.5.9. ODREĐIVANJE FIZIČKIH OSOBINA KONTROLNOG KEKSA I KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI -----	65
3.5.9.1. Instrumentalno određivanje boje-----	65
3.5.9.2. Određivanje tehnoloških parametara kvaliteta keksa -----	66
3.5.9.3. Instrumentalno određivanje teksturnih svojstava-----	67
3.5.10. SENZORSKO PROFILISANJE KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI PRIMENOM DESKRIPTIVNE METODE -----	68

3.5.10.1. Priprema, prezentacija i distribucija uzoraka članovima panela -----	70
3.5.11. MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST MEKINJA I KEKSA SA ODABRANIM ZAMENJIVAČIMA MASTI -----	71
3.5.12. EKSPERIMENTALNI PLAN I STATISTIČKA OBRADA PODATAKA-----	73
4. REZULTATI I DISKUSIJA-----	74
4.1. KARAKTERIZACIJA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA-----	74
4.1.1. NUTRITIVNI PROFIL PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA-----	74
4.1.2. FUNKCIONALNE KARAKTERISTIKE PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA-----	78
4.1.2.1. Sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola pšeničnih i ovsenih mekinja-----	79
4.1.2.2. HPLC analiza sadržaja polifenolnih jedinjenja pšeničnih i ovsenih mekinja --	83
4.1.2.3. ANTIRADIKALSKA AKTIVNOST EKSTRAKATA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA NA DPPH-----	87
4.1.3. MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA -----	89
4.1.4. VISKOZITETNI PROFILI PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA -----	90
4.2. REOLOŠKE OSOBINE GELOVA OD MEKINJA – DINAMIČKA OSCILATORNA MERENJA -----	91
4.3. OPTIMIZACIJA POSTUPKA PRIPREME GELOVA OD PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA PRIMENOM METODE ODZIVNE FUNKCIJE-----	94
4.3.1. REGRESIONE JEDNAČINE I ANALIZA VARIJANSE (ANOVA) MODELOVANIH ODZIVA	95
4.3.2. ODABIR OPTIMALNIH PROCESNIH PARAMETARA PRIMENOM FUNKCIJE POŽELJNOSTI -----	101
4.3.3. PROVERA (VALIDACIJA) MODELA-----	104
4.4. MIKROSTRUKTURA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA I NJIHOVIH OPTIMALNIH GELOVA	105
4.5. UTICAJ DODATKA ZAMENJIVAČA MASTI NA BAZI PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA NA KARAKTERISTIKE KEKSA -----	108
4.5.1. REOLOŠKE OSOBINE TESTA ZA KEKS SA ZAMENJIVAČIMA MASTI-----	108
4.5.2. FIZIČKE KARAKTERISTIKE KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI -----	112
4.5.2.1. Boja keksa -----	112
4.5.2.2. Parametri tehnološkog kvaliteta keksa -----	115
4.5.2.3. Teksturna svojstva keksa-----	119
4.5.3. SENZORSKA OCENA KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI -----	123
4.6. NUTRITIVNI PROFIL I ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL ODABRANIH FORMULACIJA KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI-----	131
4.6.1. SADRŽAJ UKUPNIH RASTVORLJIVIH POLIFENOLA I ANTIRADIKALSKA AKTIVNOST NA DPPH RADIKALE ODABRANIH FORMULACIJA KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI---	136

4.7. MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST ODABRANIH FORMULACIJA KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI -----	137
5. ZAKLJUČAK -----	138
6. LITERATURA -----	144
7. PRILOG-----	163

LISTA SKRAĆENICA

ANOVA	analiza varijanse (eng. <i>analysis of variance</i>)
BGC	koncentrat β -glukana iz ječma i ovsa (eng. <i>β-glucan concentrates</i>)
BWL	gubitak mase usled pečenja (eng. <i>baking weight loss</i>)
C	koncentracija mekinja
CHD	kardiovaskularne bolesti (eng. <i>cardiovascular diseases</i>)
CNS	centralni nervni sistem
D	ukupna funkcija poželjnosti (eng. <i>desirability</i>)
DAD	detektor na bazi niza dioda (eng. <i>diode array detector</i>)
DE	dekstrozni ekvivalent
df	stepen slobode
DF-PC	kompleks vlakana i polifenola
DOE	planiranje eksperimenta (eng. <i>design of experiments</i>)
DPPH-	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal
F	čvrstoća GMM model sistema
F	lomljivost keksa određena instrumentalno (eng. <i>fracturability</i>)
FAO	Organizacija za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija (eng. <i>Food and Agriculture Organization</i>)
FC	Folin-Ciocalteu reagens
FID	plameno-jonizujući detektor (eng. <i>flame ionization detector</i>)
F-test	Fisherov test
FUFOSE	Evropska komisija za usaglašavanje aktivnosti u oblasti nauke o funkcionalnoj hrani u Evropi (eng. <i>The European Commission Concerted Action on Functional Food Science in Europe</i>)
GAE	ekvivalent galne kiseline (eng. <i>gallic acid equivalent</i>)
GIT	gastrointestinalni trakt
GMM model sistemi	model sistemi sa gelovima mekinja i biljnom masnoćom (1:1)

H	tvrdoća keksa određena instrumentalno (eng. <i>hardness</i>)
HDL	lipoproteini velike gustine (eng. <i>high density lipoprotein</i>)
HPLC	visokopritisna tečna hromatografija (eng. <i>high performance liquid chromatography</i>)
HPMC	hidroksipropilmetil celuloza
HSD	istinski značajne razlike (eng. <i>honestly significant differences</i>)
IC₅₀	koncentracija ekstrakta pri kojoj je neutralisano 50% DPPH·
IDF	nerastvorljiva prehrambena vlakna (eng. <i>insoluble dietary fibre</i>)
K'	snaga GMM model sistema
L	prečnik keksa u pravcu laminiranja (eng. <i>length</i>)
LDL	lipoproteini male gustine (eng. <i>low density lipoprotein</i>)
M	vлага keksa (eng. <i>moisture</i>)
MAE	mikrotalasno potpomognuta ekstrakcija (eng. <i>microwave-assisted extraction</i>)
MUFA	mononezasičene masne kiseline
NRV	nutritivan referentni unos minerala po danu kod zdravih odraslih osoba (eng. <i>nutrient reference values</i>)
OG	gel od ovsenih mekinja
OSA skrob	preželatinizirani natrijum-oktenilsukcinat skrob
PCA	analiza glavnih komponenti (eng. <i>principal component analysis</i>)
PG	gel od pšeničnih mekinja
PUFA	polinezasičene masne kiseline
R	prosečna vrednost prečnika keksa
RSM	postupak odzivne funkcije (eng. <i>response surface methodology</i>)
SDF	rastvorljiva prehrambena vlakna (neg. <i>soluble dietary fibre</i>)
SEM	skenirajući elektronski mikroskop
SFA	zasičene masne kiseline
SOP	polinom drugog reda (eng. <i>second order polinom</i>)
SS	suma kvadrata (eng. <i>sum of squares</i>)
t	vreme homogenizacije

T	temperatura homogenizacije
T	prosečna visina keksa (eng. <i>thickness</i>)
TPC	sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola (eng. <i>total phenolic content</i>)
UAE	ultrazvučno potpomognuta ekstrakcija (eng. <i>ultrasound-assisted extraction</i>)
UFA	nezasićene masne kiseline (ukupne)
W	prečnik keksa normalan na pravac laminiranja (eng. <i>width</i>)
WHO	Svetska zdravstvena organizacija (eng. <i>World Health Organization</i>)
ΔE	razlika u boji

1. UVOD

Kreiranje prehrambenih proizvoda sa dodatom vrednošću je dugi niz godina u naučnoistraživačkom fokusu usled porasta svesti potrošača o povezanosti ishrane i zdravstvenog stanja organizma (Palzer, 2009). Posebna pažnja poklanja se ishrani koja podrazumeva smanjeni unos masti i šećera usled rizika od nastanka gojaznosti, dijabetesa, kancera, povišenog holesterola u krvi i srčanih oboljenja (Zoulias i sar., 2000b; Sudha i sar., 2007; Palzer, 2009). Stoga je kreiranje novih formulacija prehrambenih proizvoda sa smanjenim sadržajem masti postao jedan od prioriteta za različite grane prehrambene industrije (Lucca i Tepper, 1994). Razvoj proizvoda sa smanjenim sadržajem masti predstavlja tehnološki izazov, s obzirom na funkcionalnost masti u prehrambenim proizvodima, koja značajno utiče na željeni izgled, ukus, aromu, teksturu i senzorski osećaj prilikom konzumiranja (Lucca i Tepper, 1994; Zoulias i sar., 2002a; Pareyt i sar., 2009). Dizajn nove formulacije sa smanjenim sadržajem masti posebno je zahtevan kod proizvoda koji sadrže veliku količinu masti i kod kojih mast ispoljava ne samo senzorsku nego i tehnološku funkcionalnost, kao što je npr. keks, čija je jedna od osnovnih komponenti hidrogenizovana biljna mast (margarin) ili zasićena biljna mast (shortening), prisutna u relativno visokom udelu (30–50%) izraženo na masu brašna (Baltsavias i sar., 1999).

Zamenjivači masti su komponente koje ispoljavaju funkcionalne osobine slične mastima, odnosno oni podražavaju fizičke, teksturne i senzorske osobine (pogotovo osećaj koji zaostaje u ustima) pravih masti (Akoh, 1998), ali smanjuju energetsku vrednost proizvoda. Podela zamenjivača masti podrazumeva ugljenohidratne zamenjivače, u koje spadaju zamenjivači na bazi skrobova (maltodekstrini) i modifikovanih skrobova, kao i zamenjivači na bazi vlakana, te proteinski zamenjivači i zamenjivači na bazi masti (supstituenti masti) (Shaltout i Youssef, 2007).

Jedna od važnih stavki u izboru zamenjivača masti je i njegova funkcionalnost, koju on, sa nutritivne tačke gledišta, pruža proizvodu. Kako se povećani unos prehrambenih vlakana povezuje sa smanjenjem rizika od hroničnih oboljenja (Liu, 2007), koji je posledica višestrukog delovanja vlakana u digestivnom traktu (prebiotski efekat, stvaranje osećaja sitosti, sporija drenaža želuca), kao i njihovog sistemskog delovanja (smanjenje nivoa holesterola i šećera u krvi), zamenjivači masti na bazi vlakana su u prednosti u odnosu na druge zamenjivače, jer ispoljavaju i pozitivan efekat na zdravlje ljudi.

Osnovna ideja ove doktorske disertacije je ispitivanje mogućnosti iskorišćenja sporednih proizvoda dobijenih u procesu mlevenja žitarica – mekinja (pšenične i ovsene mekinje) za kreiranje novih vrsta zamenjivača masti koji bi se upotrebili u keksu i keksu srodnim proizvodima, a u cilju: 1) smanjenja sadržaja masti u ciljnim prehrambenim proizvodima koji ih sadrže u većim količinama i koji se masovno konzumiraju, pogotovo od strane dece, 2) poboljšanja nutritivnog i funkcionalnog profila proizvoda zamenom dela masne faze visokovrednim zamenjivačima masti, kao i 3) valorizacije sporednih proizvoda dobijenih u procesu mlevenja žitarica na inovativan i ekonomski opravdan način.

Sagledavajući opravdanost iskorišćenja sporednih proizvoda dobijenih u procesu mlevenja žitarica, zasnovanu na prisustvu velikog broja nutritivno vrednih jedinjenja, kao i onih jedinjenja koja mogu da obezbede osobine zamenjivača masti koje doprinose podražavanju masnoće, mekinje pšenice i ovsu su odabране sa ciljem da se ispita mogućnost njihove primene kao sirovine za proizvodnju zamenjivača masti, koji je potrebno primeniti u formulaciji keksa kako bi se proizveo funkcionalan keks sa dodatom vrednošću. Pšenica i ovas spadaju u kategoriju žitarica za koje se zna da su izuzetan izvor prehrambenih vlakana, ali i drugih funkcionalnih komponenti, poput minerala i polifenolnih jedinjenja.

Rad na izvođenju ove doktorske disertacije podeljen je u sledeće faze:

1) Karakterizacija korišćenih mekinja sa aspekta kvaliteta, bezbednosti i funkcionalnosti:

- određivanje osnovnog hemijskog sastava, sadržaja prehrambenih vlakana, minerala i mikrobiološke ispravnosti mekinja;
- ekstrakcija polifenolnih jedinjenja (konvencionalnim postupkom i ultrazvučnom ekstrakcijom) i
- određivanje sadržaja polifenolnih jedinjenja i antioksidativnog potencijala ekstrakata mekinja.

2) Optimizacija postupka pripreme gelova (zamenjivača masti na bazi mekinja bogatih vlaknima):

- priprema gelova prema eksperimentalnom dizajnu i
- homogenizacija dobijenih gelova i namenske biljne masti u međusobnom odnosu 1:1 i reološko i teksturno definisanje dobijenih smeša. Upoređivanje rezultata dobijenih za smeše namenske biljne masti i gela i biljne masti bez dodataka supstituenata masti kako bi se izabrali sistemi za dalja istraživanja na osnovu dobijenih rezultata.

3) Optimizacija formulacije keksa sa smanjenim sadržajem masti:

- ispitivanje uticaja dodatka zamenjivača masti na reološke osobine testa za keks;
- ispitivanje uticaja dodatka zamenjivača masti na fizičke karakteristike keksa;
- ispitivanje uticaja dodatka zamenjivača masti na teksturne osobine keksa i
- ispitivanje uticaja dodatka zamenjivača masti na senzorske osobine keksa.

4) Karakterizacija kreiranog finalnog proizvoda (odabranog keksa sa smanjenim sadržajem masti):

- određivanje osnovnog hemijskog sastava, sadržaja prehrambenih vlakana, minerala i mikrobiološke ispravnosti keksa;
- određivanje ukupnih fenola i antioksidativnog kapaciteta keksa.

2. OPŠTI DEO

2.1. FUNKCIONALNA HRANA

Sve veće razumevanje zavisnosti zdravlja od načina ishrane rezultiralo je stvaranjem koncepta funkcionalnih proizvoda. Hrana savremenog potrošača nema više samo ulogu da utoli glad i zadovolji energetske potrebe i unos neophodnih nutrijenata, već je značajna i u prevenciji bolesti vezanih za ishranu, kao i unapređenje fizičke sposobnosti i mentalnog zdravlja pojedinca (Roberfroid, 2000; Menrad, 2003). Uzimajući u obzir da povećanje svesti potrošača o zdravijim izborima hrane, njenim mogućnostima i prednostima osigurava povećanje kvaliteta života, jasno je da proizvodnja funkcionalne hrane danas predstavlja jedan od glavnih trendova u prehrabenoj industriji.

2.1.1. RAZVOJ KONCEPTA, DEFINICIJA I KLASIFIKACIJA FUNKCIONALNE HRANE

Koncept funkcionalne hrane datira iz 1980-ih kada je Ministarstvo zdravlja Japana pokrenulo regulatorni sistem za hranu koja poseduje zdravstvene pogodnosti (Kaur i Singh, 2017). Cilj uvođenja ovakvog sistema bio je da se poboljša sveukupno zdravlje nacije i da se kontrolišu rastući troškovi zdravstvene zaštite. Od tada su različite države usvojile različite ideje o funkcionalnoj hrani, ali još uvek ne postoji jedinstvena, univerzalno prihvaćena definicija funkcionalne hrane.

Evropska komisija za usaglašavanje aktivnosti u oblasti nauke o funkcionalnoj hrani u Evropi (*The European Commission Concerted Action on Functional Food Science in Europe, FUFOSE*) je definisala koncept funkcionalne hrane na sledeći način: „Hrana se može

smatrati funkcionalnom ukoliko je na zadovoljavajući način demonstrirala povoljno dejstvo na jednu ili više ciljanih funkcija u organizmu osim zadovoljenja osnovnih nutritivnih potreba, na način koji je relevantan za unapređenje zdravlja i opšteg stanja organizma i/ili smanjuje rizik od oboljenja. Funkcionalna hrana mora ostati hrana i mora ispoljiti svoje efekte u količinama za koje se očekuje da će biti unešene uobičajenom ishranom: to nije pilula ili kapsula već je deo normalnog načina ishrane“ (Diplock i sar., 1999).

Industrijalizovane zemlje se danas suočavaju sa novim izazovima nastalim usled porasta troškova zdravstvene zaštite, želje za produženjem životnog veka, kao i povećanjem kvaliteta života ljudi, novih naučnih saznanja i razvoja novih tehnologija koje vode do velikih promena u stilu života, povećanjem znanja o bolestima uzrokovanim ishranom, kao i primeni novih naučnih saznanja u ishrani. S tim u vezi, funkcionalna hrana stiče istaknuto poziciju širom sveta i postaje deo svakodnevne ishrane prosečnog potrošača.

Procenjuje se da će funkcionalna hrana i pića na svetskom tržištu vredeti oko 300 milijardi dolara do 2020-e godine, dok je za 2013-u godinu njihova vrednost iznosila 168 milijardi dolara (Santeramo i sar., 2018). Iako se razvoj funkcionalne hrane odigrava brzim tempom, za proizvođače hrane je pristup ovom konceptu izazovan, jer je neophodno da se proizvodni subjekti postaraju da ideje i sami proizvodi ispune očekivanja potrošača (Urala i Lahteenmaki, 2007; Menezes i sar., 2011). Naime, razvoj novih funkcionalnih proizvoda predstavlja složen i skup postupak, a pored toga je i rizičan, jer se deo novih funkcionalnih proizvoda povuče iz prodaje neposredno nakon lansiranja (Mellentin, 2014).

U svetu ovih razmatranja, nekoliko potrošačkih studija, sprovedenih u severnoevropskim zemljama, poslužilo je da oceni svest potrošača, preferencije, stavove, percepciju i kupovnu nameru prema funkcionalnoj hrani. Iako je veliki izazov objasniti ponašanje ljudi kada je reč o izboru hrane, primećeno je da određene karakteristike, kao što su socijalno-demografska pozadina potrošača, lična motivacija, svest o zdravlju i stav prema funkcionalnoj hrani, igraju važnu ulogu u prihvatanju funkcionalne hrane (Brečić i sar., 2014; Vecchio i sar., 2016). Pored toga, pružanje dodatnih informacija potrošačima o funkcionalnoj hrani putem zdravstvenih izjava povećava vrednost funkcionalnog proizvoda (Hailu i sar., 2009; Vecchio i sar., 2016).

Funkcionalna hrana može da poboljša opšte zdravstveno stanje organizma (npr. da utiče na pravilan rad stomaka i creva primenom prebiotika i probiotika), može da smanji rizik od nastanka bolesti (npr. proizvodi koji snižavaju nivo holesterola u krvi ili visok krvni pritisak) ili da se koristi sa ciljem olakšavanja života za specijalne kategorije potrošača, kao što su osobe sa intolerancijom na gluten ili laktozu. Ovakva podela predstavlja klasifikaciju funkcionalne hrane prema načinu njenog delovanja (Siro i sar., 2008). Funkcionalnu hranu moguće je podeliti i na osnovu načina na koji je postignuta funkcionalnost (tabela 1).

Tabela 1. Vrste funkcionalne hrane shodno načinu na koji je postignuta funkcionalnost
(Kotilainen i sar., 2006; Spence, 2006)

Vrsta funkcionalne hrane	Definicija	Primer
Proizvod povećane vrednosti	Hrana sa povećanim sadržajem postojećeg nutrijenta	Voćni sokovi obogaćeni vitaminom C
Obogaćen proizvod	Hrana sa dodatim novim nutrijentima ili komponentama koje nisu inače prisutne u određenoj vrsti hrane	Margarin sa estrima biljnih sterola
Izmenjen proizvod	Hrana kod koje je štetna komponenta uklonjena, njen sadržaj je smanjen ili je zamjenjena supstancom sa povoljnim dejstvom	Prehrambena vlakna koja zamenjuju masti u proizvodima
Unapređen proizvod	Hrana kod koje je jedna od komponenata prirodno unapređena putem posebnih uslova gajenja, novog sastava hraniwa, genetskim postupkom ili na neki drugi način	Jaja sa povećanim sadržajem omega-3masnih kiselina, ostvarenim korišćenjem izmenjene hrane za piliće

Noviji pravci razvoja funkcionalnih proizvoda podrazumevaju dodatak funkcionalnih sastojaka, uz istovremeno eliminisanje i/ili smanjivanje količine onog sastojka koji ima negativno dejstvo (npr. zamena masti supstancom koja ima povoljno dejstvo na zdravlje ljudi).

Brašneno-konditorski proizvodi spadaju u proizvode sa relativno visokim sadržajem masti koji se masovno konzumiraju, te su, stoga, pogodni za primenu različitih funkcionalnih komponenti (Manley, 2001). Imajući u vidu činjenicu da ishrana koja podrazumeva unos velikih količina masti, a posebno zasićenih masti, predstavlja faktor koji doprinosi bolestima srca, kao i činjenicu da jedan od najfrekventnije korišćenih brašneno-konditorskih proizvoda, keks, odlikuje visok sadržaj masti u njegovoj formulaciji, logično je da upravo ovaj proizvod predstavlja idealan matriks za unošenje funkcionalnog zamenjivača masti, kako bi se, sa jedne strane, smanjila količina masti u proizvodu, a sa druge strane, povećala njegova nutritivna i funkcionalna vrednost.

2.1.2. FUNKCIONALNE KOMPONENTE ŽITARICA

Jedinjenja koja ispoljavaju pozitivne zdravstvene efekte na ljudski organizam, a sastojeći su hrane, nazivaju se bioaktivne komponente. Ova jedinjenja su veoma raznolika po svojoj strukturi, a efekti koje ispoljavaju su posledica njihove biološke i fiziološke aktivnosti (Kruger i Mann, 2003).

Funkcionalne komponente koje se primenjuju u proizvodnji funkcionalne hrane su: prehrambena vlakna, polifenoli, karotenoidi, masne kiseline, izotiocianati, vitamini, minerali, biljni steroli, poliolni, prebiotici i probiotici, fitoestrogeni, proteini soje i sulfidi/tioli (IFICF, 2009).

Poslednjih godina žitarice su u fokusu istraživanja u pogledu njihove primene u funkcionalnoj hrani (Charalampopoulos i sar., 2002; Henry i sar., 2016). S obzirom da se žita uzgajaju na preko 73% ukupne svetske obradive površine i da žitarice doprinose sa preko 60% u svetskoj proizvodnji hrane obezbeđujući vlakna, proteine, energiju, minerale i vitamine koji su neophodni za zdravlje ljudi, jasno je da žitarice predstavljaju izuzetno značajne sirovine u proizvodnji funkcionalne hrane (Charalampopoulos i sar., 2002). Pozitivna uloga žitarica u prevenciji i lečenju mnogih oboljenja dokazana je u velikom broju istraživanja (Liu, 2003).

Izolovane bioaktivne komponente iz zrna pšenice i ovса prikazane su u tabeli 2, kao i njihovo potencijalno dejstvo na zdravlje ljudi.

Tabela 2. Potencijalno dejstvo izolovanih bioaktivnih jedinjenja iz zrna pšenice i ovса
(Fardet, 2010)

Komponenta	Potencijalno pozitivno dejstvo na zdravlje
Prehrambena vlakna	
Nerastvorljiva vlakna (npr. celuloza, hemiceluloza)	pozitivno dejstvo na zdravlje gastrointestinalnog trakta (GIT); mogu smanjiti rizik od nastanka karcinoma debelog creva; pozitivni efekti na regulaciju gojaznosti i telesne mase
Rastvorljiva vlakna (npr. β-glukan, arabinoksilani)	pozitivno dejstvo na zdravlje GIT; mogu smanjiti rizik od nastanka karcinoma debelog creva; smanjenje rizika od nastanka kardiovaskularnih bolesti (<i>cardiovascular disease</i> , CHD) i dijabetesa tipa 2
Rezistentan skrob	pozitivno dejstvo na zdravlje i smanjen rizik od nastanka karcinoma debelog creva; smanjenje rizika od nastanka CHD i dijabetesa tipa 2; pozitivni efekti na regulaciju telesne mase; pozitivno dejstvo na kamenje i pesak u žuči
Oligosaharidi	pozitivno dejstvo na zdravlje GIT; mogu smanjiti rizik od nastanka karcinoma debelog creva; smanjenje rizika od nastanka CHD; produžuju životni vek; pozitivno dejstvo na redukciju telesne mase; pozitivno dejstvo kod pacijenata sa hepatičnom encefalopatijom i steatozom (masnom jetrom)
Lignini	mogu smanjiti rizik od nastanka karcinoma debelog creva; pozitivno dejstvo na zdravlje debelog creva; smanjenje rizika od nastanka CHD i dijabetesa tipa 2
Fitinska kiselina	
	može smanjiti rizik od nastanka CHD i nekih vrsta karcinoma (npr. karcinom dojke i debelog creva); antidiabetički efekat kod dijabetesa tipa 2; pozitivno dejstvo na zdravlje bubrega (sprečava nastanak kamena u bubregu); smanjuje mogućnost nastanka hiperkalciurija; korisna kod akutnog trovanja olovom; sprečava nastanak karijesa
Polifenoli	
Fenolne kiseline (npr. ferulna)	podstiču ćelijsku antioksidativnu zaštitu; mogu doprineti očuvanju vida i srca, smanjuju rizik od nastanka CHD (tromboza, ateroskleroza) i nekih vrsta karcinoma; umanjuju mogućnost nastanka neurodegenerativnih bolesti (Alchajmer, Parkinsonova bolest); antidiabetički efekat kod dijabetesa tipa 2; povoljno deluju na zdravlje kože; ispoljavaju anti-aging efekat; protektivni efekat na jetru i pluća; pozitivan uticaj na hipertenziju i gojaznost

Komponenta	Potencijalno pozitivno dejstvo na zdravlje
Lignani	mogu doprineti očuvanju zdravlja srca i imunog sistema; mogu smanjiti rizik od nastanka karcinoma debelog creva; smanjuju rizik od nastanka hormonski uslovljenih bolesti (npr. karcinom dojke i prostate); smanjuju rizik od nastanka CHD (srčani udar); pozitivno dejstvo na osteoporozu i reumatoidni artritis; pozitivno dejstvo kod osoba sa čirom na želucu i dvanaestopalačnom crevu; povoljno deluju na zdravlje kože
Minerali	
Fe	utiče na mentalno i fizičko zdravlje, kao i na zdravlje kostiju
Mg	može doprineti očuvanju normalne muskulature i nervnih funkcija, zdravlju imunog sistema i kostiju
Zn	imunoprotektivno dejstvo; blagotvorno deluje na funkcionisanje mozga i mentalno zdravlje; pozitivno dejstvo kod pacijenata sa aterosklerozom; koristan uticaj kod karcinoma (karcinom jednjaka); utiče na rast kostiju i sazrevanje ćelija; antidijabetski efekat kod dijabetesa tipa 2; regulacija telesne mase (kod anoreksije)
Mn	ispoljava anti-aging efekat; pozitivno dejstvo kod vaskularne skleroze; uticaj na formiranje kostiju (npr. kod osteoporoze); koristan uticaj kod karcinoma
Cu	utiče na funkcionisanje mozga i mentalno zdravlje (disfunkcije centralnog nervnog sistema (CNS)); povoljan uticaj na zdravlje kostiju, tetiva i hrskavica (osteoartritis); smanjuje rizik od nastanka CHD; koristan uticaj kod karcinoma
Se	neutrališe slobodne radikale; može doprineti funkcionisanju imunog sistema; ispoljava anti-aging efekat; smanjuje rizik od nastanka CHD; imunoprotektivno dejstvo; ispoljava pozitivno dejstvo kod karcinoma dojke, prostate, gastrointestinuma, jetre, mozga, kože i pluća; pozitivan efekat na zdravlje jetre; antidijabetski efekat kod dijabetesa tipa 2
P	pozitivno dejstvo na zdravlje kostiju (npr. kod osteoporoze), zuba; utiče na funkcionisanje mozga i mentalno zdravlje (zamor, stres, memorija); učestvuje u očuvanju zdravlja srca i bubrega; pozitivan uticaj na varenje i rast; koristan uticaj kod karcinoma
Ca	pozitivno dejstvo na zdravlje kostiju (smanjen rizik nastanka osteoporoze) i zuba; protektivno dejstvo kod gastro i kolorektalnog karcinoma, pozitivno dejstvo na zdravlje srca (kod hipertenzije i srčanog udara); pozitivno dejstvo na nervni sistem i mentalno zdravlje (insomnija, stres); pozitivno dejstvo kod dijabetesa i regulacije telesne mase

Komponenta	Potencijalno pozitivno dejstvo na zdravlje
Na	učestvuje u regulaciji krvnog pritiska; uticaj na nervni sistem; uticaj na regulaciju vode u organizmu
K	može smanjiti rizik od visokog krvnog pritiska i infarkta; uticaj na mišićne kontrakcije (npr. kod grčeva); uticaj na regulaciju vode u organizmu; ispoljava kardio-protektivni efekat; pozitivan uticaj na funkcije nervnog sistema i mentalnog zdravlja; korisno dejstvo kod pojave edema i hiperkalciurije; pozitivno dejstvo kod osteoartritisa i osteoporoze; doprinosi očuvanju zdravlja bubrega (smanjuje nastanak kamenja u bubregu); ublažava arterijsku hipertenziju; antidijabetiski efekat kod dijabetesa tipa 2
Omega-3 masne kiseline	mogu doprineti očuvanju zdravlja srca i smanjiti rizik od CHD; doprinose očuvanju mentalnih (depresija, anksioznost) i vizuelnih funkcija; utiču na razvoj mozga; pozitivan efekat kod Kronove bolesti; mogu smanjiti rizik od nastanka karcinoma dojke i debelog creva; pozitivno dejstvo kod reumatoidnog artritisa
Aminokiseline i polipeptidi koji sadrže sumpor	
Glutation	smanjuje rizik od nastanka karcinoma; antioksidantni efekat; primena kod bolesti povezanih sa nedostatkom glutationa (HIV, starenje, ciroza jetre, cistična fibroza, neurodegenerativni poremećaji)
Metionin	upotreba pri nastanku oštećenja neuralne cevi i kognitivnih oštećenja; pozitivno dejstvo kod ateroskleroze; sprečava propadanje mišića
Cistin	sprečava propadanje mišića; utiče na normalan razvoj kose i noktiju
Vitamini	
β-karoten (prekursor vitamina A)	neutrališe slobodne radikale; podstiče ćelijsku antioksidativnu zaštitu; može preći u vitamin A u organizmu; može smanjiti rizik od nastanka karcinoma debelog creva i pluća (kod nepušača); preventivno dejstvo kod oštećenja koronarnih arterija
B1 (Tiamin)	utiče na mentalno zdravlje (npr. Korsakof sindrom i suvi beri-beri); zdravlje nervnog sistema (neuropatije) i zravlje srca (vlažni beri-beri)
B2 (Riboflavin)	Smanjuje rizik od nastanka CHD; može smanjiti rizik od nastanka karcinoma; pozitivno dejstvo na vid (katarakta, prozirnost rožnjače); zdravlje nervnog sistema (periferne neuropatije); očuvanje zdravlja kože

Komponenta	Potencijalno pozitivno dejstvo na zdravlje
B3 (Niacin)	poboljšava zdravlje kože; reguliše poremećaje lipidnog statusa i one nastale kod CHD; koristan uticaj kod karcinoma; pozitivni efekti kod pacijenata sa HIV-om; doprinosi poboljšanju mentalnog zdravlja (šizofrenija, depresija, insomnija); pozitivno dejstvo kod osteoartritisa
B5 (Pantotenska kiselina)	ubrzava zalečenje rana, manjih opekovina, iritacija i posekotine; poboljšava mentalno zdravlje (insomnija, depresija, razdražljivost, stres); utiče na zdravlje digestivnog trakta
B6 (Piridoksin)	pozitivno dejstvo na zdravlje srca; pozitivno dejstvo na mentalno i zdravlje mozga (depresija, zamor, insomnija i epi napadi); pozitivno dejstvo kod kolorektalnih karcinoma; prevenira napade astme; terapija mikrocitne anemije; pozitivno dejstvo kod okluzivne bolesti pluća; ublažuje seboreični dermatitis
B8 (Biotin)	poboljšava mentalno zdravlje i zdravlje CNS (neurološki poremećaji); utiče na rast i razvoj; poboljšava zdravlje kože (dermatitis) i kose (alopecija)
B9 (Folat)	upotreba pri nastanku oštećenja neuralne cevi; smanjuje rizik od nastanka CHD; pozitivno dejstvo kod karcinoma (debelog creva); utiče na plodnost (fertilitet); terapija megaloblastične anemije; poboljšava mentalno zdravlje (depresija i kognitivne funkcije)
E (Tokoli)	-
Tokoferoli	pozitivno dejstvo kod karcinoma (pankreas); utiče na očuvanje zdravlja kardiovaskularnog sistema; antidijabetski efekat kod dijabetesa tipa 2
Alkilresorcinoli	pozitivno dejstvo kod karcinoma, tuberkuloze, tropskih bolesti

2.2. SPOREDNI PROIZVODI PRERADE ŽITARICA KAO IZVOR FUNKCIONALNIH JEDINJENJA

Prehrambena industrija se nalazi pred brojnim izazovima koji su, sa jedne strane, usmereni na veliku potražnju za hranom (rast svetske populacije), a sa druge strane, na razvoj novih funkcionalnih proizvoda. Sporedni proizvodi prehrambene industrije su prepoznati kao jeftin izvor visokovrednih biološki aktivnih jedinjenja, kao što su antioksidansi, prehrambena vlakna, proteini, ugljeni hidrati i druga, te se, stoga, njihova revalorizacija može smatrati ključnom u strategiji rešavanja velike količine otpadne biomase i iskorišćenja raspoloživih biološki aktivnih jedinjenja. U tom svetlu, upotreba sporednih proizvoda prehrambene industrije ispoljava rastući trend, nudeći nove sirovine kao izvore funkcionalnih jedinjenja.

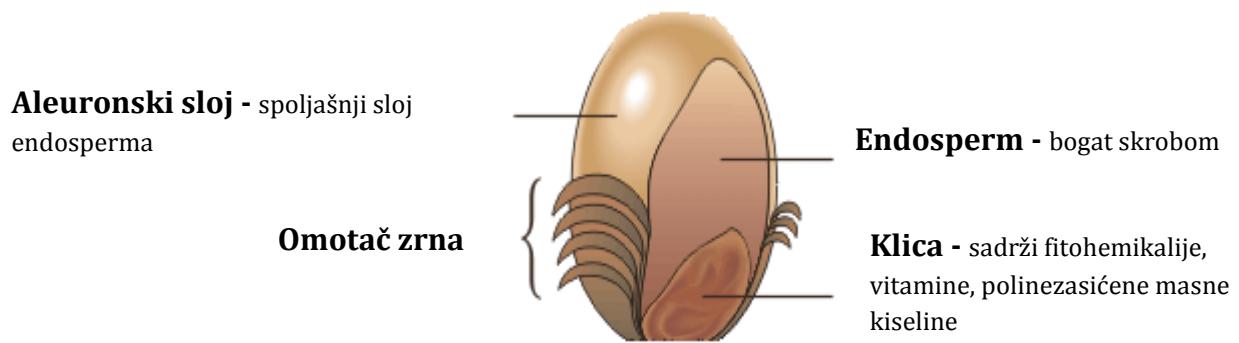
Sporedni proizvodi prerade žitarica (mekinje i klica) nastaju prilikom primarne prerade žitarica, mlevenjem, tokom koga se omotač zrna i klica odvajaju od skrobnog endosperma (brašna). Ovi sporedni proizvodi su bogati bioaktivnim komponentama, te predstavljaju vrednu sirovину koja može da se upotrebi kako bi se nutritivno i funkcionalno obogatile osnovne formulacije različitih prehrambenih proizvoda.

Paralelno korišćenju mekinja u svrhu fortifikacije proizvoda, raste interes da se ovi sporedni proizvodi, bogati prehrambenim vlaknima, iskoristite kao sirovine za proizvodnju zamenjivača masti (Martínez-Cervera i sar., 2011).

2.2.1. MEKINJE ŽITARICA – KOMPONENTE FUNKCIONALNE HRANE

Celo zrno žitarica sastoje se od skrobnog endosperma, klice i omotača (uključujući i aleuronski sloj) (slika 1). Mekinje žitarica predstavljaju sporedne proizvode dobijene tokom mlevenja istih. Mekinje se sastoje iz spoljašnjih slojeva zrna. Spoljašnji slojevi zrna sadrže skoro celu količinu lignina prisutnu u zrnu i značajne količine celuloznih vlakana i hemiceluloze. Sa mlinskog aspekta najznačajniji deo zrna je endosperm, koji se sastoји od aleuronskog sloja i jezgra endosperma koje je bogato skrobom (Fišteš, 2009). Aleuronski sloj se uglavnom sastoји od proteina, arabinoksilana i β -glukana. Iako aleuronski sloj anatomske gledano čini deo endosperma, po svojim tehnološkim svojstvima znatno je bliži omotaču zrna nego jezgru endosperma, te se u postupku mlinske prerade zajedno sa

klicom i omotačem izdvaja u sporedne proizvode mlevenja (Fišteš, 2009). Klica, koja čini oko 3% zrna, bogata je proteinima i mastima (Rimsten, 2003).

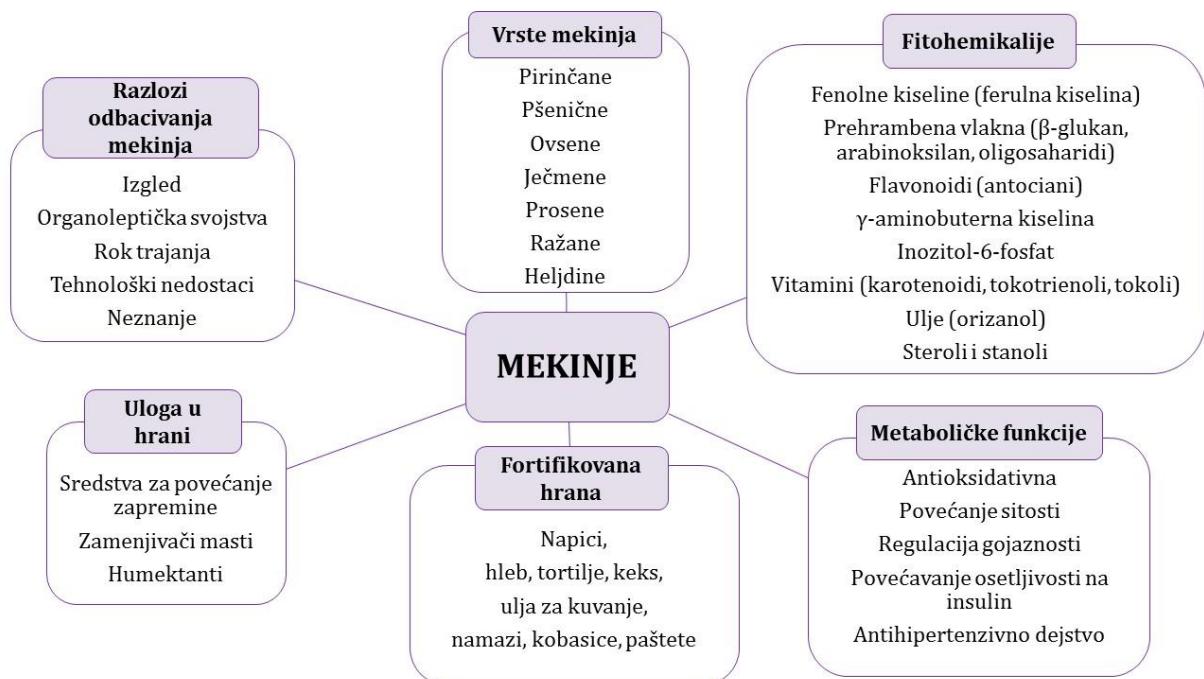


Slika 1. Struktura zrna žitarica

Mekinje žitarica stekle su ključnu ulogu u kreiranju funkcionalnih proizvoda. Naime, primena mekinja u formulacijama različitih prehrambenih proizvoda poslednjih godina dobija sve više na značaju zbog njihove nutritivne i funkcionalne vrednosti (Patel, 2015). Mekinje pirinča, pšenice, ovsa, ječma, kukuruza i heljde imaju veliku nutritivnu vrednost. One sadrže veliku količinu neskrobnih ugljenih hidrata (arabinoksilan, β -glukan), fenolnih kiselina (ferulna kiselina), flavonoida (antocijani), ulja (γ -orizanol), vitamina (karotenoidi, tokoli), oligosaharida, folata i sterola, kao i drugih fitohemikalija (Patel, 2015). Široka paleta funkcionalnih komponenata sadržanih u mekinjama čini ih poželjnim za unapređenje hrane, odnosno kreiranje proizvoda sa dodatom vrednošću. Ovome doprinosi i sve veće interesovanje potrošača za proizvode obogaćene nutrijentima ili komponentama koji se prirodno nalaze u hrani. Tako je u 2011-oj broj proizvoda koji su sadržali pšenične mekinje iznosio oko 800, a 2001-e samo 52 (Prückler i sar., 2014).

Mekinje žitarica, a posebno njihova prehrambena vlakna, utiču na povećanje sitosti produžavajući vreme pražnjenja želuca i usporavaju apsorpciju hranljivih materija (Slavin, 2013). Sinergijski efekat vlakana, rezistentnog skroba i antioksidanasa se smatra odgovornim za smanjenje brzine apsorpcije glukoze, odlaganje lučenja insulina, te posledično na regulisanje telesne težine. Povezanost smanjena rizika od nastanka kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa tipa 2 i gojaznosti i konzumiranja vlakana iz žitarica, celih zrna žitarica ili mekinja žitarica potvrđena je u brojnim studijama objavljenim u periodu od 1965-2010. godine, koje su sumirali Cho i saradnici (2013).

Takođe je potvrđeno da mekinje imaju antilipemijsko, antiaterogeno, antihipertenzivno, kao i hipoglikemijsko dejstvo (Patel, 2015). One se, dakle, mogu upotrebiti u borbi protiv oksidativnog stresa, smanjuju insulinsku rezistenciju, sprečavaju rizik od gojaznosti tako što izazivaju sitost i ublažavaju kardiovaksularne komplikacije (slika 2).



Slika 2. Različite vrste mekinja, njihove fitohemikalije, mogućnosti obogaćivanja hrane i metaboličke uloge (Patel, 2015)

Prückler i saradnici (2014) su objavili da od svih kategorisanih grupa proizvoda u koje su inkorporirane mekinje, pekarski proizvodi i proizvodi na bazi žitarica zauzimaju prvo mesto sa oko 60% tržišnog udela. Najveći broj studija o unapređenju hrane primenom mekinja, odnosno prehrambenih vlakana iz mekinja, odnosi se na obogaćivanje brašnenokonditorskih proizvoda. U tu svrhu mekinje su najčešće korišćene kao supstituenti dela pšeničnog brašna. Postoji nekoliko studija u kojima su dodavane različite vrste mekinja u formulacije keksa i srodnih proizvoda: pšenične mekinje (Stanyon i Costello, 1990; Gujral i sar., 2003; Bilgiçli i sar., 2007; Nandeesh i sar., 2011; Sozer i sar., 2014), ovsene mekinje (Vitali i sar., 2009; Khalil i sar., 2015; Baumgartner i sar., 2018) i pirinčane mekinje (Sharma i Chauhan, 2002).

Uprkos svim korisnim zdravstvenim efektima mekinja, njihova integracija u prehrambene proizvode predstavlja tehnološki izazov. Limitirajući faktor prilikom proizvodnje brašneno-konditorskih proizvoda obogaćenih mekinjama je negativan uticaj na senzorske karakteristike proizvoda, kao što su gorak ukus i povećanje zrnavosti (Hemdane i sar., 2016). Sačuvati zdravlje konzumiranjem hrane bogate vlaknima i prilagoditi tehnološki proces kako bi se omogućilo očuvanje senzorskih karakteristika proizvoda, osnovni su zahtevi koje je potrebno usaglasiti. Da bi se dobio krajnji proizvod zadovoljavajućeg kvaliteta, koriste se različiti predtretmani mekinja: mlevenje (smanjenje veličine čestica), kondicioniranje (namakanje), (hidro)termički tretmani, ekstrudiranje, fermentacija i enzimski ili hemijski tretmani (Duđa i sar., 2018).

2.2.1.1. Uloga vlakana iz mekinja i njihova antioksidativna aktivnost

Značaj mekinja žitarica u ishrani je nepobitan, kako zbog značajne količine prehrambenih vlakana, tako i zbog doprinosa koji daju ukupnom unosu antioksidativno delotvornih komponenti.

Različiti delovi zrna žitarica sadrže različite količine vlakana, čiji je i sastav varijabilan, odnosno različit je odnos rastvorljive i nerastvorljive frakcije. U mekinjama uglavnom dominiraju nerastvorljiva prehrambena vlakna (*insoluble dietary fibre*, IDF), dok endosperm sadrži značajan udeo rastvorljive frakcije (*soluble dietary fibre*, SDF). Takođe, sastav vlakana zavisi i od vrste žitarica. Ustanovljeno je, takođe, da uslovi kultivacije utiču na sadržaj vlakana, pa, stoga, postoje razlike u postojećim literurnim podacima o sadržaju vlakana u pojedinim žitaricama (Vitaglione i sar., 2008).

Uloga rastvorljivih vlakana je povezana sa njihovom izraženom sposobnošću bubrenja. Povećavajući viskozitet i obrazujući gelove ona uslovjavaju povećanje volumena unete hrane i sporiju drenažu želuca, što ima za posledicu duže vreme trajanja osećaja sitosti. Takođe, ovim se usporava varenje hrane i resorpcija nutrijenata što utiče na smanjenje nivoa šećera u krvi, kao i smanjenje insulinskog odgovora organizma. Stoga se ishrana bogata rastvorljivim vlaknima preporučuje dijabetičarima (Amadò, 2006). Rastvorljiva prehrambena vlakna utiču, takođe, i na smanjenje nivoa holesterola u krvi (Chau i Huang, 2005).

Nerastvorljiva prehrambena vlakna imaju visok kapacitet vezivanja vode i omeštavaju fekalni sadržaj, pa im je glavna uloga u prevenciji intestinalnih (digestivnih) poremećaja. Ona ubrzavaju prolazak hrane kroz digestivni sistem, čime omogućavaju redovno pražnjenje, odnosno njihova osnovna funkcija je da obezbede pravilan rad digestivnog trakta (Slavin, 2013). To su vlakna koja su od najveće pomoći ljudskim crevima. Za nerastvorljiva vlakna se smatra da umanjuju rizik od raka debelog creva i rektuma, a mogu i da budu korisna kod pojedinaca koji pate od sindroma iritiranih creva i divertikulitisa. Takođe, regulišu nivo šećera u krvi, tako da se unos nerastvorljivih vlakana preporučuje dijabetičarima (Rodriguez i sar., 2006).

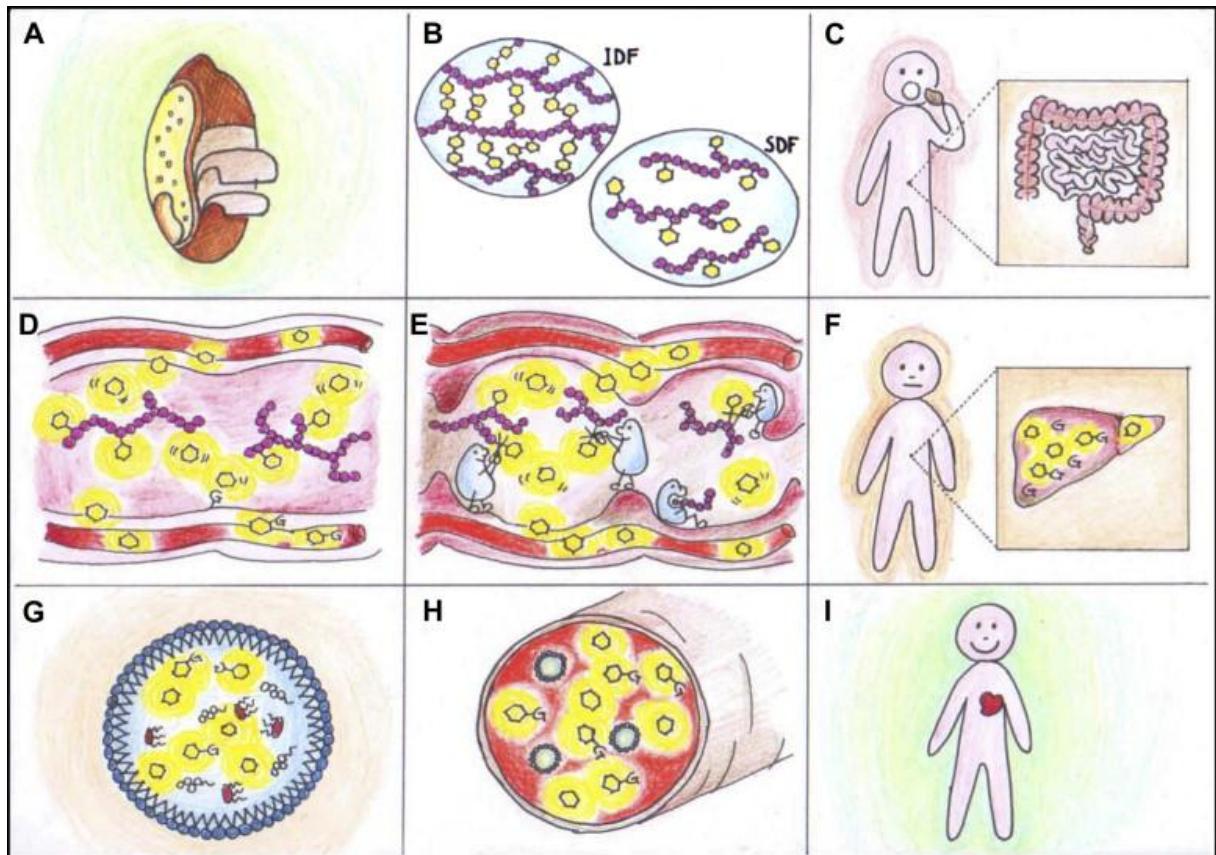
Većina studija o značaju konzumiranja vlakana iz mekinja žitarica uglavnom je bila fokusirana na polisaharidni karakter vlakana, tj. njihovu osobinu da se ne razlažu pod dejstvom enzima digestivnog trakta, te na posledične pozitivne efekte na zdravlje ljudi (prebiotski efekat, stvaranje osećaja sitosti i smanjenje nivoa šećera u krvi). Danas je sve više studija posvećeno antioksidativnom potencijalu prehrambenih vlakana iz mekinja žitarica. Naime, polisaharidi prisutni u mekinjama žitarica povezani su sa fenolnim jedinjenjima u kompleksne posredstvom estarskih ili etarskih veza. U ovakvim kompleksima fenolna jedinjenja su "zarobljena" i ne ispoljavaju antioksidativnu aktivnost. Ova činjenica dugo vremena bila je razlog zbog koga je antioksidativni potencijal žitarica bio potcenjen. Kasnjim *in vitro* ispitivanjima, koja su obuhvatala odgovarajući tretman biljnog materijala (hemiju hidrolizu i višestruku ekstrakciju), došlo se do saznanja o značajno većoj antioksidativnoj aktivnosti mekinja žitarica, usled oslobođanja fenolnih kiselina iz gorepomenutih kompleksa (Vitaglione i sar., 2008).

Oslobađanje polifenolnih jedinjena iz mekinja žitarica može se izvršiti osim pomenutih metoda i novim metodama ekstrakcije, čije je korišćenje aktuelno poslednjih godina, od kojih je jedna ultrazvučno potpomognuta ekstrakcija (*ultrasound-assisted extraction*, UAE). UAE je okarakterisana kao brza, ekonomična, jeftina i efikasna tehnika.

Mnogobrojni radovi se bave ultrazvučno potpomognutom ekstrakcijom polifenola iz žitarica kako bi se povećao njihov prinos, a ujedno i povećala efikasnost ekstrakcije (Hromádková i sar., 2008; Wang i sar., 2008; Tabaraki i Nateghi, 2011; Đorđević i Antov, 2017). Povećanje brzine ekstrakcije postignuto primenom ultrazvuka pripisuje se efektima kavitacije proizvedenim u rastvaraču pomoću sonifikacije (Wang i sar., 2008).

Ovi efekti su na frekvenciji do 20 kHz mehanički, dok na većim frekvencijama dolazi do oslobađanja vezanih fitohemikalija iz zrna (Mason i sar., 1996; Fulcher i Duke, 2002).

Hipoteza koja objašnjava pozitivne efekte koje vlakna iz žitarica imaju na zdravlje ljudi zasniva se na mehanizmu sporog i kontinuiranog otpuštanja fenolnih komponenti u krvotok, što je ilustrovano na slici 3 (Vitaglione i sar., 2008).



Slika 3. Postepeno oslobađanje fenolnih jedinjenja iz kompleksa sa vlaknima u digestivnom traktu i njihovo delovanje (Vitaglione i sar., 2008)

Dokazano je da konzumiranje celih zrna žitarica (slika 3A) ima ulogu u borbi protiv gojaznosti, kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa i bolesti koje su u sprezi sa navedenim oboljenjima, pri čemu upravo mekinje prednjače u ispoljavanju pozitivnog efekta na zdravlje ljudi (Liu, 2003). Mekinje sadrže najveći deo prehrambenih vlakana, odnosno polisaharida za koje su vezana polifenolna jedinjenja. Sudbina kompleksa vlakana i polifenola (DF-PC) u ljudskom organizmu u mnogome zavisi od vrste vlakana za koja su fenolna jedinjenja vezana.

Dejstvom esteraza u tankom crevu, deo ovih jedinjenja se oslobađa, apsorbuje i dospeva u krvotok (slika 3D). Bioraspoloživost fenolnih jedinjenja zavisi od toga da li su vezana za rastvorljiva ili nerastvorljiva vlakna. Naime, esteraze teško deluju na visokoumrežene strukture koje su karakteristične za nerastvorljiva vlakna, povezana diferulatima (slika 3B). Dejstvo esteraza je olakšano ukoliko se radi o manje strukturno složenim polisaharidima poput rastvorljivih vlakana (Kroon, 2000). Na osnovu prethodno navedenog može se zaključiti da rastvorljiva vlakna imaju značajniju ulogu u antioksidativnoj zaštiti organizma (slika 3C) od nerastvorljivih i da je bioraspoloživost kompleksa DF-PC veća što je veći količnik rastvorljive i nerastvorljive polisaharidne frakcije u nekom biljnom materijalu.

U debelom crevu kompleks DF-PC postaje supstrat bakterijskih hidrolaza (ksilanaze, β -glukozidaze). Bifidobakterije i laktobacili delimično razgrađuju rastvorljiva vlakana, čime se objašnjava dobro poznat prebiotski efekat istih. Nastali ologosaharidi postaju još dostupniji bakterijskim esterazama, čijim se dejstvom postiže postepeno oslobađanje fenolnih jedinjenja (slika 3E). Efekat postepenog oslobađanja ferulne i drugih fenolnih kiselina je veoma značajan, jer za odbranu organizma od dejstva slobodnih radikala nije ni poželjno da se u krvi naglo dostignu visoke koncentracije jedinjenja sa antioksidativnim dejstvom. U tom slučaju se često postiže upravo suprotan (prooksidativni) efekat istih.

Deo slobodnih fenolnih jedinjenja prisutnih u krvotoku dospeva do različitih tkiva i organa (slika 3H), čime se postižu različiti pozitivni efekti i stalna zaštita ljudi koji konzumiraju hranu bogatu vlaknima od kardiovaskularnih oboljenja, koja su uglavnom uzrokovana disbalansom postojećeg antioksidativnog sistema zaštite организма (slika 3I).

2.2.1.2. Mekinje pšenice i ovs-a – fitohemikalije i nutrijenti

S obzirom na učestalost inkorporiranja pšeničnih i ovsenih mekinja u formulacije niza proizvoda na bazi brašna, u tabeli 3 dat je prikaz profila fitohemikalija u ovim vrstama mekinja.

Tabela 3. Profili fitohemikalija pšeničnih i ovsenih mekinja

Cerealija	Botaničko ime	Sastav mekinja	Izvor
Pšenica	<i>Triticum spp.</i>	Vlakna, lignini, oligosaharidi, polifenoli, lignani, fitinska kiselina, minerali, alkilrezorcinoli, glutation, aminokiseline i polipeptidi koji sadrže sumpor, α-linoleinska kiselina, karotenoidi, vitamini B i E	Stevenson i sar., 2012
Ovas	<i>Avena sativa</i>	Vitamini B kompleksa, proteini, masti, minerali, β-glukan, arabinoksilan, oligosaharidi, tokoli i fenolne komponente	Herranen i sar., 2010; Alrahmany i Tsopmo, 2012

- **Pšenične mekinje**



Pšenica je jedna od najzastupljenijih žitarica u ljudskoj ishrani. Tokom mlevenja celog zrna pšenice nastaju i sekundarne frakcije (pšenične mekinje, klica i dr.) u iznosu od oko 25%. Mekinje predstavljaju spoljašnji sloj zrna pšenice i smatraju se glavnim sporednim proizvodom dobijenim tokom mlevenja žita (dobijanja brašna), jer čine

13% do 19% zrna pšenice u zavisnosti od postupka mlevenja, suvog ili vlažnog (Hossain i sar., 2013).

Zrno pšenice sastoji se iz a) omotača, koji je bogat pentozanima, celulozom i mineralnim materijama, b) endosperma (bogat skrobom), kome pripada i aleuronski sloj koji je bogat proteinima, enzimima, lipidima, pentozanima, mineralnim materijama i kompleksom B vitamina i c) klice, koja sadrži velike količine proteina, lipida i liposolubilnog vitamina E, šećera (saharoze i rafinoze) i mineralnih materija.

Oko 90% pšeničnih mekinja se koristi kao hrana za životinje, dok se samo oko 10% koristi u prehrambenoj industriji u formulacijama žita za doručak, grickalicama, hrani za bebe, sosevima i prelivima (Hossain i sar., 2013; Prückler i sar., 2014). Iz sirovih pšeničnih mekinja, dobijenih u postupku mlevenja pšenice, dodatnim mlevenjem se dobija praškasti materijal koji se koristi za obogaćivanje prehrambenih proizvoda vlaknima. Tako, na primer, dodatak pšeničnih mekinja u količini od oko 2,5% kao supstituenta pšeničnog brašna u formulaciji za keks značajno povećava sadržaj vlakana (Gujral i sar., 2003). Kliničkim i epidemiološkim studijama potvrđeno je da je konzumiranje namirnica sa visokim sadržajem vlakana povezano sa smanjenim rizikom od nastanka bolesti poput karcinoma debelog creva, dijabetesa, gojaznosti i kardiovaskularnih oboljenja. Mlevenjem pšeničnih mekinja se smanjuje veličina čestica i povećava slobodna površina, što značajno utiče na funkcionalne karakteristike ovih vlakana u prehrambenim proizvodima i njihovo fiziološko dejstvo. Takođe, smanjenjem veličine čestica mekinja postiže se bolja biodostupnost hranljivih materija.

Nutritivni sastav pšeničnih mekinja objavili su brojni autori, koji su kao glavne komponente identifikovali jedinjenja navedena u tabeli 4. Sadržaj bioaktivnih jedinjenja u mekinjama varira usled genetskih faktora, faktora uzbudjanja i okruženja (lokalitet, klima) (Hossain i sar., 2013).

Tabela 4. Sastav pšeničnih mekinja

Komponenta mekinja	Količina (%)	Izvor
Voda	8,1–12,7	Curti i sar., 2013
Protein	9,9–18,6	Curti i sar., 2013
Mast	3,9–6,3	Hemery i sar., 2007; Curti i sar., 2013
Fitosteroli	0,16	Fardet, 2010
α-linoleinska kiselina	0,16	Fardet, 2010
Ukupni ugljeni hidrati	60,0–75,0	Javed i sar., 2012
Skrob	13,8–38,9	Hemery i sar., 2007; Curti i sar., 2013
Celuloza	11,0	Hemery i sar., 2007
Arabinoksilan	5–26,9	Fardet, 2010
β-glukan	1,1–2,6	Fardet, 2010
Ukupne fenolne kiseline	0,76–1,38	
Slobodne i konjugovane fenolne kiseline	0,04– 0,06	
Vezane fenolne kiseline	0,14–0,34	Fardet, 2010
Ukupna ferulna kiselina	0,13–0,63	
Slobodna i konjugovana ferulna kiselina	0,001–0,02	
Vezana ferulna kiselina	0,12–0,28	
Fitinska kiselina	4,2–5,4	Hemery i sar., 2007; Fardet, 2010
Pepeo	3,39–8,1	Hemery i sar., 2007; Fardet, 2010

Komponenta mekinja	Količina (%)	Izvor
Minerali (mg/100 g)		
K	1182–1900	
Mg	390–640	
Zn	2,5–14,1	
Mn	4–14	Fardet, 2010
Se	0,84–2,20	
P	900–1500	
Ca	24–150	
Na	2–41	

Pšenične mekinje sadrže 36,5–52,4% ukupnih prehrambenih vlakana, od kojih su 35,0–48,4% nerastvorljiva vlakna, dok su 1,5–4,0% rastvorljiva (Vitaglione i sar., 2008). Ovo, dakle, znači da odnos rastvorljivih i nerastvorljivih vlakana iznosi 1:10. Pšenične mekinje predstavljaju značajan izvor celuloznih vlakana koja su funkcionalni sastojak značajan u ishrani ljudi, jer utiču na smanjenje nivoa triglicerida u krvi i prevenciju srčanih oboljenja, pomažu smanjenju žučnog kamenca kontrolišući izlučivanje žučnih kiselina a, takođe, povećavaju osetljivost ćelija na insulin (Karper, 1995). U pšeničnim mekinjama prisutne su velike količine kalcijuma, kalijuma, gvožđa, fosfora, cinka, bakra, magnezijuma i mangana (El-Sharnouby i sar., 2012).

Ulja dobijena iz pšeničnih mekinja sadrže tokoferole, alkilrezorcinole, steril ferulate i druge fenolne komponente (Rebolleda i sar., 2015). Dokazano je da oligosaharid arabinoksilan ekstrahovan iz pšeničnih mekinja predstavlja vredan prebiotik u kontroli gojaznosti i srodnih metaboličkih poremećaja (Patel, 2015). Takođe je ispitana uticaj arabinoksilana iz pšeničnih mekinja na metabolizam holesterola kod hrčaka sa hiperholesteronemijom. Suplementacija arabinoksilanom u dozi od 5 g/kg smeše, koja je korišćena za ishranu hrčaka tokom 30 dana, smanjila je nivo ukupnog i LDL-holesterola (Tong i sar., 2014).

U studiji koju su sproveli Afaghi i saradnici (2013) ispitan je uticaj dodatka vlakana (pšenične mekinje) ishrani baziranoj na hrani sa niskim glikemijskim indeksom kod pacijenata sa gestacijskim dijabetesom. Formirane su dve grupe pacijenata (kontrolna grupa bez dodatka vlakana u ishrani i grupa koja je koristila pšenične mekinje u ishrani) kako bi se ustanovilo smanjenje broja pacijenata kojima je potreban insulin. Rezultati su pokazali da je samo 40% pacijenata iz grupe koja je koristila vlakna u ishrani moralo da primi insulin, dok je 80% pacijenata iz grupe koja nije koristila dodatak pšeničnih mekinja u ishrani moralo da koristi insulin.

Od fenolnih kiselina u pšeničnim mekinjama dominiraju ferulna, vanilinska, *p*-kumarinska, siringinska, sinapinska i kafena kiselina (Kim i sar., 2006; Liyana-Pathirana i Shahidi, 2007; Luthria i sar., 2015). Fenolne kiseline se nalaze u slobodnom, rastvorno-konjugovanom i vezanom obliku (Moore i sar., 2005), pri čemu je najveći deo prisutan u nerastvornoj vezanoj formi, vezanoj za komponente ćelijskog zida kao što su celuloza, lignin i proteini (Parker i sar., 2005). Stoga se fenolne kiseline uključuju u proces varenja u debelom crevu, gde ostvaruju antioksidativnu ulogu, ispoljavajući antikarcinogeno dejstvo (Stevenson i sar., 2012). Ferulna kiselina, kao najzastupljenija fenolna kiselina u pšeničnim mekinjama, nalazi se u vezanoj formi u količini od 99% (Lu i sar., 2014).

Ovsene mekinje



Proizvodnja ovsa trenutno zauzima šesto mesto u svetskoj proizvodnji žitarica, nakon pšenice, kukuruza, pirinča, ječma i sirka (Arendt i Zannini, 2013). Zrno ovsa je prekriveno finim, svilenim dlačicama, koje se nazivaju trihome. Oljušteno zrno ovsa

čine omotač (oko 40%), endosperm (oko 60%) i klica (oko 3%) (Arendt i Zannini, 2013). Ispod omotača zrna, koji je bogat vitaminima, mineralima, fitatima i antioksidansima, nalazi se endosperm, koga čine ćelije aleuronskog sloja koje su bogate β -glukanom i centralni deo bogat skrobom (jezgro). Za ovas je karakterističan relativno mali udeo endosperma, a naročito jezgra endosperma, dok je udeo aleuronskog sloja visok (11–14%). Klica je bogata proteinima i lipidima. Omotač i aleuronski sloj (spoljni slojevi) čine mlinsku frakciju ovsa pod nazivom mekinje.

Mekinje su jestivi, spoljni slojevi zrna ovса koji se dobijaju mlevenjem celog zrna ovса i pogodnim separacionim tehnikama, prosejavanjem ili vazdušnom klasifikacijom, kojima se uklanja skrobni endosperm. Mekinje ovса čine 38–40% ploda ovса (Lásztity, 1998). Dominantna jedinjenja u ovsenim mekinjama pobrojana su u tabeli 5.

Tabela 5. Sastav ovsenih mekinja

Komponenta	Količina (%)	Izvor
Voda	5–9	Herranen i sar., 2010
Protein	17–21	Ekholm i sar., 2003; Herranen i sar., 2010
Mast	7,5–9,6	Ekholm i sar., 2003; Lásztity, 1998
Fitosteroli		
α-linoleinska kiselina		
Ukupni ugljenihidrati	46–67,9	Herranen i sar., 2010; Marlett, 1993
Šećer	1,5	Herranen i sar., 2010
Prehrambena vlakna	10–17	Ekholm i sar., 2003, Lásztity, 1998
β-glukan	6–10,4	Herranen i sar., 2010; Marlett, 1993
Ukupne fenolne kiseline	0,066–0,068	
Slobodne fenolne kiseline	0,012–0,013	
Vezane fenolne kiseline	0,054–0,055	Alrahmany i sar., 2013
Fitinska kiselina	1,8–2,4	García-Estepa i sar., 1999; Baumgartner i sar., 2018
Pepeo	1–3,1	Hitayezu i sar., 2015

Komponenta	Količina (%)	Izvor
Minerali (mg/100g)		
K	618-642	
Mg	222,7-239,3	
Zn	4,4-4,8	Ekholm i sar., 2003
Mn	3,6-7,4	
Fe	6,5-8,5	
Ca	80,2-81,8	

Mekinje ovsa obično sadrže od 6% do 8% β -glukana, dok mekinje dobijene modernim postupkom suvog mlevenja mogu da sadrže i do 22% β -glukana (Kaukovirta-Norja i Lethinen, 2008). Upravo zbog visokog sadržaja ovog jedinjenja ovsene mekinje su privukle komercijalnu pažnju, kao i pažnju naučne javnosti. β -glukani su linearni homopolisaharidi sastavljeni od dve do tri jedinice β -D-glukopiranove uzastopno povezane 1-4 glikozidnom vezom u vidu blokova, koji su međusobno povezani glikozidnom 1-3 vezom. Kod zrna ovsa β -glukani su raspoređeni kroz endosperm zrna. Kao rastvorljiva vlakna ispoljavaju pozitivan zdravstveni efekat, smanjujući nivo holesterola i šećera u krvi (Lazaridou i Biliaderis, 2007). β -glukani se mogu izolovati nakon separacije frakcija dobijenih u postupku mlevenja. Ovi hidrokoloidi imaju značajnu primenu u prehrambenoj industriji, zasnovanu na reološkim osobinama sistema koji sadrže β -glukane. Mogu se koristiti kao ugušćivači u cilju poboljšanja teksturnih karakteristika proizvoda, želirajući agensi i kao komponente niskoenergetskih proizvoda. Uglavnom se primjenjuju u proizvodima kao što su testenine, hlebovi, mafini, ali i u proizvodima od mesa (Cavallero i sar., 2002). Ovsene mekinje sadrže pored β -glukana i pentozane i nerastvorljiva vlakna, tako da je sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana u ovom sporednom proizvodu od 17% do 35% (Kaukovirta-Norja i Lethinen, 2008).

Jedinjenja koja ispoljavaju antioksidativno dejstvo se u najvećoj meri nalaze u spoljnim slojevima zrna ovsa, pa su, stoga, prisutna u mekinjama (Peterson, 2001). Komponente u mekinjama ovsa koje ispoljavaju antioksidativno dejstvo su tokoli (vitamin E), fitinska kiselina, fenolne komponente, avenantramidi (fenolni antioksidansi karakteristični isključivo za zrno ovsa) i steroli (Arendt i Zannini, 2013). Prisustvo ovsenih mekinja u proizvodima doprinosi i u pogledu vitamina, ali ne u izrazitim količinama (Arendt i Zannini, 2013).

Literaturni navodi prikazuju različite profile fenolnih kiselina u ovsenim mekinjama u zavisnosti od uslova uzgajanja ovsa i primenjenih agronomskih tretmana (Emmons i Peterson, 2001; Dimberg i sar., 2005; Xu i sar., 2009). Najčešće identifikovane fenolne kiseline u ovsu su ferulna, p-kumarinska, kafena, vanilinska i hidroksibenzozoeva kiselina i njihovi derivati (Emmons i sar., 1999; Emmons i Peterson, 2001; Mattila i sar., 2005; Kováčová i Malinová, 2007). U mekinjama ovsa one se najčešće nalaze vezane za šećere, masne kiseline ili proteine (Verardo i sar., 2011). Adom i Liu (2002) su ustanovili da se 70% fenolnih kiselina u ovsu nalazi u vezanoj formi.

2.3. ZAMENA MASTI U PREHRAMBENIM PROIZVODIMA

Trendovi istraživanja u oblasti prehrambenih tehnologija usmereni su na razvoj funkcionalnih prehrambenih proizvoda koji pozitivno utiču na zdravlje ljudi i istovremeno smanjuju rizik od nastanka bolesti. S obzirom na postojanje veze između visokog unosa masti i razvoja niza bolesti (gojaznost, dijabetes, kancer, povišen holesterol u krvi, srčana oboljenja), čine se napor da se sadržaj masti u formulacijama proizvoda redukuje.

Prekomerni unos masti je učestaliji od prekoračenja unosa proteina i ugljenih hidrata, jer masti odlikuje visok kalorijski nivo (9 kcal/g), viši od onog karakterističnog za proteine i ugljene hidrate (4 kcal/g), pa, stoga, i mala količina masti u obroku nosi prekomerne kalorije. Masti ne doprinose osećaju sitosti u meri u kojoj joj doprinosi konzumiranje proteina ili ugljenih hidrata, a višak kalorija poreklom iz masti se lakše skladišti od kalorija poreklom iz proteina ili ugljenih hidrata (Napier, 1997). Stoga je osnovna orijentacija u borbi protiv prekomerne težine i gojaznosti snižavanje dela energije poreklom iz masti koja se hranom unosi u organizam. Generalno, smernice za pravilnu ishranu ukazuju da ukupni unos masti treba limitirati na zadovoljenje 30% ukupnih kalorija, pri čemu zasićene masne kiseline ne treba da prevazilaze 10% ukupnog nedeljnog prosečnog unosa energije (Giese, 1996; Akoh, 1998). Postizanje ovako definisanog cilja moguće je promenom navika u ishrani ljudi, koje potrošače orijentišu ka sve izražajnijem konzumiranju proizvoda sa niskim ili sniženim sadržajem masti, odnosno ka namirnicama koje imaju povoljan odnos zasićenih i nezasićenih masnih kiselina.

Razvoj proizvoda sa smanjenim sadržajem masti predstavlja tehnološki izazov s obzirom na ulogu masti u prehrambenim proizvodima, koja značajno utiče na željeni izgled, ukus, aromu, teksturu i senzorski osećaj prilikom konzumiranja. Stoga je uklanjanje ili smanjivanje udela masti u nekoj formulaciji neophodno propratiti dodavanjem nekog sastojka koji će moći da doprinese željenoj funkciji masti kako bi se proizveo prihvatljiv proizvod.

Sastojci koji se koriste u navedenu svrhu nazivaju se zamenjivači (supstituenti) masti. Danas se koriste ugljenohidratni zamenjivači masti, proteinski zamenjivači masti i zamenjivači na bazi masti.

2.3.1. KLASIFIKACIJA ZAMENJIVAČA MASTI

Zamenjivači masti obuhvataju široku lepezu proizvoda koji zamenjuju deo ili kompletну količinu masti u proizvodu, pri čemu promena senzorskog profila proizvoda treba da bude što je moguće manja.

Zamenjivači masti su kategorizovani u sledeće grupe (Akoh, 1998):

- **Supstituenti masti ili analozi** (*fat substitutes* ili *analogs*) su jedinjenja koja fizički i hemijski nalikuju trigliceridima, ali nisu, shodno hemijskoj strukturi, klasifikovani kao masti i doprinose hrani sa manje kalorija ili joj u kalorijskom smislu uopšte ne doprinose. Oni podražavaju funkcionalna i senzorska svojstva masti u finalnom proizvodu, a mogu da se koriste za potpunu ili delimičnu zamenu masti u formulaciji proizvoda. Za neke od predstavnika ove kategorije može da se koristi i termin "niskokalorijske masti" (Finley i Leveille, 1996), kao, na primer, za triglyceride koji imaju drugačiji sastav masnih kiselina u odnosu na uobičajene masti i obezbeđuju manje kalorija.
- **Mimetici masti** (*fat mimetics*) su supstance koje podražavaju jednu ili više senzorskih ili funkcionalnih osobina masti, ali ne mogu da zamene mast na bazi gram-za-gram. Da bi mimetici ispoljavali svoje funkcionalne osobine u zameni masti, za njihovu pripremu neophodna je određena količina vode.
- **Barijerni materijali** (*fat barriers*) su sastojci koji se dodaju u svrhu redukcije apsorpcije masti tokom procesa prženja.
- **Ekstenzeri masti** (*fat extenders*) podrazumevaju vrstu proizvoda koji se koriste u svrhu redukcije masti u hrani. Oni optimizuju funkcionalnost masti, omogućavajući da se uobičajena količina masti u formulaciji proizvoda smanji.

Zamenjivači masti mogu, takođe, da se klasificuju shodno hemijskoj strukturi ili makronutrijentu koji im čini osnovu, pa tako postoje zamenjivači na bazi ugljenih hidrata, proteina i masti ili kombinacije navedenih. Najvažniji zamenjivači masti kategorizovani na gore navedeni način prikazani su u tabeli 6.

Tabela 6. Vrste zamenjivača masti, njihovi komercijalni nazivi i funkcionalne osobine (Oreopoulou, 2006)

Vrsta zamenjivača masti	Proizvod ili komercijalni naziv	Funkcionalne osobine
Zamenjivači na bazi ugljenih hidrata		
Skrbovi i modifikovani skrobovi	<i>Amalean, CrystaLean, Instant Steller, N-Lite, OptaGrade, Pure-gel, Remyrise, Slenderlean, Sta-Slim, Tapiocalin</i>	Želiraju, zgušnjavaju, teksturiraju
Maltodekstrini	<i>C*deLight, Lorelite, Lycadex, Maltrin, Paselli D-LITE, Paselli EXCEL, Paselli SA 2, STAR-DRI</i>	Želiraju, zgušnjavaju, teksturiraju
Dekstini	<i>Amylum, N-Oil, Stadex</i>	Želiraju, zgušnjavaju, teksturiraju
Polidekstroza	<i>Litasse, Sta-Lite</i>	Zadržavaju vlagu, pospešuju volumen, teksturiraju
Celuloza	<i>Avicel, Cellulose gel, Methocel, Solka-Floc</i>	Zadržavaju vlagu, stabilizuju, teksturiraju, obezbeđuju osećaj u ustima
Vlakna, poreklom iz žitarica	<i>Betatrim, Dairytim, Opta, Oat Fiber, Snowite, Ultracel, Z-Trim, Oatrim, Nu-Trim</i>	Želiraju, zgušnjavaju, teksturiraju
Vlakna, poreklom iz voća	<i>Fruit powder, dried plum paste, prune paste, Lighter Bake, Wonder Slim</i>	Pospešuju vlažnost, obezbeđuju osećaj u ustima
Gume (alginati, arabika, karagenan, guar, karuba, ksantan)	<i>Dycol, Jaguar, Gelcarin, Kelcogel, Keltrol, Rhodigum, uniguar, Viscarin</i>	Zadržavaju vlagu, stabilizuju, teksturiraju, obezbeđuju osećaj u ustima
Inulin	<i>Raftiline, Frutafit, Fibruline</i>	
Pektin	<i>Grindsted, Slendid, Splendid</i>	
Zamenjivači na bazi proteina		
Mikropartikularni proteini	<i>Simplesse</i>	Stabilizuju emulziju, obezbeđuju osećaj u ustima
Koncentrat modifikovanog proteina surutke	<i>Dairy-Lo</i>	Stabilizuju emulziju, obezbeđuju osećaj u ustima

Vrsta zamenjivača masti	Proizvod ili komercijalni naziv	Funkcionalne osobine
Drugi	<i>K-Blazer, Lita, ULTRA-BAKE, ULTRA-FREEZE</i>	Stabilizuju emulziju, obezbeđuju osećaj u ustima
Zamenjivači na bazi masti		
Emulgatori	<i>Dur-Em, Dur-Lo, EC-25</i>	Stabilizuju emulziju, obezbeđuju osećaj u ustima
Niskokalorijske masti (modifikovani trigliceridi)	<i>Salatrim, Caprenin, Neobee MLT-B</i>	Obezbeđuju osećaj u ustima
Analozi ili substituenti	<i>DDM, EPG, Olestra, Sorbestrin, TATCA</i>	Obezbeđuju osećaj u ustima, redukciju apsorpciju masti tokom prženja
Kombinacije	<i>Nutrifat, Olestin, Prolestra</i>	Obezbeđuju osećaj u ustima, teksturiraju

2.3.1.1. Zamenjivači masti na bazi ugljenih hidrata

Zamenjivači masti na bazi ugljenih hidrata su najbrojnija grupa zamenjivača. Ova jedinjenja su polisaharidi iz biljaka, uključujući skrobove i modifikovane skrobove, vlakna, celulozu, gume, polidekstrozu i druge (Roller i Jones, 1996; Akoh, 1998; Wylie-Rosett, 2002). Oni daju volumen, viskozitet i teksturu proizvodu, ostvarujući osećaj u ustima poput onog koji stvara mast. Zamenjivači masti na bazi ugljenih hidrata su mimetici masti. Oni se obično ne koriste da zamene mast na bazi gram-za-gram i ne mogu da se koriste za prženje, ali su podložni drugim termičkim tretmanima, pa se često koriste kao zamenjivači masti u pekarskim proizvodima. U stanju su da apsorbuju velike količine vode i da formiraju gel koji poseduje neke od funkcionalnih osobina masti. Slični su mastima po osobinama na koje utiču, odnosno po viskozitetu, mazivosti i osećaju koji stvaraju u ustima. Kalorijska vrednost ovih supstanci varira od 0–4 kcal/g. Neki od njih, kao, na primer, celuloza, nisu svarljivi. Drugi, poput modifikovanih skrobova, mogu da se svare, stvarajući 4 kcal/g, ali s obzirom da se obično koriste kao gelovi, njihova kalorijska vrednost je manja (1–2 kcal/g).

Zamenjivači masti na bazi skrobova i modifikovanih skrobova su modifikovani, delimično hidrolizovani ili preželatinizovani skobovi poreklom iz krompira, kukuruza, ovsa, pšenice, pirinča, tapioke i drugih sirovina. Generalno, male, intaktne, nabubrele skrobne granule udvostručuju osećaj masti u ustima. Takvi proizvodi mogu da se koriste u suvom stanju sa ostalim sastojcima formulacije sa kojima se mešaju ili mogu da se koriste u vidu prethodno formiranog gela.

Skrobovi se dugo koriste u prehrambenoj industriji. Neki proizvodi iz ove kategorije su razvijeni kako bi imali namenu različitu od uloge zamenjivača masti, mada su kasnije korišćeni i za ovakve svrhe, dok su neke vrste skrobova razvijene upravo sa namerom da se koriste kao zamenjivači masti. Alexander (1995) je pobrojao i osnovne razloge za korišćenje skrobova kao zamenjivača masti: 1) Oni formiraju gelove koji su neophodni za postizanje teksture i osećaja u ustima koje stvaraju originalni proizvodi koji sadrže mast. 2) Njihove molekulske mase su slične masama masti koje oni treba da zamene. 3) Mogu da snize kalorije do čak 90% kada se dodaju kao 25% gel i 4) Neke njihove modifikacije mogu da obezbede posebne atribute za neke vrste namirnica. Modifikovani skrobovi koji bubre u hladnoj vodi i preželatinizovani skrobovi, koji počinju da se zgušnjavaju čim dođu u kontakt sa vodom, povećavaju viskozitet zamesa brašneno-konditorskih proizvoda i deluju kao agensi koji zadržavaju vlažnost. Brojne naučne publikacije ukazuju na primenu ovih zamenjivača u prehrabbenim proizvodima, kao što je, na primer, dodavanje emulzije preželatiniziranog natrijum-oktenilsukcinat skroba (OSA skrob) u formulaciju za keks (Dapčević Hadnađev i sar., 2015).

Zamenjivači masti na bazi vlakana mogu da budu poreklom iz soje, ovsa, pšenice i pirinča, kao i sastojci poreklom iz voća. Oni su uglavnom u vodi nerastvorni polisaharidi, nesvarljivi u ljudskom organizmu, pa se smatraju nerastvorljivim prehrabbenim vlaknima. Njihova sposobnost da apsorbuju veliku količinu vode i unaprede izgled i teksturu hrane svrstava ih u kategoriju sastojaka koji podražavaju neke od funkcija masti, a mogu da posluže i za delimičnu zamenu brašna, snižavajući kalorije finalnog proizvoda. Ukoliko se vlakna proizvedu na način da sadrže čestice malih dimenzija, ona će apsorbovati vodu i bubriti obezbeđujući meki osećaj masti u ustima (Oreopoulou, 2006). U dostupnoj literaturi postoji veliki broj radova koji obrađuju zamenjivače masti na bazi različitih vlakana, kao, na primer, vlakna iz kokosa (Martínez-Cervera i sar., 2012), vlakna iz breskve (Grigelmo-Miguel i sar., 2001), vlakna iz mekinja kukuruza (Jung i sar., 2005),

kao i komercijalno dostupne zamenjivače masti na bazi vlakana – *Oatrim* (Swanson i sar., 1999; Lee i sar., 2005) i *Trimchoice-OC* (Sanchez i sar., 1995).

Izuzetno značajna osobina vlakana koja se primarno koriste kao zamenjivači masti jeste da doprinose nutritivnom, odnosno funkcionalnom profilu proizvoda, jer povećavaju sadržaj vlakana i iziskuju izjave sa naznakom „izvor vlakana“ ili „bogata vlknima“, u zavisnosti od nivoa ukupnih prehrambenih vlakana u obogaćenom proizvodu, što je definisano Pravilnikom o prehrambenim i zdravstvenim izjavama koje se navode na deklaraciji hrane (Službeni glasnik RS, br. 51/2018).

2.3.1.2. Zamenjivači masti na bazi proteina

Nasuprot zamenjivačima masti na bazi ugljenih hidrata, zamenjivači masti na bazi proteina su specifično osmišljeni da zamenjuju masti. Postupak za dobijanje mikropartikularnih proteina sastoji se od primene dva istovremena procesa, pasterizacije (termička obrada) i homogenizacije (pod velikim smicanjem), kako bi se dobole sferne proteinske čestice manje od dva mikrona u prečniku (Singer i Mozer, 1993). Zbog veličine i oblika čestica, jezik ne uspeva da detektuje pojedinačne čestice i umesto toga proizvode u ustima doživljava kao glatke, kremaste i tečne, odnosno detektuje one osobine za koje su zadužene masti.

Kao i zamenjivači masti na bazi ugljenih hidrata, zamenjivači masti na bazi proteina nisu pogodni za upotrebu u proizvodima koji zahtevaju termičku obradu, jer蛋白ki koagulišu i gube funkcionalnost (mada je termostabilnost nekih novijih formulacija unapređena). Ovi zamenjivači masti doprinose hrani sa 4 kcal/g.

2.3.1.3. Zamenjivači masti na bazi masnoća

Zamenjivači masti na bazi masnoća su lipidi enzimski modifikovani ili hemijski sintetisani na način da se ne metabolišu u potpunosti u ljudskom organizmu, što rezultira kalorijskom vrednošću manjom od 9 kcal/g. Po ostalim fizičkim osobinama slični su mastima. Postojani su na visokim temperaturama, uključujući i prženje, i mogu da zamene masti potpuno ili delimično. Oni supstituišu masti u hrani po principu gram-za-gram (Owusu-Apenten, 2005).

Ova grupa zamenjivača masti može da se podeli na emulgatore i analoge mastima. Mono- i digliceridi, koji se uobičajeno koriste kao emulgatori, pomažu disperziju masti u vodenom medijumu, te tako omogućavaju da se manje masti nađe u proizvodu. Najčešće korišćeni emulgatori za proizvodnju niskomasnih proizvoda su monoglyceridi ili polisorbati. Mešanjem emulgatora dolazi do združivanja njihovih funkcionalnih osobina. Analozi masti podrazumevaju dve grupe proizvoda – masti sa niskim nivoom kalorija i supstituente masti. Masti sa niskim nivoom kalorija su triglyceridi sa masnokiselinskim sastavom različitim od onog karakterističnog za masti, pa doprinose manjim nivoom kalorija. Jedan od najpoznatijih predstavnika ove skupine je kaprenin, dobijem esterifikacijom glicerola sa tri masne kiseline (kaprilna C8:0, kaprinska C10:0 i begenska C20:0). Delimično se absorbuje u crevima i doprinosi sa 5 kcal/g (Owusu-Apenten, 2005). Salatrim je sličan proizvod koji se dobija esterifikacijom monostearina sa masnim kiselinama sa kratkim lancima (sirćetna C2:0, propionska C3:0 i buterna C4:0). Rezultujući proizvod obezbeđuje samo 4 kcal/g sa različitim plastičnim osobinama koje zavise od odnosa masnih kiselina kratkih lanaca koje su upotrebljene za esterifikaciju. Stoga ima sposobnost da zameni sve namene šortening masti, kao i masti za punjenje.

Supstituenti masti su estri masnih kiselina, ali bez glicerola, sa npr. saharozom, pa ih enzimi humanog digestivnog trakta ne mogu da svare. Stoga ovakvi zamenjivači masti ne doprinose u kalorijskom smislu. Pored toga postoje i supstance sa termičkim i organoleptičkim osobinama sličnim onima koje karakterišu masti, previše velike da bi bile apsorbovane, ali dostupne za hidrolizu od strane želudačnih i pankreasnih lipaza, a bez kalorijske vrednosti. Najpoznatija je olestra, koja predstavlja poliestar saharoze sa C6, C7 i C8 masnim kiselinama. Varirajući nivo esterifikacije, kao i broj masnih kiselina koje se koriste, moguće je dobiti širok spektar proizvoda sa funkcionalnim osobinama, izgledom, osećajem koji stvaraju u ustima, stabilnošću, rokom trajanja, kao i organoleptičkim osobinama koje nalikuju osobinama konvencionalnih mastima.

Svi zamenjivači masti na bazi masnoća podražavaju senzorske osobine masti u većoj meri nego mimetici masti, a neki od njih mogu da se koriste i u proizvodima koji se prže.

2.3.2. OZNAČAVANJE PROIZVODA SA NISKIM SADRŽAJEM MASTI

Oznake na hrani koje sadrže informaciju o redukciji masti i kalorija služe za komunikaciju sa potrošačima, odnosno one su vid obraćanja potrošačima. Stoga su izjave o redukciji masti i kalorija od izuzetnog značaja za prehrambenu industriju. Zakonska regulativa Republike Srbije u oblasti označavanja hrane predviđa nutritivne izjave za redukciju masti, kao i za redukciju energetske vrednosti (Službeni glasnik RS, br. 51/2018).

Izjave na proizvodima koje se odnose na sadržaj masti su:

- *Bez masti* – kada je sadržaj masti manji od 0,5 g/100 g ili 100 ml;
- *Mala količina masti* – kada je sadržaj masti manji od 3 g/100 g ili manji od 1,5 g/100 ml;
- *Smanjen sadržaj (naziv hranljivog sastojka, npr. masti)* – kada je sadržaj hranljivog sastojka smanjen najmanje 30% u odnosu na istu ili sličnu namirnicu;
- *Light (ili lite)* – kada sadržaj hranljivog sastojka odgovara zahtevima za izjavu o hranljivoj vrednosti "smanjen sadržaj (naziv hranljivog sastojka)" pri čemu ova izjava mora da bude dopunjena navođenjem podataka koji namirnici daju ovo svojstvo;
- *Mala količina zasićenih masti* – kada je zbir zasićenih masnih kiselina i trans-masnih kiselina manji od 1,5 g/100 g ili 0,75 g/100 ml, pri čemu u oba slučaja zbir zasićenih masnih kiselina i trans-masnih kiselina ne sme da obezbeđuje više od 10% energetske vrednosti;
- *Bez zasićenih masti* – kada je zbir zasićenih masnih kiselina i trans-masnih kiselina manji od 0,1 g/100 g ili 100 ml. U slučaju namirnica koje prirodno ne sadrže zasićene masne kiseline za ovu izjavu o hranljivoj vrednosti može se koristiti prefiks "prirodno".

Izjave na proizvodima koje se odnose na energetsku vrednost su:

- *Mala energetska vrednost* – kada je energetska vrednost manja od 170 kJ (40 kcal)/100 g ili manja od 80 kJ (20 kcal)/100 ml;
- *Smanjena energetska vrednost* – kada je energetska vrednost smanjena najmanje 30% u odnosu na energetsku vrednost iste ili slične namirnice;
- *Bez energetske vrednosti* – kada je energetska vrednost manja od 17 kJ (4 kcal)/100 ml. U slučaju namirnica koje su prirodno bez energetske vrednosti za izjavu o hranljivoj vrednosti može se koristiti prefiks "prirodno".

2.3.3. ULOGA MASTI U BRAŠNENO-KONDITORSKIM PROIZVODIMA

Masti i ulja imaju višestruku ulogu u brašneno-konditorskim proizvodima. Ova uloga uključuje sledeće:

- **Aeracija.** Masnoća pomaže inkorporaciji vazduha tokom mešanja testa, a najčešće se javlja tokom mućenja koje predstavlja prvu fazu u višestepenom programu mešanja. Mehuri vazduha zarobljeni u testu sakupljaju vodu koja isparava i gas koji nastaje delovanjem kvasca u proizvodima koji ga sadrže i šire se tokom pečenja, doprinoseći volumenu finalnog proizvoda.
- **Podmazivanje.** Oblaganjem čestica šećera i brašna, ulje smanjuje vreme mešanja, energiju potrebnu za mešanje i omekšava testo. Ulja, takođe, pomažu u smanjenju razvoja glutenske mreže tako da se dobija mekši krajnji proizvod. Masnoća ima ulogu lubrikanta i sprečava lepljenje testa i finalnih proizvoda za opremu i posude za pečenje tokom pečenja. Podmazivanje je, takođe, važno pri sečenju proizvoda nakon pečenja.
- **Tekstura.** Tekstura je svojstvo koje je skoro jednako važno za prihvatljivost proizvoda koliko i ukus. Mast značajno određuje teksturu proizvoda, obezbeđujući im mekoću i snižavajući im lomljivost.
- **Ukus-miris.** Masti i ulja značajno doprinose karakteristikama proizvoda poput punoće ili puterastog ukusa, a, takođe, deluju i na percepciju drugih ukusa, kao, na primer, ukusa čokolade i slasti.
- **Osećaj u ustima.** Masti, pored toga što utiču na teksturu i ukus, doprinose i ukupnom osećaju u ustima, noseći osećaj kremastog, vlažnog i skliskog.
- **Izgled.** Mast doprinosi stvaranju glatke i sjajne površine brašneno-konditorskih proizvoda, kao i uniformnosti unutrašnje strukture proizvoda, onemogućavajući stvaranje neujednačene rupičaste strukture.

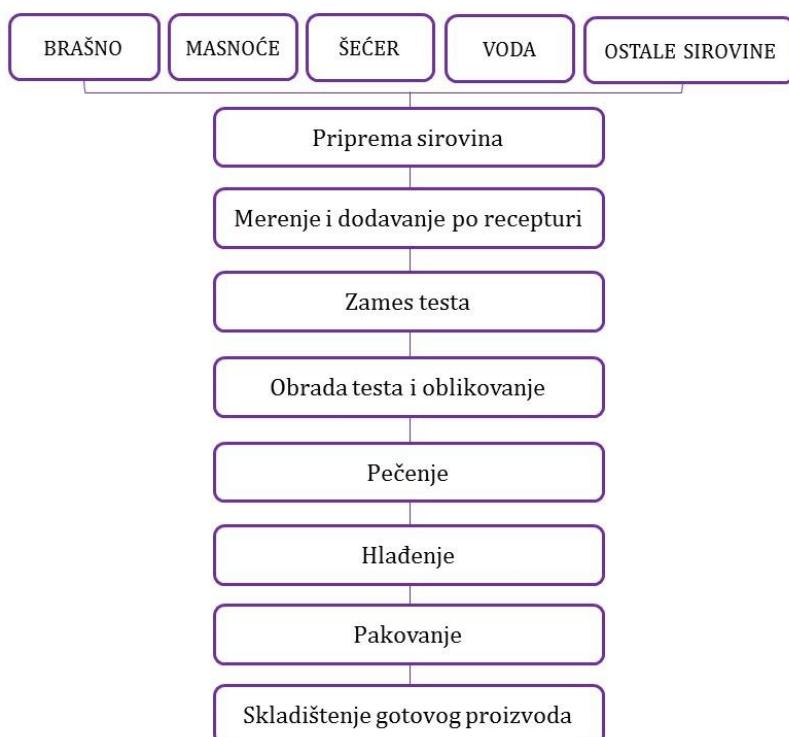
Ne poričući funkcionalne i senzorske koristi od drugih sastojaka u brašneno-konditorskim proizvodima, može se reći da mnoge od osobina ovih proizvoda proističu iz svojstava masne faze. Moguće je postići širok opseg kvaliteta proizvoda pri konzumiranju odabirom različitih masti. Stoga se željeni kvalitet proizvoda pri konzumiranju (bilo da se želi tvrd ili mekan, krt ili gumast proizvod) mora jasno definisati pre formulacije proizvoda i odabira sastojaka.

2.3.4. KEKS I ULOGA MASTI U KEKSU

Brašneno-konditorski proizvodi zauzimaju značajno mesto u ukupnoj proizvodnji i potrošnji konditorskih proizvoda u našoj zemlji. Kategoriju brašneno-konditorskih proizvoda reprezentuju keks i proizvodi srodnici keksu. Keks i proizvodi srodnici keksu predstavljaju namirnice koje konzumiraju sve kategorije potrošača, pre i posle jela, između i za vreme obroka, te oni imaju značajnu ulogu u ishrani ljudi.

Kvalitet keksa i proizvoda srodnih keksa propisuje Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za fine pekarske proizvode, žita za doručak i snek proizvode (Službeni list SCG, 12/2005 i Službeni glasnik RS, 43/2013 i 68/2016). U grupi proizvoda srodnih keksa najbolji kandidat za razmatranje mogućnosti inkorporiranja zamenjivača masti u formulaciju proizvoda je čajno pecivo zbog a) upečatljivog sadržaja masti i b) gorepomenute učestalosti konzumiranja. Prema definiciji „Čajno pecivo je proizvod od testa izrađenog od brašna žita i drugih mlinskih proizvoda, masnoća, šećera i drugih namirnica. Čajno pecivo sadrži najmanje 10% masti računato na gotov proizvod i može biti slatkog ili slanog ukusa“.

Tehnološki postupak proizvodnje čajnog peciva prikazan je na slici 4.



Slika 4. Tehnološki postupak proizvodnje čajnog peciva

Na tržištu je dostupna široka paleta čajnih peciva, a primenjene sirovine zavise od sirovinskog sastava za čajno pecivo (Manley, 2001). Sirovine za proizvodnju čajnog peciva se dele na osnovne i ostale sirovine. U osnovne spadaju brašno, mast, šećer i voda, a u ostale spadaju sredstva za narastanje testa (koja menjaju pH sredine testa i imaju ulogu u formiranju strukture keksa nakon pečenja), kao i aditivi, arome i so, koji imaju ulogu u korekciji ukusa, formiranju boje itd. (Gavrilović, 2003).

S obzrom da je za formiranje strukture čajnih peciva nepoželjan razvoj proteinske, odnosno obrazovanje glutenske mreže, testo za ovu vrstu keksa karakteriše nedovoljna rastegljivost i elastičnost. Testo je meko i sadrži velike količine masti i šećera koje mu obezbeđuju plastičnost, odnosno manju elastičnost. Visoka elastičnost nije poželjna u izradi testa za čajno pecivo zato što dolazi do njegovog skraćivanja nakon laminiranja (Menjivar i Faridi, 1994). Testo za čajno pecivo treba da se širi umesto da raste u visinu i da se skraćuje, što je slučaj sa testom za krekere i tvrdi keks.

Keks i srodnji brašneno-konditorski proizvodi se tradicionalno proizvode korišćenjem hidrogenizovanih (margarin) ili zasićenih (shortening) masti (Baltsavias i sar., 1999). Važne kvalitativne osobine keksa su ukus, tekstura i izgled, a značajan sastojak koji doprinosi navedenim svojstvima je upravo masnoća (Gavrilović, 2003). Hidrogenizovana biljna mast je jedna od osnovnih komponenti u formulaciji keksa i prisutna je u relativno visokom udelu od 30% do 50% na masu brašna (Sudha i sar., 2007). Masnoća je značajna ne samo zbog doprinosa željenom kvalitetu keksa, nego i zbog uticaja na proizvodni proces. Mast ima veliki uticaj na reološka svojstva testa (Jacob i Leelavathi, 2007), jer mu daje adekvatnu plastičnost pogodnu za mašinsku ili ručnu obradu (Maache-Rezzoug i sar., 1998). Mast se ponaša kao sredstvo za podmazivanje. Ona potpomaže mešanje podmazivanjem ostalih sastojaka i odvajanje keksa od površine za pečenje bez lepljenja, a takođe, sprečava i lepljenje testa za opremu.

U većini vrsta keksa koje sadrže mast, plastična (čvrsta ili polučvrsta) shortening mast se prvo meša sa šećerom u fazi mučenja. Ovo pomaže apsorpciji vazduha i doprinosi strukturi finalnog proizvoda. Takođe, utiče i na gustinu testa. Tokom mučenja shortening masti oblažu čestice šećera. Kritična tačka ove procedure je mogućnost i sposobnost oblaganja šećera bez stvaranja grudvi. Ako se šećer ne obloži, moguće je da će se otopljeni šećer rekristalisati u komadiće.

Tokom mešenja testa za keks mast deluje kao mazivo, i nadmeće se sa vodenom fazom za površinu brašna (obavlja čestice brašna) kako bi se sprečilo formiranje glutenskog kompleksa u testu (Wade, 1988). Masti omekšavaju testa i smanjuju viskozitet, te doprinose plastičnosti testa. Kada je mast prisutna u velikim količinama, efekat podmazivanja je toliko izražen da je potrebno veoma malo vode kako bi se postigla meka konzistencija.

Bubrenje skroba i njegovo želiranje su smanjeni pri velikim količinama masti, što proizvodu daje hrskavu teksturu. Mast utiče na ponašanje testa tokom obrade, na širenje testa posle sečenja, kao i teksturni i gastronomski kvalitet keksa nakon pečenja.

2.3.5. ZAMENA MASTI U BRAŠNENO-KONDITORSKIM PROIZVODIMA

Sadržaj masti veoma varira u zavisnosti od vrste proizvoda. Neke proizvode odlikuje nizak sadržaj masti (hleb), dok su neki veoma bogati mastima (keks). Sadržaj masti testa nekih izabranih pekarskih i brašneno-konditorskih proizvoda prikazan je u tabeli 7. Shodno podacima o sadržaju masti u navedenim proizvodima, za očekivati je da proizvodi koje odlikuju visoki nivoi masti budu kandidati za primenu zamenjivača masti, ali su od značaja i navike u konzumiranju.

Tabela 7. Sadržaj masti testa tipičnih pekarskih i brašneno-konditorskih proizvoda (Oreopoulou, 2006)

Proizvod	Sadržaj masti u testu, %
Hleb	1-3,5
Kuglof	7-17
Torta	10-12
Keks bez kvasca	16-32
Keks, krekeri i biskviti sa kvascem	9-13
Krofne	5-7
Dansko pecivo	27-39
Keks sa punjenjem	33-38
Kora pite sa voćem	24-38

Proizvodi dostupni na tržištu sa niskim sadržajem masti ili oni bez masti sadrže razne zamenjivače masti, poput modifikovanog skroba (krompirov, pšenični, kukuruzni, tapiokin), maltodekstrina, vlakana (celuloza, ovsena, pšenična, pirinčana, ražana, kukuruzna, graškova ili jabučna vlakna), gume (rogačeva, guar, ksantan, želatin), emulgatora (monogliceridi, diglyceridi, estri saharoze, natrijum stearoil laktilat, propilenglikol monostearat, lecitin) i zamenjivača na bazi proteina (belance, niskomasno mleko, surutka).

Idealni zamenjivač masti ne postoji i proizvođači pribegavaju osmišljavanju mešavina više sastojaka. Najvažniji konstituenti takvih smeša namenjenih pekarskim i brašneno-konditorskim proizvodima su zamenjivači masti na bazi ugljenih hidrata (Frye i Setser, 1993; Vetter, 1993) ili smeše sa zamenjivačima na bazi ugljenih hidrata i proteina mešanih u odnosu 50:50 (Shukla, 1995). Oni deluju kao sredstva za zgušnjavanje i retenciju vlage proizvoda, povećavajući, takođe, viskozitet testa, što pomaže u zadržavanju mehurića vazduha, a ponekad njihovo korišćenje olakšava manipulisanje testom kao proizvodom. Emulgatori se koriste u velikim količinama, jer u takvim proizvodima obezbeđuju da testa imaju ključne osobine koje im donose masti – oni povećavaju aeraciju, lubrikaciju, apsorbciju vode i zadržavanje vlage proizvoda (Frye i Setser, 1993). Višak vode se postiže primenom smeše guma, uključujući rogačevu gumu, ksantan, karboksimetil celulozu ili druge. Gume doprinose ne samo vlažnosti nego i viskozitetu i ukupnoj strukturi proizvoda. Smeša mora da obezbedi najvažnija svojstva masti, odnosno mora da posluži odigravanju najvažnije uloge masti, da obezbedi aeraciju, lubrikaciju, strukturu i teksturu proizvoda (Clark, 1994). Shukla (1995) navodi da se najbolje obezbeđenje lubrikacije i strukture postiže primenom nezavisnih sastojaka, odnosno zamenjivača masti.

Jedna od važnih stavki prilikom izbora zamenjivača masti jeste i njegova funkcionalnost, koju on, sa nutritivne tačke gledišta, pruža proizvodu. Stoga su zamenjivači masti na bazi vlakana u prednosti u odnosu na ostale zamenjivače, pa se u velikoj meri koriste u proizvodnji brašneno-konditorskih proizvoda.

2.3.6. ZAMENA MASTI U FORMULACIJAMA ZA KEKS I SRODNIM PROIZVODIMA

Dizajn nove formulacije proizvoda sa smanjenim sadržajem masti poseban je izazov kod proizvoda koji sadrže veliku količinu masti i kod kojih mast ispoljava ne samo senzorsku već i tehnološku funkcionalnost, kao, na primer, kod keksa. Poznato je da je unos velike količine masti povezan sa brojnim zdravstvenim problemima kao što su gojaznost, rak, visok nivo holesterola ili kardiovaskularna oboljenja (Akoh, 1998). Činjenica da masti čine i do 30% od ukupne mase testa keksa, kao i saznanje da je konzumiranje ovakvih proizvoda vrlo uobičajeno kod mlađe populacije i dece, opravdavaju pronalaženje različitih alternativa tradicionalnoj formulaciji keksa kao potencijalnoj preventivnoj strategiji u razvoju gojaznosti i ostalih zdravstvenih poremećaja.

U svetu gorepomenutog, bez obzira na važnost uloge masti u keksu, postoje brojni pokušaji da se smanji nivo masti u formulaciji za keks i srodnim proizvodima (tabela 8).

Tabela 8. Pregled upotrebe različitih zamenjivača masti u formulacijama za keks i srodnim proizvodima

Proizvod	Vrsta zamenjivača	Količina zamenjene masti	Literaturni podaci
Keks sa komadićima čokolade	<i>Litesse, Stellar, Slendid</i> , mono i digliceridi (MDG), <i>Simplesse Dry 100</i> i <i>Paselli SA-2</i>	50%, 75%	Armbrister i Setser, 1994
Keks	<i>Oatrim</i>	50%, 75%, 100%	Inglett i sar., 1994
Čajno pecivo	Pet ugljenohidratnih zamenjivača masti (<i>Rice*Trin 10 DE, Trimchoice-OC, Stellar, N-Flate, Litesse</i>)	35%, 45%, 55%	Sanchez i sar., 1995
Keks	Pasta od suvih šljiva i <i>Oatrim</i>	50% i 100%	Charlton i Sawyer-Morse, 1996
Keks	<i>Slendid, Kel-Lite BK</i> i <i>Trim-Choice-5</i>	33%, 66%, 100%	Conforti i sar., 1996
Čokoladni kolači	<i>Z-trim</i> i ovsena vlakna	25%, 50%, 75%, 100%	Warner i Inglett, 1997
Kolači	<i>Oatrim</i>	75%, 100%	Swanson i sar., 1999

Proizvod	Vrsta zamenjivača	Količina zamenjene masti	Literaturni podaci
Kolači	Maltodekstrin gel	25%, 50%, 75%, 100%	Conforti i Archilla, 2001
Mafini	Vlakna iz breskve	13–68%	Grigelmo-Miguel i sar., 2001
Keks	Okra guma	100%	Romanchik-Cerpovicz i sar., 2002
Keks	<i>Litesse, C*deLight MD 01970 (DE = 3), Raftiline, Simplesse Dry 100</i>	35%, 50%	Zoulias i sar., 2002a
Keks	<i>Litesse, C*deLight MD 01970 (DE = 3), Dairytrim, Raftiline, Simplesse Dry 100</i>	11,5%, 23%, 50%	Zoulias i sar., 2002b
Keks	Vlakna iz pirinčanih mekinja i ječmenog brašna (<i>Rictrim</i>)	40%, 60%, 80%	Inglett i sar., 2004
Mafini	Vlakna iz kukuruznih mekinja	10%, 30%, 50%, 70%	Jung i sar., 2005
Keks	<i>C-trim20</i>	20%, 40%, 60%	Lee i sar., 2005
Keks	Ovsene mekinje - <i>Nutrim oat bran</i> (OB)	10%, 20%, 30%	Lee i sar., 2006
Čajno pecivo	Maltodekstrin (DE < 20) i polidekstroza	50%, 60%, 70%	Sudha i sar., 2007
Kolač	Koncentrat β-glukana iz ječma i ovsu (BGC)	20%, 30%, 40%	Kalinga i Mishra, 2009
Mafini	Inulin	50%, 75%, 100%	Zahn i sar., 2010
Keks	Trop jabuke	10%, 20%, 30%	Min i sar., 2010
Čokoladni mafini	Vlakna iz kokosa	25%, 50%, 75%	Martínez - Cervera i sar., 2011
Keks	Maltodekstrin i guar guma	30–70%	Chugh i sar., 2013
Čajno pecivo	Emulzija na bazi inulina i maslinovog ulja	50%, 100%	Giarnetti i sar., 2015

Proizvod	Vrsta zamenjivača	Količina zamenjene masti	Literaturni podaci
Mafini	Emulzija celuloze (K4M i K250M)	100%	Martínez - Cervera i sar., 2015
Keks	Emulzija preželatiniziranog natrijum-oktenilsukcinat skroba (OSA skrob)	100%	Dapčević Hadnađev i sar., 2015
Keks	Polidekstroza i Simplesse	67%, 64%	Aggarwal i sar., 2016
Keks	Fruktani iz agave	10%, 20%, 30%	Santiago-García i sar., 2017
Mafini	Struktuirana hidroksipropilmetyl celuloza (HPMC) u obliku gela od ulja	25%, 50%, 75%, 100%	Oh i Lee, 2018

Prilikom smanjenja masti u formulacijama za keks, kao međuproizvod se dobijaju testa koja se razlikuju od punomasnih u pogledu reoloških karakteristika, a gotov proizvod (keks) karakterišu promene u fizičkim i senzorskim karakteristikama. Ove promene mogu biti minimizovane tako što se u formulaciju uključe zamenjivači masti, iako u većini slučajeva, prihvatljivost proizvoda sa zamenjivačima masti nije kao prihvatljivost redovnog (punomasnog) proizvoda.

Naučna istraživanja fokusirana na proširenje assortimana keksa i srodnih proizvoda sa smanjenom količinom masti veoma su aktuelna (tabela 8).

Sudha i saradnici (2007) su ispitali reološke osobine testa za čajno pecivo kod koga je startni saržaj masti sa 20% smanjen na 10%, 8% i 6%. Rezultati su pokazali da testo za keks postaje tvrđe sa smanjenjem količine masti, uz povećavanje elastičnih osobina. Ovi autori su, takodje, utvrdili da dodavanje maltodekstrina ili polidekstroza, kao zamenjivača masti, smanjuje posledice snižavanja sadržaja masti kada je u pitanju obrada čajnog peciva, a sa dodatkom emulgatora ili guar guma kvalitet gotovog proizvoda približio se originalnom, ali nikad u potpunosti.

Sanchez i saradnici (1995) optimizovali su formulaciju za čajno pecivo sa smanjenim sadržajem masti uz korišćenje različitih ugljenohidratnih zamenjivača masti: maltodekstrina iz pirinča (Rice*Trin 10 DE), hidrolizovanog ovsenog i ječmenog brašna bogatog β -glukanima (Trimchoice-OC), kukuruznog skroba (Stellar), mešavine emulgatora, modifikovanog skroba, guar gume i bezmasnog mleka u prahu (N-Flate) i polidekstroze (Litesse). Ovo istraživanje je pokazalo da je smanjenje sadržaja masti u formulaciji za čajno pecivo uticalo na povećanje sadržaja vlage i žilavosti keksa, kao i smanjenje specifične zapremine. Takođe, dodatak emulgatora, uz zamenjivače masti, doprineo je proizvodnji keksa sa boljim fizičkim osobinama u odnosu na keks bez emulgatora.

Uticaj vrste zamenjivača masti kao i količine (udela) zamenjene masti u formulaciji za keks odražava se i na teksturne osobine keksa, o čemu svedoče rezultati dobijeni primenom kompresionog testa (Zoulias i sar., 2002b). Autori su u ispitivanjima koristili pet vrsta zamenjivača masti na bazi ugljenih hidrata i proteina: polidekstrozu (*Litesse*), maltrodekstrin sa niskim ekvivalentom dekstroze (*C*deLight*), proizvod dobijen iz mekinja bogat β -glukanima (*Dairytrim*), oligofruktozu (inulin) (*Raftiline*) i smešu proteina surutke i emulgatora (*Simplesse Dry 100*). Vrednosti dobijene za tvrdoću i krtost korišćene su za procenu njegovih teksturnih osobina sa svim vrstama ispitivanih zamenjivača masti, pri čemu je ustanovljeno da su oba ispitivana teksturna parametra zavisila od udela zamenjene masti i tipa i vrste upotrebljenog zamenjivača. Povećanje količine zamenjivača masti polidekstroze ili *Dairytrim*-a rezultiralo je tvrdim keksom, dok je povećanje količine *C*deLight*-a, *Raftiline*-a i *Simpesse*-a imalo suprotan efekat.

Analiziran je i uticaj primene drugih zamenjivača masti na osobine različitih vrsta keksa, pri čemu su svi ispitivani zamenjivači masti slično uticali na finalni proizvod, uključujući ovsena vlakna (Inglett i sar., 1994; Charlton i Sawyer-Morse, 1996; Conforti i sar., 1996; Warner i Inglett, 1997; Swanson i sar., 1999; Lee i Inglett, 2006), pastu od suvih šljiva (Charlton i Sawyer-Morse, 1996), proizvode na bazi hidrokoloidea (Conforti i sar., 1996) ili okra gumu (Charlton i Sawyer-Morse, 1996). Svi navedeni zamenjivači masti bili su u stanju da donekle prikriju efekat uklanjanja masti, ali nisu mogli da obezbede dobijanje proizvoda sa fizičko-hemijskim osobinama koje bi se podudarale sa osobinama redovnog proizvoda. Sa druge strane, strategije za proizvodnju keksa sa smanjenim sadržajem masti ne treba da se fokusiraju na korišćenje samo jednog zamenjivača masti, s obzirom da je

veća verovatnoća da će mešavina biti uspešnija u postizanju krajnjeg rezultata (Zoulias, 2000a).

Poslednjih godina porastao je interes za valorizacijom sporednih proizvoda bogatih vlaknima kao potencijalnih sirovina za proizvodnju zamenjivača masti (Martínez-Cervera i sar., 2011). Mekinje, kao sporedni proizvodi dobijeni u procesu mlevenja žitarica, mogu se koristiti u navedenu svrhu.

Warner i Inglett (1997) su ispitivali uticaj delimične zamene masti primenom zamenjivača masti na bazi kukuruznih i ovsenih vlakana (*Z-Trim*) na senzorske i teksturne karakteristike keksa. Dobijeni rezultati ukazali su na značajno povećanje vlage, gustine i kohezivnosti keksa sa dodatim zamenjivačem masti u odnosu na kontrolni keks.

Jung i koautori (2005) su ispitali zamenu masti vlaknima iz kukuruznih mekinja u rasponu od 10% do 70% u formulaciji za mafine. Kontrolni mafini su bili najvećeg volumena i visine, a ovi parametri su se smanjivali sa povećanjem količine dodatih vlakana iz kukuruznih mekinja, odnosno sa porastom udela zamenjivača masti. Vrednosti teksturnih parametara (tvrdota, elastičnost, kohezivnost i lomljivost) su se povećavale sa povećanim nivoom supstitucije masti primenjenim zamenjivačem masti.

Inglett i saradnici (2004) su koristili gel dobijen iz pirinčanih mekinja i ječmenog brašna (*Ricetrim*) kao zamenjivač masti. Ovi autori su ispitali reološke osobine dobijenog gela u poređenju sa masnoćom, kao i uticaj dodatka zamenjivača masti na senzorske karakteristike keksa. Ustanovljeno je postojanje razlika u svim ispitivanim parametrima senzorske ocene između kontrolnog keksa i keksa sa različitim nivoima zamene masti *Ricetrim*-om.

Zamena šorteringa koncentratom β -glukana (BCG), pripremljenog od ječma i ovsa, pri nivoima zamene masti od 20%, 30% i 40%, uticala je na reološke i fizičke osobine testa za kolače (Kalinge i Mishre, 2009). Konzistencija, indeks proticanja, kao i elastični i viskozni moduli su se povećavali sa povećanjem sadržaja BCG-a u formulaciji za keks. Dodatak ovog zamenjivača masti je uticao i na povećanje tvrdoće i smanjenje volumena keksa.

Lee i Inglett (2006) su ispitali uticaj zamene šorteninga (10%, 20% i 30%) ovsenim mekinjama (*Nutrim oat bran*, NU) na reološko ponašanje testa, kao i fizičke osobine keksa. Za sva testa modul skladištenja (G') i modul rasipanja (G'') su se povećavali sa povećanjem primjenjene frekvencije. Sva testa su imala veće vrednosti modula skladištenja (G') u odnosu na modul rasipanja (G''), što ukazuje da su u većoj meri bila elastična, a ne viskozna. Porast nivoa zamene masti primenom NU od 10% do 30% je izazvao smanjenje modula skladištenja (G') i modula rasipanja (G''). Ovo smanjenje dinamičnih viskoelastičnih osobina testa za keks koji sadrži NU se može pripisati njegovom povećanom sadržaju vlage. Međutim, tokom pečenja, nakon geliranja skroba na 80–90 °C, modul skladištenja (G') se povećavao sa temperaturom. Na 120 °C, na kojoj je kontrolni uzorak imao najmanji modul skladištenja (G'), povećanje nivoa zamene šortening masti ovsenim mekinjama od 10% do 30% dovelo je do porasta vrednosti modula skladištenja (G'). Ovo ukazuje da je testo koje je sadržalo ovsene mekinje bilo elastičnije od kontrolnog testa, te da je proizvedeni keks bio manjeg prečnika u odnosu na kontrolni.

U svim pomenutim studijama korišćeni su komercijalno dostupni zamenjivači masti na bazi vlakana. Pregledom literature ustanovljeno je da nema podataka o mogućnosti pripreme gelova od sirovih pšeničnih i ovsenih mekinja kao zamenjivača masti, te je cilj ovog rada bio da se ispita mogućnost pripreme i primene gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja za zamenu dela masne faze u proizvodima koji sadrže značajnu količinu masti, tj. u čajnom pecivu.

2.3.7. STAV POTROŠAČA PREMA NAMIRNICAMA SA NISKIM SADRŽAJEM MASTI

Promena stava potrošača o hrani zavisi od stepena informisanosti o rizicima i dobrobitima vezanim za ishranu i zdravlje i taj stav se menja tokom godina. Naime, tokom sedamdesetih godina XX veka fokus je bio na hrani bez aditiva i konzervanasa, tokom osamdesetih pažnja je bila usmerena na niskokalorijsku hranu, da bi devedesete obeležilo nastojanje da se primat da hrani sa niskim sadržajem masti i šećera. Trend u današnjoj ishrani svakako je razvoj funkcionalne hrane sa smanjenom kalorijskom vrednošću i istovremeno sa povećanim sadržajem vlakana. Razlog ovakve orijentacije je značajna uloga funkcionalne hrane u poboljšanju životnog standarda, balansiranju i održavanju maksimuma telesnih fizioloških funkcija, očuvanju zdravlja i smanjenju rizika od različitih oboljenja (Milner, 2000; Roberfroid, 2002).

Danas je na tržištu prisutna ekspanzija proizvodnje brašneno-konditorskih proizvoda sa sniženim sadržajem masti, pre svega keksa i krekera (Sloan i Stiedemann, 1995). Pred proizvođačima se nalazi izazov u smislu zadovoljenja potreba potrošača, a da bi taj izazov uspešno ispunili proizvođači moraju da znaju kako se potrošači ponašaju u kupovini i potrošnji proizvoda, kao i šta ih motiviše na kupovinu proizvoda sa smanjenim sadržajem masti. Studija sprovedena u SAD (Calorie Control Council, 2004) navodi da 70% potrošača koji praktikuju ishranu na bazi niskomasnih namirnica objašnjavaju njihov izbor željom da zadrže dobar zdravstveni status, 57% navodi da ih rukovodi redukcija masti u ishrani, 51% želi da smanji unos kalorija, 49% da snizi holesterol, 47% nastoji da zadrži trenutnu telesnu masu, 43% želi da zadrži atraktivan fizički izgled, 38% da snizi telesnu masu, a 31% da pomogne sebi upražnjavajući zdravstveni pristup ishrani. Postoje i potrošači (32%) koji izabiraju ishranu sa redukovanim sadržajem masti rukovodeći se novinom ili novim ukusom (Calorie Control Council, 2004).

Istraživanja prihvatljivosti hrane od strane potrošača ukazuju da su oni skloni da se sa većom verovatnoćom orijentišu na hranu sa niskim sadržajem masti ukoliko poseduju izvesna saznanja o njenom nutritivnom profilu. Potrošači u većoj meri vole hranu ukoliko znaju da ona ne sadrži puno masti (Guinard i sar., 1996). Stoga informacija o redukovanim sadržaju masti u nekom proizvodu upućena potrošačima povećava njihovu opredeljenost na takav proizvod (Campbell i Bell, 2001). Ipak, ne treba prevideti jednu od najvažnijih činjenica nauke o potrošačima koja svedoči o ukusu kao najznačajnijem faktoru u izboru hrane (Sloan i Steidmann, 1995). Stoga je za očekivati da je unapređenje ukusa namirnica sa niskim sadržajem masti preduslov porasta tražnje za istim. To znači da je osnovno nastojanje u osmišljavanju proizvoda sa niskim sadržajem masti pronalaženje sastojka niže kalorijske vrednosti koji u formulaciji proizvoda značajno ne ugrožava njegove senzorske karakteristike ili ih, ukoliko je moguće, unapređuje. Odgovor prehrambene industrije na ovako definisan stav u proizvodnji hrane sa sniženim sadržajem masti je neprekidno proširenje paleta svih vrsta ovih proizvoda, pa tako i brašneno-konditorskih proizvoda. Mnogi zamenjivači masti se koriste u formulacijama navedenih proizvoda, a naučna istraživanja nastoje da se skup sastojaka koji bi se mogli svrstati u kategoriju zamenjivača masti proširi (Grigelmo-Miguel i sar., 2001; Kaack i Pedersen, 2005; Wekwete i Navder, 2005; Kocer i sar., 2007; Shaltout i sar., 2007; Min i sar., 2010; Martínez-Cervera i sar., 2011; Giarnetti i sar., 2015).

Potrošači su, pored saznanja da je konzumiranje "loših" masti (zasićenih masti) u sprezi sa nizom zdravstvenih problema, svesni i činjenice da generalno postoji veza ishrana-bolešte, te žele da njihova hrana bude obogaćena zdravstveno dobrobitnim sastojcima. Tražnja za tzv. funkcionalnom hranom narasta među novim, informisanim naraštajima, pa naučnici ulažu napore da stvore osnovu za kreiranje hrane unapređenog nutritivnog profila, kakva bi, na primer, bila hrana sa niskim sadržajem masti i povišenim sadržajem funkcionalnih komponenti (prehrambenih vlakna, antioksidanata, vitamina, minerala i drugih funkcionalnih komponenti). Stoga je aktuelan trend u kreiranju namirnica sa niskim sadržajem masti i onih sa redukovanim sadržajem masti pronalaženje alternativnih zamenjivača masti sa dvojakom ulogom – onih koji mogu da podražavaju funkcionalna i senzorska svojstva masti u finalnom proizvodu i koji, dodatno, predstavljaju izvor funkcionalnih komponenata. Takvi zamenjivači masti su, na primer, oni na bazi prehrambenih vlakana (iz voća, povrća ili žitarica).

3. EKSPERIMENTALNI DEO

Najveći deo eksperimentalnog dela ove disertacije urađen je u Laboratoriji za tehnologiju, kvalitet i bezbednost hrane i Pilot postrojenju za pekarske i fine pekarske proizvode Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu. Sadržaj fenolnih jedinjenja primenom visokopritisne tečne hromatografije (*High Performance Liquid Chromatography, HPLC*) u estraktima pšeničnih i ovsenih mekinja određen je u laboratorijama Odeljenja za organsku hemiju Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu. Priprema ekstrakata pšeničnih i ovsenih mekinja pod dejstvom ultrazvuka urađena je u Istraživačkom centru TEAGASC u Dablinu, Irska.

3.1 MATERIJAL

3.1.1. SIROVINE

Pšenične i ovsene mekinje, sporedni proizvodi dobijeni prilikom mlevenja pšenice i ovса, dobijene su od kompanije "BioUna", Novi Sad, Srbija. Mekinje su samlevene mlinom čekićarom (ABC Inženjering, Pančevo, Srbija) korišćenjem sita prečnika otvora 0,8 mm (slika 5).



Slika 5. Izgled samlevenih mekinja: a) pšeničnih; b) ovsenih

Za proizvodnju čajnog peciva korišćene su sledeće sirovine:

- pšenično brašno (T - 500),
- biljna mast (AP 36/38 HF, Puratos, Beograd),
- šećer (Sunoko, Pećinci),
- gelovi pšeničnih i ovsenih mekinja pripremljeni u okviru ove disertacije,
- glukozni sirup (Jabuka, Pančevo),
- so (Centrohem, Stara Pazova),
- aroma vanile i limuna (Aretol, Novi Sad),
- sredstva za narastanje: Na-bikarbonat i amonijum-bikarbonat (Centrohem, Stara Pazova) i
- cimet (Univerexport, Novi Sad).

3.1.2. HEMIKALIJE I REAGENSI

Test kitovi za određivanje ukupnih, rastvorljivih i nerastvorljivih prehrambenih vlakana, koji sadrže α -amilazu, proteaze i amiloglukozidaze, nabavljeni su iz kompanije Megazyme (Bray, Ireland). Standardni rastvori Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu i Mn koncentracije 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ nabavljeni su iz kompanije AccuStandard (New Haven, SAD).

Najveći broj specifičnih hemikalija i reagenasa korišćenih u eksperimentima nabavljen je od proizvođača Sigma-Aldrich Chemicals (Steinheim, Germany) i to: Folin-Ciocalteau's reagens, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal (DPPH \cdot), 50% bor(III)-fluorid (u metanolu), galna kiselina, *p*-hidroksibenzoeva kiselina, vanilinska kiselina, kafena kiselina, *p*-kumarinska kiselina, sinapinska kiselina i ferulna kiselina. Smeša standarda metil-estara masnih kiselina (Supelco 37 FAME mix) je proizvod kompanije Supelco (Bellefonte, SAD). Metanol HPLC čistoće (*gradient grade*) i mravlja kiselina za HPLC su nabavljeni iz kompanije Merck (Darmstadt, Germany).

Svi ostali reagensi i hemikalije upotrebljeni u eksperimentalnom radu bili su analitičke čistoće, poreklom od različitih proizvođača. Ultračista voda je dobijena u laboratoriji, korišćenjem Elix UV i Simplicity Water Purification Systema (Millipore, Molsheim, France).

3.2. PRIPREMA GELOVA MEKINJA

Usitnjene pšenične i ovsene mekinje dispergovane su u destilovanoj vodi (pH rastvora je podešen u opsegu 9-10) pri brzini od 6000 o/min uz pomoć homogenizera Ultraturrax T-25 (IKA® WerkeGmbH & Co. KG, Staufen, Germany) (slika 6). Gelovi mekinja pripremljeni su hidrotermičkim tretmanom sa mehaničkim stresom, a količina mekinja i uslovi hidrotermičkog tretmana (temperatura i vreme homogenizacije) su varirani na tri nivoa (-1, 0, 1), a njihove kodirane i nekodirane vrednosti su date u tabeli 9. Serija gelova dobijena variranjem eksperimentalnih faktora proizvedena je sa ciljem da se optimizuju procesni parametri kako bi se omogućila proizvodnja gela sa osobinama najsličnijim onima koje poseduje korišćena mast u proizvodnji keksa.



Slika 6. Homogenizer Ultra Turrax T-25

Tabela 9. Kodirane i nekodirane vrednosti nivoa nezavisnih promenljivih

Eksperimentalni faktori	Nivoi eksperimentalnih faktora		
	nizak (-1)	srednji (0)	visok (+1)
Koncentracija mekinja, C (%)	18	20	22
Vreme homogenizacije, t (min)	10	20	30
Temperatura homogenizacije, T (°C)	75	85	95

U tabeli 10 prikazan je dizajn po kome su urađeni eksperimenti. Priprema gelova od mekinja urađena je u dva ponavljanja (dve odvojene serije za svaku kombinaciju eksperimentalnih faktora).

Tabela 10. Kombinacija eksperimentalnih faktora prema Box-Behnken-ovom faktorijalnom planu

Redni broj	Koncentracija mekinja, C (% g/100 g)	Vreme homogenizacije, t (min)	Temperatura homogenizacije, T (°C)
1	18	10	85
2	22	10	85
3	18	30	85
4	22	30	85
5	18	20	75
6	22	20	75
7	18	20	95
8	22	20	95
9	20	10	75
10	20	30	75
11	20	10	95
12	20	30	95
13	20	20	85
14	20	20	85
15	20	20	85

3.3. PRIPREMA SMEŠA GELOVA MEKINJA I BILJNE MASTI (GMM MODEL SISTEMI)

U cilju ispitivanja efekta zamene dela masti gelom od mekinja određene su reološke i teksturne karakteristike smeša gelova mekinja i biljne masti (GMM model sistemi). GMM model sistemi sadrže pšenične i ovsene gelove, pripremljene prema tabeli 10, koji su pomešani sa biljnom masti u odnosu od 1:1 i homogenizovani na 25 °C pomoću dispergatora Ultraturrax T-25 (IKA® WerkeGmbH & Co. KG, Staufen, Germany) pri brzini od 6000 o/min u trajanju od 300 s. GMM model sistemi su pripremani sa tek napravljenim i ohlađenim gelom. Reološka i teksturna ispitivanja vršena su neposredno nakon pripreme GMM model sistema u dva ponavljanja po svakoj šarži (ukupno četiri ponavljanja za svaki parametar).

3.4. PROIZVODNJA KEKSA SA DODATKOM FUNKCIONALNOG ZAMENJIVAČA MASTI

Proizvodnja keksa (kontrolnog keksa – punomasni keks, i keksa kod koga je deo biljne masti zamenjen funkcionalnim zamenjivačima masti napravljenim u okviru ove disertacije, primenom nivoa supstitucije od 30%, 40% i 50%), odnosno zames testa, obrada i pečenje, sprovedeni su u Pilot postrojenju za pekarske i fine pekarske proizvode Naučnog Instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu.

Testo za keks je pripremano na osnovu formulacije prikazane u tabeli 11, a količina dodate vode preračunata je kako bi se dobilo testo vlage 18%.

Tabela 11. Sirovinski sastav testa za kontrolni keks i keks sa dodatkom zamenjivača masti

Sirovine (g)	Kontrolni keks	Keks sa 30% zamenjivača masti	Keks sa 40% zamenjivača masti	Keks sa 50% zamenjivača masti
Brašno	100	100	100	100
Biljna mast	22	16,6	14,8	11
Gel mekinja	0	5,4	7,2	11
Šećer u prahu	25	25	25	25
Glukozni sirup	10	10	10	10
So	0,75	0,75	0,75	0,75
Na-bikarbonat	1	1	1	1
Amonijum-bikarbonat	0,7	0,7	0,7	0,7
Cimet	0,76	0,76	0,76	0,76
Aroma vanile	0,125	0,125	0,125	0,125
Aroma limuna	0,03	0,03	0,03	0,03
Destilovana voda	17	12,4	10,8	7,4

Proizvodnja kontrolnog keksa i keksa sa dodatim zamenjivačima masti sprovedena je u nekoliko faza.

1. Priprema testa po dvofaznom postupku obuhvatala je:

- mešanje biljne masti (sa ili bez dodatka zamenjivača masti), a ubrzo zatim dodavanje glukognog sirupa i šećera, mešanje smeše do dobijanja homogene mase bez vidljivih grudvica u koju se dodaju rastvori ostalih sirovina (NaCl, NaHCO₃, NH₄HCO₃, arome vanile i limuna) i destilovana voda,
- dodavanje brašna i mešanje u trajanju od jednog minuta (dobija se homogena smeša bez vidljivih grudvica).

2. Obrada testa na laminatoru (Mignon, Rimini, Italy) postepenim istanjivanjem testa propuštanjem između dva valjka, čiji se zazor postepeno smanjuje (14 mm, 10 mm, 6 mm).

3. **Oblikovanje testa** utiskivanjem odgovarajućeg kalupa.
4. **Pečenje oblikovanog testa** u etažnoj peći (MIWE Gusto CS, Arnstein, Germany) na temperaturi 180 °C u trajanju od 15 minuta.
5. **Hlađenje ispečenog keksa** u uslovima radne prostorije u trajanju od 30 minuta nakon čega se keks pakuje u polipropilensku ambalažu i čuva za dalja ispitivanja.

3.5. METODE

3.5.1. ODREĐIVANJE NUTRITIVNIH KARAKTERISTIKA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA, KONTROLNOG KEKSA I KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI

3.5.1.1. Određivanje hemijskog sastava

Osnovni hemijski sastav (sadržaj sirovih proteina, masti, ukupnih redukujućih šećera, skroba, pepela, vlage) određen je prema metodama propisanim u Pravilniku o metodama fizičkih i hemijskih analiza za kontrolu kvaliteta žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo smrznutih testa (Sl. list SFRJ, br. 74/1988). Sadržaj sirovih proteina određen je metodom po Kjeldahlu, masti po Weibull-Stoldtu, ukupnih redukujućih šećera po Luff-Schoorlu, vlage i pepela gravimetrijski. Sadržaj ukupnih, rastvorljivih i nerastvorljivih prehrambenih vlakana određen je po standardnoj AOAC metodi (No. 991.43) (2000).

3.5.1.2. Određivanje sadržaja mineralnih materija metodom atomske apsorpcione spektrometrije (AAS)

Sadržaj minerala (Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu i Mn) određen je pomoću atomskog apsorpcionog spektrofotometra Varian SpectrAA-10 (Varian Techtron Pty Limited, Mulgrave Victoria, Australia) uz pozadinsku korekciju (D2-lampa). Priprema uzorka podrazumevala je suvo spaljivanje na 550 °C.

3.5.1.3. Određivanje sadržaja masnih kiselina metodom gasne hromatografije (GC-FID)

Za određivanje sastava masnih kiselina je korišćen gasni hromatograf Agilent 7890A (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD) sa plameno-jonizujućim detektorom (*flame ionization detector*, FID) i kolonom Supelco SP-2560 (100 m x 0,25 mm; debljina stacionarne faze 0,20 µm). Lipidi su ekstrahovani iz uzorka metodom po Folch-u (Folch i sar., 1957) i podvrgnuti transesterifikaciji u prisustvu bor(III)-fluorida (BF₃) prema proceduri opisanoj od strane Karlovića i Andrićeve (1996). Nakon završetka reakcije u reakcionu smešu je dodat n-heptan GC čistoće i sadržaj je blago promućkan kako bi se pospešila ekstrakcija metil-estara masnih kiselina. Heptanski sloj je potom prenet u epruvetu i ispran zasićenim rastvorom NaCl, nakon čega je organski sloj prenet u vialu i podvrgnut analizi na gasnom hromatografu. Helijum čistoće 99,9997 vol % je korišćen kao gas nosač (protok = 1,5 ml/min). Pomoću autosemplera je injektovan 1 µl uzorka (split mod, 30:1), a temperaturni program kolone je bio sledeći: početna temperatura 140 °C, zadržana 5 minuta; zagrevanje do 240 °C brzinom 3 °C/min, krajnja temperatura je zadržavana 10 minuta.

Pikovi pojedinih metil-estara masnih kiselina identifikovani su poređenjem njihovih retencionih vremena sa retencionim vremenima smeše 37 standarda "Supelco 37 component FAME mix" (Supelco, Bellefonte, SAD). Količina pojedinih masnih kiselina dobijena je poređenjem površine pikova uzorka sa površinama pikova standarda masnih kiselina poznate koncentracije. Sadržaj masnih kiselina izražen je kao maseni udeo pojedine masne kiseline.

3.5.2. ODREĐIVANJE FUNKCIJALNIH KARAKTERISTIKA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA

3.5.2.1. Priprema ekstrakata za određivanje sadržaja ukupnih rastvorljivih polifenola, polifenolnog profila i antiradikalске aktivnosti na DPPH-

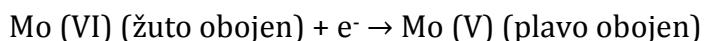
Ekstrakti su pripremljeni postupkom mešanja 2 g pšeničnih ili ovsenih mekinja i 40 ml smeše etanol:voda (70:30, v:v). Ekstrakcija je trajala 24 h na sobnoj temperaturi uz povremeno mućkanje. Nakon izvršene ekstrakcije uzorci su profiltrirani kroz kvalitativnu filter hartiju (Whatman, Grade 4 Chr, UK).

Dobijeni ekstrakti pšeničnih i ovsenih mekinja korišćeni su za određivanje sadržaja ukupnih rastvorljivih polifenola i antioksidativne aktivnosti.

Za određivanje polifenolnog profila primenom HPLC tehnike, od dobijenih ekstrakata uzeto je 20 ml i upareno na rotacionom vakuum uparivaču do suva, pri temperaturi ne većoj od 40 °C. Dobijeni suvi ostatak je rastvoren u 2 ml metanola HPLC čistoće.

3.5.2.2. Određivanje sadržaja ukupnih rastvorljivih polifenola

Količina ukupnih rastvorljivih polifenola (TPC) u ekstraktima određena je spektrofotometrijski, primenom metode Singletona i saradnika (1999). Ova metoda zasnovana je na merenju redukujućeg kapaciteta fenolnih jedinjenja, čijom disocijacijom nastaje proton i fenoksidni anjon. Nastali fenoksidni anjon redukuje Folin-Ciocalteu reagens do plavo obojenog jona (Fenol-MoW₁₁O₄₀)⁴⁻:



➤ Rastvori i reagensi:

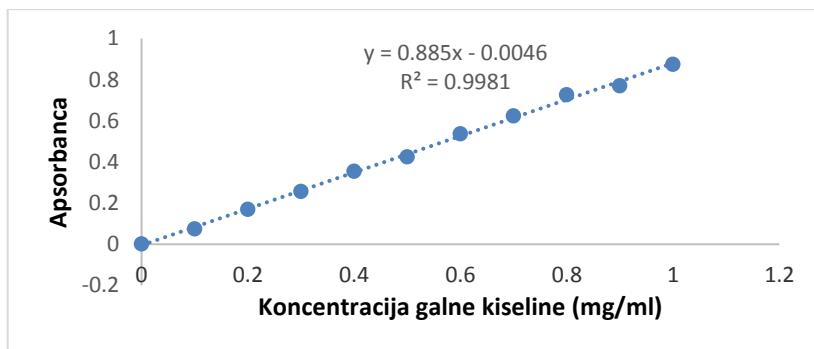
1. 20% Na₂CO₃ : 3 g Na₂CO₃ rastvoreno uz zagrevanje u 12 ml vode,
2. Folin-Ciocalteu reagens (0,67 mol/dm³) i
3. Standardni rastvor galne kiseline.

➤ Određivanje:

Radna proba je pripremljena mešanjem 0,1 ml etanolnog ekstrakta pripremljenog prema proceduri opisanoj u poglavlju 3.5.2.1, 7,9 ml destilovane vode, 0,5 ml Folin-Ciocalteu reagensa i 1,5 ml 20% Na₂CO₃. Pararelno je pripremljena slepa proba: 8 ml destilovane vode, 0,5 ml Folin-Ciocalteu reagensa i 1,5 ml 20% Na₂CO₃.

Nakon 2 h izmerena je apsorbanca reakcione smeše na 750 nm (Jenway, 6405 UV/Vis, Bibby Scientific Ltd, Stone, UK).

Na osnovu izmerenih apsorbanci, sa kalibracione krive standardnog rastvora galne kiseline (slika 7) određena je masena koncentracija (mg/ml) polifenolnih jedinjenja u ekstraktima, a zatim je sadržaj polifenolnih jedinjenja u uzorcima izražen kao ekvivalent galne kiseline (GAE).



Slika 7. Kalibraciona kriva standardnog rastvora galne kiseline

3.5.2.3. Određivanje antiradikalske aktivnosti ekstrakata na DPPH·

Uticaj ispitivanih ekstrakata na sadržaj 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikala (DPPH·) određen je primenom spektrofotometrijske metode Hatano i saradnici (1988).

Etanolni ekstrakti pripremljeni prema proceduri opisanoj u poglavlju 3.5.2.1. razblaženi su metanolom 1, 1,5 i 2 puta, tako da je svaki pripremljen u tri koncentracije u opsegu od 26,49 do 54,37 mg ekstrakta/ml.

Rastvori i reagensi:

1. Radni rastvor 90 µM DPPH·

Rastvor 1: 0,01577 g DPPH je odmereno u odmernu tikvicu od 100 ml i dopunjeno 95% metanolom do crte (dobijen 0,4 mM DPPH·).

Radni rastvor: 22,5 ml rastvora 1 preneto je u odmernu tikvicu od 100 ml i dopunjeno 95% metanolom do crte (dobijen 90 µM DPPH·).

➤ Određivanje:

Radna proba je pripremljena mešanjem 0,1 ml ekstrakta, 2,9 ml metanola i 1 ml DPPH· (90 µM). Kontrola je pripremljena tako što je u epruvetu koja sadrži 3 ml metanola dodat 1 ml DPPH· (90 µM). Reakciona smeša je ostavljena na tamnom mestu, na sobnoj temperaturi, 60 minuta. Kao slepa proba korišćen je metanol.

Absorbanca je očitana na 517 nm (Jenway, 6405 UV/Vis, Bibby Scientific Ltd, UK). Na osnovu izmerenih apsorbanci uzorka (A_{uz}), kontrole (A_{kont}) i slepe probe (A_{sp}), određena je antiradikalna aktivnost na DPPH[·] (AA_{DPPH}) prema jednačini:

$$AA_{DPPH} = 100 - [100 \times (A_{uz} - A_{sp}) / A_{kont}] (\%)$$

Konstruisana je kriva zavisnosti između AA_{DPPH} (%) i koncentracije rastvora ekstrakta u cilju određivanja vrednosti IC_{50} (mg/ml), koja predstavlja koncentraciju ekstrakta pri kojoj je neutralisano 50% DPPH[·]. Antiradikalna aktivnost na DPPH[·] izražena je kao IC_{50} (mg/ml).

3.5.2.4. Određivanje sadržaja polifenolnih jedinjenja u mekinjama HPLC metodom

Sadržaj fenolnih jedinjenja u ekstraktima pšeničnih i ovsenih mekinja određen je tehnikom tečne hromatografije visoke rezolucije na aparatu HPLC Agilent 1200 serije (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). Korišćena je kolona Agilent, Eclipse XDB-C18, 1,8 μm, 4,6 x 50 mm. Detekcija razdvojenih pikova izvršena je primenom detektora sa serijom dioda (*diode array detector*, DAD) na talasnim dužinama od 280, 330 i 350 nm, a apsorpcioni spektri komponenata su snimljeni u opsegu od 190 do 400 nm, R 500/100 nm.

Kao mobilna faza korišćen je sistem rastvarača: A – metanol HPLC čistoće i B – 1% mravljia kiselina u ultračistoj vodi (v/v). Razdvajanje komponenti je izvedeno primenom sledećeg linearog gradijenta: 0–6,2 min, 85% B; 6,2–8 min, 75% B; 8–15 min, 61% B; 15–20 min, 40% B; 20–25 min, 0% B. Završetak analize, odnosno „stop time“ je podešen na 25 min, nakon čega je koloni ostavljeno vreme da se uravnoteži na početne uslove 10% A, tako što je „posttime“ podešen na 10 min. Protok mobilne faze iznosio je 1 ml/min. Injektovano je 5 μl ekstrakta uzorka, automatski, korišćenjem autosamplera. Kolona je termostatirana na temperaturi 30 °C. Za HPLC određivanja su korišćeni metanolni ekstrakti pšeničnih i ovsenih mekinja pripremljeni prema poglavlju 3.5.2.1. Dobijeni ekstrakti su pre injektovanja u aparat profiltrirani kroz filtere sa porama veličine 0,45 μm (Agilent, regenerisana celuloza). Fenolne komponente prisutne u ekstraktima mekinja su identifikovane poređenjem njihovih retencionih vremena i spektara sa retencionim vremenom i spektrom standarda za svaku komponentu.

Korišćeni su standardi *p*-kumarinske, vanilinske, ferulne, sinapinske, galne, *p*-hidroksibenzoeve i kafene kiseline. Za potvrdu identifikacije komponente utvrđena je i čistoća pika. Kvantifikacija komponenata je izvršena metodom spoljašnjeg standarda. Za svaki pojedinačni standard je pripremljen metanolni rastvor standarda masene koncentracije 1,0 mg/ml, koji je korišćen za pripremu serije razblaženih rastvora standarda masenih koncentracija u opsegu 0,002–0,030 mg/ml. Na osnovu dobijenih površina pikova u zavisnosti od koncentracije standarda konstruisana je kalibraciona kriva za svaki standard. Iz dobijene jednačine linearne zavisnosti koncentracije i površine pika izračunate su koncentracije pojedinih fenolnih jedinjenja u ispitivanim uzorcima. Sve analize su izvršene u tri ponavljanja.

3.5.2.5. Priprema ekstrakata pšeničnih i ovsenih mekinja uz upotrebu ultrazvučnog predtretmana

24 g uzorka pšeničnih i ovsenih mekinja ekstrahovani su sa 480 ml smeše etanol:voda (70:30, v:v) u čašama u koje je uronjena ultrazvučna sonda prečnika 13 mm, jačine procesora od 750 W (VC 750, Sonics and Materials Inc., Newtown, USA), u trajanju od 10 minuta pri frekvenciji od 20 kHz. Kontrolni uzorci dobijeni su na identičan način, ali bez primene ultrazvučnog tretmana (maceracijom mekinja u rastvaraču u trajanju od 10 minuta).

Uzorci su zatim preneti u šejker (Model S01, Stuart Scientific, UK), koji je bio podešen na brzinu od 250 o/min, te vađeni iz šejkera nakon 0 h, 1 h, 2 h, 3 h, 5 h, 21 h i 24 h i odmah nakon vađenja centrifugirani na 5000 o/min u trajanju od 10 minuta (Sigma 2-16PK, Osterode am Harz, Germany). 5 ml supernatanta je upareno do suva na uparivaču TurboVap LV (Caliper Life Science Inc., Hopkinton, USA) pri temperaturi ne većoj od 40 °C.

Dobijeni suvi ekstrakti (kontrolni uzorci i ekstrakti dobijeni primenom ultrazvučne sonde) su za dalje analize (sadržaj ukupnih polifenola po proceduri iz poglavlja 3.5.2.2.) rastvoreni u 1 ml metanola.

3.5.3. ODREĐIVANJE FUNKCIONALNIH KARAKTERISTIKA KONTROLNOG KEKSA I ODABRANOG KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI

Pripremljeni su ekstrakti odabranih uzoraka keksa (keks sa zamenjivačem, odnosno gelom od pšeničnih i ovsenih mekinja, korišćenim na nivou 30% zamene), kao i kontrolnog keksa po proceduri iz poglavlja 3.5.2.1, uz izmenu u količini uzorka (5 g) i rastvarača (20 ml).

U dobijenim ekstraktima keksa određeni su sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola prema postupku iz poglavlja 3.5.2.2. i antiradikalska aktivnost na DPPH· prema postupku iz poglavlja 3.5.2.3. (ekstrakti su razblaženi metanolom kako bi se dobile serije razblaženja koncentracija u opsegu od 127,03 do 254,55 mg ekstrakta/ml).

3.5.4. ODREĐIVANJE AKTIVITETA VODE PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA, KONTROLNOG KEKSA I KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI

Aktivitet vode (a_w) mekinja i keksa određena je pomoću a_w -metra Testo 650 (Testo AG, Sparta, NJ, SAD) (slika 8), koji se sastoji iz sonde, merne čelije i plastične merne posude u koju se unese ispitivani uzorak (2/3 zapremine), a merenje se zasniva na očitavanju vrednosti na displeju uređaja.



Slika 8. a_w -metar Testo 650

3.5.5. ODREĐIVANJE VISKOZITETNOG PROFILA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA

Praćenje promene viskoziteta suspenzije mekinja tokom želatinizacije i retrogradacije izvršeno je uz pomoć reometra HAKKE Mars-Modular Advanced Rheometer Systems (Thermo Scientific, Karlsruhe, Germany). Korišćen je sledeći pribor: posuda cilindra Z40 (prečnika 43,4 mm i rastojanja između posude i rotora od 8 mm), propellerski rotor FL2B sa dve lopatice i zaštitni poklopac Z40 DIN, kako bi se sprečilo isparavanje vode tokom merenja. Suspenzije mekinja su napravljene sa 10,7 g mekinja (računato na vlagu od 14 g/100 g) i 60 ml destilovane vode kako bi se dobio isti odnos brašno-voda kao u standardnim amilografskim metodama. Merenja su izvršena prema modifikovanoj proceduri opisanoj od strane Pojićeve i saradnika (2013). Procedura je obuhvatala: temperiranje suspenzije na 50 °C u trajanju od 3 min, zagrevanje do 95 °C brzinom od 1,5 °C/min, održavanje temperature konstantnom (95 °C) u toku 600 s, hlađenje suspenzije do 50 °C brzinom od 1,5 °C/min i održavanje temperature od 50 °C u periodu od 600 s. Brzina smicanja propelera u toku merenja bila je 10 1/s. Merenja su izvođena u tri ponavljanja.

3.5.6. ODREĐIVANJE REOLOŠKIH KARAKTERISTIKA MASTI, GMM MODEL SISTEMA I TESTA ZA KEKS

Nakon pripreme gelova od mekinja, kao i homogenizacije pripremljenih gelova sa masnoćom, reološko ponašanje dobijenih smeša, kao i testa za keks dobijenog zamenom dela masti pripremljenim smešama, praćeno je uz pomoć reometra HAAKE Mars (Thermo Scientific, Karlsruhe, Germany) na temperaturi od $25 \pm 0,1$ °C. U cilju prevencije efekta proklizavanja uzorka korišćen je nazubljeni merni pribor ploča/ploča PP35S (prečnika 35 mm i rastojanja između ploča od 1 mm). Sprečavanje sušenja uzorka tokom merenja iziskivalo je korišćenje teflonskog poklopca u svim testovima (*solvent trap*).

Dinamička oscilatorna merenja, koja su korišćena za reološku karakterizaciju uzorka masti, smeša masti i gelova mekinja i testa za keks izvođena su 300 s nakon nanošenja uzorka između ploča reometra kako bi došlo do relaksacije uzorka usled stresa unetog spuštanjem gornje ploče. U cilju određivanja linearnog viskoelastičnog regiona, primjenjen je tzv. *stress sweep* test koji je podrazumevao ciklično povećavanje napona pri konstantnoj frekvenciji od 1 Hz. Kao granica linearnog viskoelastičnog regiona uzeta je

vrednost pri kojoj se dinamički viskoelastični modul nije promenio za više od 10% od svoje konstantne vrednosti. Korišćenjem konstantne vrednosti napona koja je bila u linearnom viskoelastičnom regionu (0,5 Pa za mast i smeše i 1 Pa za testo za keks), izvršeno je praćenje promene elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula u rasponu frekvencija od 0,1 do 10 Hz (tzv. *frequency sweep* test).

Rezultati *frequency sweep* testa, tj. zavisnost modula od frekvencije (logaritamski prikaz) modelovani su jednačinama stepenog zakona:

$$G' = K' f^{n'}$$

$$G'' = K'' f^{n''}$$

gde su K' i K'' – koeficijenti koji odgovaraju vrednosti modula G' , odnosno G'' na 1 Hz (Peressini i sar., 2000), a n' i n'' – koeficijenti koji predstavljaju nagib krive (Sivaramakrishnan i sar., 2004).

3.5.7. ODREĐIVANJE TEKSTURNIH KARAKTERISTIKA MASTI I GMM MODEL SISTEMA – ODREĐIVANJE MAZIVOSTI

Osobine čvrstoće masti i GMM model sistema određivane su na teksturometru TA-XTPlus Texture Analyzer TA.XT2 (Stable Micro Systems, Surrey, UK) korišćenjem merne ćelije od 5 kg (slika 9). Čvrstoća ispitivanih uzoraka je određivana primenom konusnog pribora za ispitivanje mazivosti odnosno čvrstoće (TTC Spreadability Rig) korišćenjem protokola za čokoladne namaze – *Chocolate spreads – SPRD2_SR* (Texture Exponent 32 software version 4.0.11.0 – Stable Micro Systems). Prema ovom protokolu, gornji deo pokretnog konusnog pribora je prethodno kalibriran na visinu od 25 mm iznad statičnog dela pribora za određivanje čvrstoće, dok je rastojanje između gornjeg i donjeg dela pribora bilo 23 mm u toku merenja. Pre merenja su donji delovi pribora za određivanje čvrstoće napunjeni uzorcima, a površina poravnata ravnom metalnom špatulom. Nakon toga, oni su prebačeni u termostat na 25 °C u trajanju od 30 minuta. Brzina kretanja gornjeg dela konusnog pribora je bila 1,0 mm/s pre analize, 3 mm/s za vreme analize i 10 mm/s nakon analize. Maksimalna sila kompresije u gramima, koja označava čvrstoću uzorka, određena je u dva ponavljanja po seriji za svaki uzorak (ukupno četiri merenja po uzorku).



Slika 9. Analizator tekture TA-XTPlus Texture Analyzer TA.XT2 sa konusnim priborom

3.5.8. MIKROSTRUKTURA MEKINJA I LIOFILIZOVANIH GELOVA MEKINJA

Mikrostruktura mekinja i gelova mekinja određena je primenom optičke i elektronske mikroskopije. Gelovi mekinja dobijeni pri optimalnim uslovima su liofilizovani za potrebe mikroskopije.

3.5.8.1. Optička mikroskopija primenom propuštenog svetla

Uzorci mekinja i sprašenih liofilizata gelova mekinja posmatrani su pod propuštenim svetлом primenom Olympus BX51 svetlosnog mikroskopa (Mason Technology, Dublin, Ireland), po postupku koji su opisali O'Shea i saradnici (2015). Uzorci su posuti po predmetnom staklu, na njih je naneta jedna kap toluidin plavog rastvora, a potom su prekriveni pokrovnim staklom. Uloga rastvora koji je nanet je da različito oboji različite polisaharide. Toluidin plavi rastvor je metahromatska boja koja boji celulozu u tamnoplavu ili plavozelenu, a pšenični gluten u bledo plavozelenu (Flint, 1994). Slike su snimljene pri uvećanju objektiva od 10x, korišćenjem tehnike svetlog polja i polarizovane svetlosti sa ukrštenim ili blago neukrštenim polarizatorima, da bi se naglasile birefringentne materije.

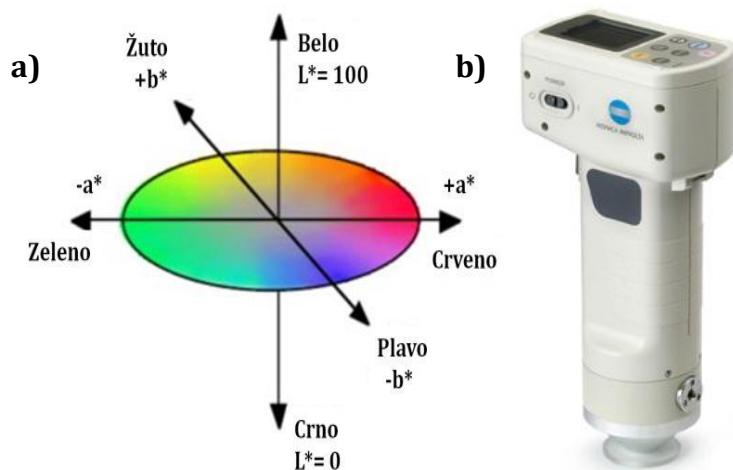
3.5.8.2. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Uzorci mekinja i sprašenih liofilizata gelova mekinja dobijenih pri optimalnim uslovima posuti su po aluminijumskom nosaču sa adhezivnom trakom na bazi ugljenika i presvučeni hromom, kao što je opisano u radu O'Shea i saradnika (2015). Uzorci su snimljeni korišćenjem elektronskog mikroskopa Zeiss Supra 40 VP sa emisijom polja (Carl Zeiss, Cambridge, UK) pri naponu od 2 kV. Slike su snimljene u opsegu uvećanja od 250x do 5000x.

3.5.9. ODREĐIVANJE FIZIČKIH OSOBINA KONTROLNOG KEKSA I KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI

3.5.9.1. Instrumentalno određivanje boje

Boja gornje površine keksa je određena u osam ponavljanja 24 h nakon pečenja upotrebom kolorimetra Minolta Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta Sensing Inc., Tokyo, Japan) (prečnik kontaktne površine 8 mm) (slika 10b). Pre merenja uređaj je kalibriran standardom bele boje. Rezultati su prezentovani prema CIELab sistemu boja (slika 10a), u kome su koordinate definisane na sledeći način: L^* je koordinata svetloće boje (pri čemu 0 označava crno, a 100 belo), a^* je crveno-zelena koordinata (pri čemu pozitivna vrednost a^* označava crvenu, a negativna vrednost a^* označava zelenu boju) i b^* je žuto-plava koordinata (pri čemu pozitivna vrednost b^* označava žutu, a negativna vrednost b^* označava plavu).



Slika 10. a) Model CIE $L^* a^* b^*$ sistema boja;
b) Kolorimetar Minolta Chroma Meter CR-400

Varijacije u boji (ΔE) između kontrolnog keksa i keksa sa dodatkom zamenjivača masti određene su prema formuli:

$$\Delta E = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$$

gde su:

ΔL^* – razlika u parametru L^* između kontrolnog keksa i keksa sa dodatkom zamenjivača masti,

Δa^* – razlika u parametru a^* između kontrolnog keksa i keksa sa dodatkom zamenjivača masti i

Δb^* – razlika u parametru b^* između kontrolnog keksa i keksa sa dodatkom zamenjivača masti.

Na osnovu vrednosti ΔE utvrđuje se da li je ukupna razlika u boji vidljiva golim okom. Prema radu Francis i Clydesdale (1975) ako je vrednost ΔE manja od 1, razlika u boji nije uočljiva golim okom. Ako se vrednost ΔE kreće u intervalu od 1 do 3, razlika u boji nije očigledna golim okom. Ako je vrednost ΔE veća od 3, razlika u boji je očigledna golim okom. Popov Raljić i saradnici (2013) predlažu užu skalu vrednosti ΔE , pa su, prema ovim autorima, razlike u boji kategorizovane na sledeći način: razlika u boji je neprimetna (kada je $\Delta E = 0\text{--}0,5$); slabo primetna ($\Delta E = 0,5\text{--}1,5$); primetna ($\Delta E = 1,5\text{--}3,0$); jače primetna ($\Delta E = 3,0\text{--}6,0$); veoma primetna ($\Delta E = 6,0\text{--}12,0$) i očigledno odstupanje u boji ($\Delta E > 12,0$).

3.5.9.2. Određivanje tehnoloških parametara kvaliteta keksa

Tehnološki parametri kvaliteta određeni su na uzorcima keksa po metodi AACC 10-50D (1999). Merenja dimenzija sprovedena su na uzorcima keksa nakon hlađenja u trajanju od 30 minuta primenom okruglog kalupa, a obuhvatala su merenje prečnika keksa u pravcu laminiranja (*length, L*), normalnom na pravac laminiranja (*width, W*) i merenje debljine (*thickness, T*). Prosečna vrednost prečnika keksa (*R*) određena je na osnovu najmanjih (*W*) i najvećih prečnika (*L*). Merene su dimenzije šest keksova iz svake grupe uzorka. Debljina je merena tako što je šest keksova poslagano jedan na drugi, te izmerena visina. Nakon toga su keksovi poslagani drugim redom i ponovo izmerena njihova visina, kako bi se dobila srednja vrednost debljine šest keksova u mm. Ova vrednost je podeljena sa brojem merenih keksova kako bi se dobila prosečna debljina (*T*).

Izračunat je i faktor širenja (R/T) kao odnos između srednje vrednosti prečnika i visine keksa. Faktor širenja ukazuje na deformacije oblika prilikom pečenja.

Gubitak mase usled pečenja (*baking weight loss, BWL*) određen je merenjem mase keksa ($n=8$) pre i nakon pečenja, a izračunat je po formuli:

$$BWL(\%) = [(m_0 - m_t)/m_0] \times 100$$

gde su:

m_0 – inicijalna masa keksa pre pečenja (g) i

m_t – masa keksa nakon pečenja (g).

3.5.9.3. Instrumentalno određivanje teksturnih svojstava

Teksturna svojstva keksa pri lomljenju određena su primenom analizatora teksture TA.XT2 Texture Analyser (Stable Micro Systems, Godalming, UK) opremljenog mernom čelijom od 30 kg i priborom 3-Point Bending rig HDP/3PB (slika 11). Merenja su izvedena u tzv. kompresionom modu pri brzini kretanja mernog dela pre analize 2,5 mm/s, u toku analize 2 mm/s i nakon obavljene analize 10 mm/s. Merenje teksturnih svojstava keksa je izvršeno u osam ponavljanja po svakoj šarži 24 h nakon pečenja na temperaturi od 25 °C.



Slika 11. Analizator tekture TA-XTPlus Texture Analyzer TA.XT2

Primenom računarskog programa (Exponent Stable Micro Systems, version 6.0), snimljena je zavisnost sile potrebne za kompresiju uzorka u funkciji vremena. Za poređenje teksturnih svojstava različitih formulacija keksa korišćeni su parametar tvrdoća (*hardness, H*), koja predstavlja visinu pika izraženu u jedinicama sile (N) ili mase (g) u funkciji vremena (s) i lomljivost (*fracturability, F*), koja je određena kao rastojanje u trenutku loma uzorka, odnosno predstavlja otpor koji uzorak pruža sili savijanja i izražena je u mm.

3.5.10. SENZORSKO PROFILISANJE KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI PRIMENOM DESKRIPTIVNE METODE

U cilju dobijanja senzorskog profila uzorka keksa, sprovedena je senzorska ocena od strane panela utreniranih ocenjivača (8 ocenjivača, 6 žena i 2 muškarca) Odeljenja za senzorske i tehničke analize u okviru akreditovane FINSLab laboratorije. Panel utreniranih ocenjivača formiran je u skladu sa odgovarajućim standardima (ISO 6658:2005, SRPS EN ISO 8586:2015, SRPS ISO 3972:2011, ISO 5495:2005, SRPS ISO 11037:2013, SRPS ISO 11036:2002).

Odabir svojstava za senzorsko profilisanje keksa prethodno je sproveden od strane vođe panela i usaglašavan je sa članovima panela u cilju što boljeg definisanja senzorskog profila keksa (slika 12b). Konačna lista sastojala se od 13 deskriptora, pri čemu su se dva deskriptora odnosila na izgled keksa (intenzitet boje, uočljivost mekinja), dva deskriptora za ukus (sladak ukus, strani ukus), jedan deskriptor za aromu (arome od namenskih dodataka), jedan za miris (miris na sirovine) i sedam deskriptora za definisanje teksturnih svojstava (površinska hrapavost, lomljivost, tvrdoća, gustina, oblaganje zuba, kohezivnost mase i hrskavost). Intenzitet ocenjivanih svojstava iskazivan je na kontinualnoj skali intenziteta od 100 cm, pri čemu se levi kraj skale odnosi na nizak intenzitet/odsustvo svojstva, a desni na najviši mogući intenzitet svojstva. Spisak senzorskih svojstava sa definicijama i krajnjim podeocima na skali prikazani su u tabeli 12.

Tabela 12. Senzorska svojstava keksa sa definicijama i krajnjim podeocima na skali

Senzorsko svojstvo	Definicija	Krajnji podeoci na skali
Izgled		
Intenzitet boje	Intenzitet ili jačina boje od svetle do tamne.	Svetlo – Tamno
Uočljivost mekinja	Uočavanje veličine, oblika i rasporeda čestica mekinja.	Zanemarljivo – Izraženo
Ukus		
Sladak ukus	Osnovni ukus koji proizvodi voden rastvor saharoze.	Slab – Izražen
Strani ukus	Stepen u kojem se javlja ukus koji ne potiče od osnovnih sirovina i namenskih dodataka.	Slab – Izražen
Aroma		
Arome od namenskih dodataka	Aroma povezana sa namenskim dodacima keksu (cimet, vanila, limun).	Slaba – Izražena
Miris		
Miris na sirovine (mekinje)	Miris koji potiče od različitih vrsta mekinja.	Slab – Intenzivan
Tekstura		
Površinska hrapavost	Zastupljenost nepravilnih čestica, zrna, izbočina, grudvica i sl. koji su vidljivi na površini proizvoda i osete se pod prstima.	Glatka – Hrapava
Lomljivost	Sila neophodna da se uzorak usitni u mrvice ili komade.	Mrvljivo – Lomljivo
Tvrdoća	Sila neophodna da se zubima prodre kroz uzorak.	Meko – Tvrdo
Gustina	Kompaktnost keksa na prelomu.	Rastresito – Gusto
Oblaganje zuba	Stepen do koga se proizvod lepi za zube.	Bez oblaganja – Veoma veliko
Kohezivnost mase	Stepen do koga masa uzorka ostaje zajedno tokom žvakanja.	Labava – Čvrsta
Hrskavost	Zvuk i sila kojom se uzorak lomi ili puca.	Gnjecavo – Veoma hrskavo



Slika 12. Senzorska ocena keksa: a) šifrirani uzorci keksa; b) panel utreniranih ocenjivača u radu

3.5.10.1. Priprema, prezentacija i distribucija uzorka članovima panela

Senzorska ocena uzorka keksa sprovedena je u Odeljenju za senzorske i tehničke analize FINSLab-a, koje je opremljeno u skladu sa važećim standardom (ISO 8589:2007) i koje je pod konstantnim i kontrolisanim uslovima temperature, vlage, buke i mirisa, a sve u cilju smanjenja uticaja psiholoških činilaca na sposobnosti rada ocenjivača. Ocenzivačima su uzorci keksa dostavljeni u zasebne kabine, u kojima se pored uzorka nalazio i pribor za ocenjivanje (ocenjivački list, pribor za pisanje, tacna, ubrus) i čaša sa destilovanom vodom za ispiranje usta između konzumiranja dva uzastopna uzorka.

Uzorci keksa su dostavljeni nasumično, svim ocenzivačima u isto vreme i bili su označeni nasumično odabranim trocifrenim šiframa, što je sa jedne strane obezbedilo identifikaciju i sledljivost rezultata ocenjivanja, a sa druge strane omogućilo da se izbegne pristrasnost do koje bi moglo doći ukoliko bi ocenzivači spoznali identitet uzorka. Sistem šifriranja uzorka bio je poznat samo osobi koja je rukovodila senzorskim ocenjivanjem.

Uzorci keksa distribuirani su u plastičnim providnim posudicama sa poklopcom kako bi se što bolje očuvala svojstva proizvoda (slika 12a).

3.5.11. MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST MEKINJA I KEKSA SA ODABRANIM ZAMENJIVAČIMA MASTI

Prisustvo *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes*, kao i broja mikroorganizama, sulfitoredukujućih bakterija koje rastu pod anaerobnim uslovima, koagulaza pozitivnih stafilocoka, enterobakterija i suspektnog *Bacillus cereus* u uzorcima mekinja i keksa, određeno je primenom standardnih mikrobioloških metoda:

- Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama – Deo 1: Brojanje kolonija na 30 °C tehnikom nalivanja ploče (SRPS EN ISO 4833-1:2014),
- Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Enterobacteriaceae* – Deo 2: Metoda brojanja kolonija (SRPS ISO 21528-2:2009),
- Horizontalna metoda za otkrivanje *Salmonella* spp. (SRPS EN ISO 6579:2008),
- Horizontalna metoda za određivanje broja sulfitoredukujućih bakterija koje rastu pod anaerobnim uslovima (SRPS ISO 15213:2011),
- Horizontalna metoda za određivanje broja koagulaza pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus* i druge vrste). – Deo 1: Tehnika upotrebot agara po Berd-Parkeru (SRPS EN ISO 6888-1:2008),
- Horizontalna metoda za određivanje broja suspektnog *Bacillus cereus* – Tehnika brojanja kolonija na 30 °C (SRPS EN ISO 7932:2008) i
- Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Listeria monocytogenes* – Deo 1: Metoda otkrivanja (SRPS EN ISO 11290-1:2010).

Određivanje broja kvasaca i plesni u uzorcima mekinja izvršeno je u skladu sa standardnom mikrobiološkom metodom:

- Horizontalna metoda za određivanje broja kvasaca i plesni – Deo 2: Tehnika brojanja kolonija u proizvodima sa aktivnošću vode manjom od 0,95 ili jednakom 0,95 (SRPS ISO 21527-2:2011).

Određivanje broja kvasaca i plesni u uzorcima keksa sa zamenjivačima masti:

- Određivanje broja kserofilnih plesni (koje rastu pri $aw < 0,70$) je izvršeno primenom podloge sa sladnim i kvaščevim ekstraktom i sa 50% glukoze (MY50G) (Pitt i Hocking, 2009; Samson i sar., 2004). 0,1 ml pripremljenih razređenja uzorka u 0,1% sterilnom rastvoru peptonske vode je zasejan na površinu MY50G agara. Zasejane podloge su inkubirane na 25 °C tokom 7 dana. Nakon završetka inkubiranja selektovane su ploče koje sadrže manje od 150 kolonija plesni i na osnovu broja izraslih kolonija plesni izračunat je broj kserofilnih plesni u 1 g uzorka. Ispitivanja su izvedena u triplikatu.
- Određivanje broja osmofilnih kvasaca je izvršeno primenom podloge – MY40 Agar (Osmophilic Agar) (Himedia, Mumbai, India). 0,1 ml pripremljenih razređenja uzorka u 0,1% sterilnom rastvoru peptonske vode zasejan je na površinu MY40 agara. Zasejane podloge su inkubirane na 25 °C tokom 3 dana (Šarić, 2016).

3.5.12. EKSPERIMENTALNI PLAN I STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Svi eksperimenti u okviru disertacije izvedeni su u dovoljnom broju ponavljanja, a rezultati su izraženi kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija. Utvrđivanje statističke značajnosti razlika između aritmetičkih sredina sprovedeno je primenom analize varijanse (*analysis of variance, ANOVA*) i Tukey HSD (*honest significant difference*) testa višestrukih poređenja sa pragom značajnosti 0,05. Podaci su obrađeni primenom softverskih paketa Microsoft Excel 2007 for Windows i StatSoft Statistica (*data analysis software system*), version 12.0 (StatSoft Inc., Oklahoma, USA).

Efekat uticaja procesnih parametara na karakteristike dobijenih gelova mekinja sproveden je primenom metode odzivne funkcije (*response surface methodology, RSM*) i Box-Behnken-ovog eksperimentalnog dizajna, a optimalni procesni parametri za proizvodnju gelova koji bi posedovali osobine najsličnije onima koje poseduje biljna mast utvrđeni su primenom funkcije poželjnosti (*desirability function*) u softverskom paketu DESIGN-EXPERT 7.0 (Stat-Ease, Minneapolis, Inc., USA).

U cilju vizuelizacije korelativnih odnosa između odabranih promenljivih (parametri senzorske ocene dobijeni od strane obučenog panela) i ispitivanih uzoraka, na matrici Pearson-ovih koeficijenata korelacije sprovedena je analiza glavnih komponenti (*Principal Component Analysis, PCA*) primenom softvera StatSoft Statistica i softvera XLSTAT (Addinsoft, 2013. NY, SAD).

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. KARAKTERIZACIJA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA

4.1.1. NUTRITIVNI PROFIL PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA

Preradom žitarica postupkom mlevenja dobijaju se sirovine koje se često koriste u pekarskoj i konditorskoj industriji. U postupku mlevenja zrna žitarica uslovi mogu da se podese tako da se kao sporedni proizvodi dobiju različiti delovi zrna. Mekinje, kao jedan od sporednih proizvoda mlevenja zrna žitarica, najčešće se koriste u pekarskim i ekstrudiranim proizvodima, sa ciljem povećanja sadržaja vlakana (Stanyon i Costello, 1990; Sudha i sar., 2007; Nilsson i sar., 2008). Evidentno je da poslednjih godina primena mekinja u formulacijama različitih prehrabnenih proizvoda dobija sve više na značaju zbog njihove nutritivne vrednosti.

Rezultati osnovnog hemijskog sastava mekinja pšenice i ovsa korišćenih u ovoj disertaciji sumirani su u tabeli 13.

Table 13. Hemijski sastav pšeničnih i ovsenih mekinja (g/100 g)

Parametar	Pšenične mekinje	Ovsene mekinje
Sirovi proteini	16,51 ± 0,06 ^a	16,41 ± 0,13 ^a
Skrob	27,79 ± 0,15 ^a	58,90 ± 0,29 ^b
Ukupni šećeri	6,16 ± 0,12 ^b	4,71 ± 0,11 ^a
Ukupna prehrambena vlakna	32,77 ± 0,30 ^b	14,22 ± 0,12 ^a
Nerastvorljiva prehrambena vlakna	31,06 ± 1,30 ^b	10,49 ± 0,92 ^a
Celuloza	9,69 ± 0,13 ^b	1,61 ± 0,07 ^a
Masti	5,30 ± 0,03 ^a	6,26 ± 0,02 ^b
Zasićenih masne kiseline	1,03 ± 0,02 ^a	1,19 ± 0,03 ^b
Vлага	9,17 ± 0,07 ^b	8,53 ± 0,05 ^a
Pepeo	3,78 ± 0,01 ^b	2,41 ± 0,01 ^a

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ($n = 3$) ± standardna devijacija.

Srednje vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Obe vrste mekinja sadrže najviše vlakana i skroba, zatim proteina, a masti i šećeri prisutni su u nižim količinama u odnosu na prethodno pomenute hranljive materije. Poređenjem ove dve vrste mekinja može se zaključiti da pšenične mekinje karakteriše statistički značajno veći sadržaj vlakana ($p < 0,05$), dok ovsene mekinje odlikuje skoro dva puta veći sadržaj skroba u odnosu na pšenične mekinje. Rezultati hemijskog sastava pšeničnih mekinja u saglasnosti su sa literaturnim podacima koje su prezentovali Apprich i saradnici (2014), sumirajući mnoštvo radova iz literature. Podaci dobijeni za hemijski sastav mekinja ovsa takođe su u saglasnosti sa literaturnim podacima (Ganglof, 1992; Ekholm i sar., 2003; Herranen i sar., 2010; Hitayezu i sar., 2015).

Razlika u sadržaju vlakana i skroba u pšeničnim i ovsenim mekinjama može se pripisati činjenici da se ovsene mekinje ne smatraju "pravim" mekinjama (MacDougall i Selvendran, 2001; Autio, 2006), jer su izrazito obogaćene subaleuronskim slojem (spoljnim delovima) i skrobnim endospermom, koji sadrže više skroba u poređenju sa čistim aleuronskim slojem, koji je sastavljen uglavnom od vlakana. Količina rastvorljivih prehrambenih vlakana u pšeničnim mekinjama niža je od iste u ovsenim mekinjama (tabela 13), o čemu svedoče i navodi Wooda (1997), koji je ustanovio da je sadržaj nerastvorljivih vlakana u pšeničnim mekinjama značajno niži nego u mekinjama drugih žitarica (manje od 1% računato na suvu materiju), dok mekinje ječma odlikuju 3–11%, a ovsene 3–7% rastvorljivih prehrambenih vlakana.

Pored osnovnog hemijskog, određen je i masnokiselinski sastav polaznih sirovina, koji je prikazan u tabeli 14. Rezultati ukazuju da su upotrebljene mekinje izuzetno bogate esencijalnom linolnom kiselinom, ω (n-6) masnom kiselinom, sa preko 58,57% zastupljenosti u ukupnim masnim kiselinama za pšenične mekinje (3,10 g na 100 g mekinja), odnosno sa 41,10% zastupljenosti u ukupnim masnim kiselinama za ovsene mekinje (2,57 g na 100 g mekinja) (tabela 14).

Tabela 14. Sadržaj masnih kiselina pšeničnih i ovsenih mekinja (g/100 g)

Masne kiseline	Pšenične mekinje	Ovsene mekinje
C16:0 (palmitinska)	0,98 ± 0,02 ^a	1,11 ± 0,03 ^b
C18:0 (stearinska)	0,05 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^b
SFA	1,03 ± 0,02 ^a	1,19 ± 0,03 ^b
C18:1n9 (oleinska)	0,88 ± 0,02 ^a	2,40 ± 0,02 ^b
MUFA	0,88 ± 0,02 ^a	2,40 ± 0,02 ^b
C18:2n6 (linolna)	3,10 ± 0,03 ^b	2,57 ± 0,02 ^a
C18:3n3 (α -linoleinska)	0,28 ± 0,01 ^b	0,10 ± 0,01 ^a
PUFA	3,39 ± 0,04 ^b	2,67 ± 0,03 ^a
UFA (MUFA + PUFA)	4,27 ± 0,06 ^a	5,07 ± 0,05 ^b

MUFA – mononezasičene masne kiseline; PUFA – polinezasičene masne kiseline; UFA – nezasičene masne kiseline (ukupne); SFA – zasičene masne kiseline

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ($n = 3$) ± standardna devijacija.

Srednje vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Dobijeni rezultati za pšenične mekinje su u skladu sa ispitivanjem masnokiselinskog sastava pšeničnih mekinja sprovedenog od strane Khalid-a i saradnika (2017), koji su kvantifikovali 3 g linolne kiseline na 100 g mekinja, dok su sadržaji ostalih masnih kiselina iznosili: palmitinska 0,8 g/100 g, stearinska 0,1 g/100 g, oleinska 0,9 g/100 g i α -linoleinska 0,2 g/100 g, što je u skladu sa rezultatima ove teze (tabela 14).

U sastavu masnih kiselina ovsenih mekinja zastupljene su sledeće masne kiseline: palmitinska, stearinska, oleinska, linolna i linoleinska sa udelima u ukupnim masnim kiselinama od 17,79%, 1,22%, 38,29%, 41,10% i 1,61%, respektivno (Prilog 1). Rezultati studije u kojoj su ispitane ovsene mekinje (Yilmaz i Dağlıoğlu, 2003) ukazuju na sličan

profil i sadržaj masnih kiselina, sa udelima palmitinske, stearinske, oleinske, linolne i linoleinske od 16,5%, 1,8%, 43,5%, 34,6 i 0,9%, respektivno.

Youngs i saradnici (1977) su kao dominantne masne kiseline u zrnu ovsu identifikovali palmitinsku, stearinsku, oleinsku i linolnu kiselinu sa ukupnim udelom od preko 95%, što je u saglasnosti sa našim rezultatima (Prilog 1 i tabela 14).

Korišćene mekinje odlikuje i povoljan odnos sadržaja polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina (PUFA/SFA), koji je daleko iznad preporučenog odnosa (minimum 0,4) definisanog od strane Svetske zdravstvene organizacije (WHO/FAO) u okviru preporuka o „balansiranoj ishrani” (Anon, 1994; FAO, 2008). Značaj povoljnosti odnosa PUFA/SFA proizilazi iz činjenice da prisustvo velikih količina zasićenih masnih kiselina u ishrani predstavlja uzrok srčanih oboljenja i nekih kancera (Wood i sar., 2008).

Minerali se akumuliraju omotaču zrna i ljusci žitarica (Arendt i Zannini, 2013), te je, stoga, njihova koncentracija u mekinjama visoka. U mineralnom sastavu mekinja pšenice i ovsu dominiraju makroelementi K, Mg i Ca (tabela 15). Dobijeni rezultati u skladu su sa literaturnim podacima Fardeta (2010), koji je, pored mineralnog sastava, ustanovio sadržaje niza bioaktivnih komponenata pšeničnih mekinja i Ekholma i saradnika (2003), koji su odredili sadržaje minerala u ovsenim mekinjama.

Tabela 15. Mineralni sastav pšeničnih i ovsenih mekinja (mg/kg)

Mineral	Pšenične mekinje	Ovsene mekinje
Ca	598,69 ± 9,15 ^a	632,36 ± 13,45 ^b
K	8248,27 ± 20,92 ^b	5849,97 ± 15,21 ^a
Mg	4214,04 ± 73,45 ^b	2388,83 ± 65,33 ^a
Fe	139,23 ± 2,81 ^b	73,35 ± 0,94 ^a
Na	20,88 ± 1,57 ^a	40,99 ± 1,82 ^b
Cu	9,38 ± 0,71 ^b	4,67 ± 0,16 ^a
Zn	86,85 ± 0,77 ^b	34,58 ± 0,45 ^a
Mn	131,28 ± 1,68 ^b	44,04 ± 1,23 ^a

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ($n = 3$) ± standardna devijacija.

Srednje vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

4.1.2. FUNKCIONALNE KARAKTERISTIKE PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA

S obzirom da polifenoli zauzimaju značajno mesto u grupi bioaktivnih jedinjenja pšenice i ovsa, ekstrakti mekinja ovih žitarica ispitani su sa aspekta sadržaja i profila polifenolnih kiselina, a određena im je i antioksidativna aktivnost na DPPH[·].

Količina polifenola u ispitivanom ekstraktu zavisi od načina i uslova ekstrakcije (Zhou i Yu, 2004), od primjenjenog rastvarača (Møller i sar., 1999; Zhou i Yu, 2004), kao i od primjenjene hidrolize kako bi se osloboidle i kvantifikovale fenolne kiseline koje se nalaze u vezanom obliku (Kim i sar., 2006).

Za ekstrakciju polifenolnih jedinjenja koriste se različiti rastvarači, kao što su etanol, metanol, aceton, kao i njihovi vodeni rastvori. U literaturi se spominju sledeći rastvarači za ekstrakciju polifenolnih jedinjenja iz žitarica: apsolutni etanol (Yu i sar., 2002; Zhou i Yu, 2004), 95% etanol (Onyeneho i Hettiarachcry, 1992), 80% etanol (Zielinski i Kozlowska, 2000; Adom i Liu, 2002), 70% etanol (Zhou i Yu, 2004), 80% aceton (Zielinski i Kozlowska, 2000), 50% aceton (Zhou i Yu, 2004), 80% metanol (Zielinski i Kozlowska, 2000), 70% metanol (Zhou i Yu, 2004) i voda (Baublis i sar., 2000; Zielinski i Kozlowska, 2000).

Pored metode ekstrakcije i primjenjenog rastvarača, na sadržaj i profil polifenola utiču i drugi faktori: genotip žitarica, uslovi gajenja, kao i interakcije između genotipa i uslova gajenja (Zielinski i Kozlowska, 2000; Yu i sar., 2015).

Iako literaturni navodi ukazuju na veću efikasnost metanola u odnosu na etanol u pogledu ekstrakcije polifenolnih jedinjenja, sve više se teži zameni metanola zbog njegove toksičnosti. U ovoj disertaciji kao ekstraktaciono sredstvo odabrana je smeša etanol:voda (70:30, v/v), kako na osnovu podataka objavljenih u radu Zhou i Yu (2004), koji su korišćenjem 70% etanola ostvarili veći prinos polifenola u poređenju sa apsolutnim etanolom kao ekstragensom, tako i na osnovu niske toksičnosti etanola i činjenice da se sakupljeni etanol nakon uparavanja ekstrakata može lako regenerisati.

4.1.2.1. Sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola pšeničnih i ovsenih mekinja

Konvencionalna metoda ekstrakcije – maceracija

S obzirom na literaturne navode koji upućuju na značajno prisustvo polifenola u pšeničnim i ovsenim mekinjama (Fardet, 2010; Patel, 2015; Ma i sar., 2018) sadržaj ovih bioaktivnih jedinjenja određen je u etanolnim ekstraktima pšeničnih i ovsenih mekinja, dobijenih konvencionalnom metodom ekstrakcije, maceracijom u trajanju od 24 h, opisanoj u poglavlju 3.5.2.1. Dobijeni rezultati su preračunati na suvu materiju polaznih uzoraka, mekinja, i prikazani u tabeli 16.

Tabela 16. Sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola pšeničnih i ovsenih mekinja

Sadržaj ukupnih polifenola	Pšenične mekinje	Ovsene mekinje
TPC (mg GAE/ g s.m. mekinja)	2,43 ± 0,12 ^b	1,59 ± 0,07 ^a
TPC – ukupni rastvorljivi polifenoli		

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ($n = 3$) ± standardna devijacija.

Srednje vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Dobijene vrednosti sadržaja ukupnih rastvorljivih polifenola su u saglasnosti sa postojećim literaturnim podacima. Abozed i saradnici (2014) su ispitali sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja u etanolnim, metanolnim i acetonskim ekstraktima pšeničnih mekinja. Sadržaj ukupnih polifenola 70%-nih ekstrakata pšeničnih mekinja, dobijen od strane navedenih autora, iznosio je 1,99–2,64 mg GAE/g uzorka, što je u saglasnosti sa rezultatima prikazanim u tabeli 16. Sadržaj polifenola u pšeničnim mekinjama je uporediv i sa rezultatima Iqbal i saradnika (2007), koji su ispitivali mekinje dobijene od različitih sorti pšenice, ustanovivši da se sadržaj ukupnih polifenola kreće u opsegu 2,12–3,37 mg GAE/g uzorka. Lu i saradnici (2015) su odredili polifenolni sadržaj acetonskih ekstrakata mekinja deset genotipova pšenice gajene na četiri različita lokaliteta, dobivši vrednosti sadržaja polifenola u rasponu 1,82–2,81 mg GAE/g uzorka.

Hitayezu i saradnici (2015) su ispitali sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola u šest frakcija mlevenja ovsu, te su za frakcije koje su sadržale mekinje dobili vrednosti od 681,9–981,0 µg GAE/g uzorka, koje su nešto niže od vrednosti dobijenih u ovoj disertaciji.

Ultrazvučno potpomognuta ekstrakcija (UAE)

Poboljšanje ekstrakcije ili bolje iskorišćenje bioaktivnih jedinjenja iz nekog matriksa (u smislu povećanja prinosa dobijenog ekstrakta) može se ostvariti, između ostalog, primenom novih tehnologija kao što su ultrazvučno potpomognuta ekstrakcija (UAE), mikrotalasno potpomognuta ekstrakcija (MAE), ekstrakcija fluidima pod pritiskom i ekstrakcija subkritičnom vodom (Wang i Weller, 2006). S obzirom da su troškovi opreme za ultrazvučno potpomognutu ekstrakciju niži u odnosu na troškove opreme ostalih novih tehnologija, ova vrsta predtretmana uzoraka je odabrana u cilju poboljšanja ekstrakcije polifenolnih jedinjenja iz pšeničnih i ovsenih mekinja. Takođe, UAE ekstrakcija omogućila je korišćenje rastvarača koji mogu da se koriste u hrani (*food grade sovents*), kao što su voda i etanol.

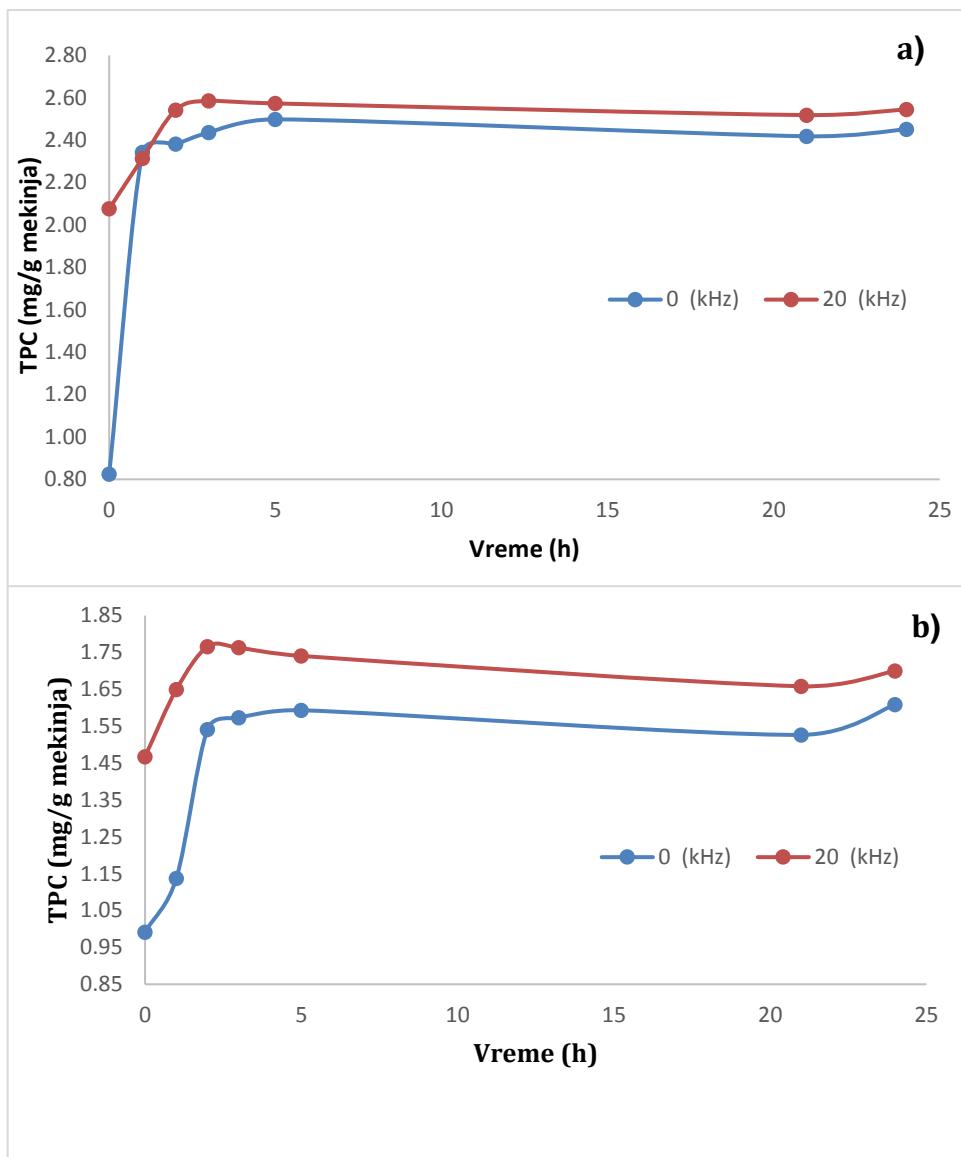
Pšenične i ovsene mekinje izložene su ultrazvučnom predtretmanu ultrazvučnom sondom u trajanju od 10 minuta, a primenjena frekvencija iznosila je 20 kHz. Nakon ultrazvučnog tretmana, uzorci su ekstrahovani, uz praćenje kinetike ekstrakcije u periodu od 0–24 h.

Dobijeni rezultati sadržaja ukupnih rastvorljivih polifenola prikazani su na slici 13. Primena ultrazvuka značajno je povećala TPC ekstrakata obe vrste mekinja. Ipak, najveće povećanje zabeleženo je u prvoj fazi ekstrakcije, nakon 10 minuta maceracije, odnosno ultrazvučnog predtretmana, a pre mešanja uzorka u trajanju od 24 h. Ultrazvučni tretman primenom frekvencije od 20 kHz povećao je početnu vrednost TPC ekstrakta pšeničnih mekinja za oko 150% (sa 0,83 mg/g na 2,08 mg/g nakon 0 h mešanja), odnosno za oko 70% u slučaju ekstrakta ovsenih mekinja (sa 0,99 mg/g na 1,47 mg/g nakon 0 h mešanja). Ekstrakt pšeničnih mekinja koji nije tretiran ultrazvukom (0 kHz) nakon 24 h ekstrakcije maceracijom sadržao je 2,45 mg/g ukupnih polifenola, dok je ekstrakt ultrazvučno netretiranih ovsenih mekinja odlikovao sadržaj ukupnih polifenola od 1,61 mg/g. Sagledavajući sve navedene rezultate može se zaključiti da je slična efikasnost ekstrakcije postignuta primenom ultrazvučnog tretmana u trajanju od 10 min i konvencionalnom ekstrakcijom rastvaračem u trajanju od 24 h (17,78% veći prinos za pšenične i 9,52% za ovsene mekinje nakon 24 h mešanja u odnosu prinos dobijen nakon 10 minuta primene ultrazvuka).

Ovo praktično znači da je uz pomoć UAE moguće značajno skratiti potrebno vreme ekstrakcije polifenolnih jedinjenja, što je posebno značajno u industrijskoj proizvodnji ekstrakata sa potencijalnom primenom u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji.

Poboljšanje ekstrakcije primenom ultrazvučnog predtretmana pripisuje se efektima kavitacije ostvarene u rastvaraču prilikom prolaska ultrazvučnog talasa (Luque-Garcia i De Castro, 2003). Naime, prilikom prolaska ultrazvučnih talasa kroz određeni medijum dolazi do niza naizmeničnih kompresija i dekompresija molekula, te do formiranja mehurića gasa, a nakon toga i do njihovog pucanja tj. implozije. Smanjenje potrebnog vremena trajanja ultrazvučne ekstrakcije može se prepisati bržem razaranju ćelijskih zidova matriksa usled promena temperature i pritiska koji su prouzrokovani pucanjem mehurića gasa, te lakšem prodiranju rastvarača u matriks uzorka povećanjem kontaktne površine između čvrste i tečne faze. Kod klasične maceracije, ekstrakcija polifenolnih komponenti odvija se po mehanizmu normalne difuzije kroz ćelijske zidove, što zahteva duže vreme ekstrakcije (Vinotoru i sar., 1997).

Prema većini naučnih radova primena UAE dovodi do povećanja prinosa ekstrakcije uz smanjenje vremena ekstrakcije u poređenju sa standardnim ekstrakcionim tehnikama (Roselló-Soto i sar., 2015). Tabaraki i saradnici (2011) su ispitali ekstrakciju polifenolnih jedinjenja iz pirinčanih mekinja i ustanovili povećanje prinosa za 268% uz korišćenje UAE u poređenju sa konvencionalnom ekstrakcijom. Ovi autori su koristili ultrazvučni tretman od 30 kHz i 140 W, temperaturu ekstrakcije od 40–60 °C, vreme ekstrakcije od 15–45 minuta i vodeni rastvor etanola kao rastvarač (odnos etanol:voda je iznosio 50–90:50–10). Wang i saradnici (2008) su primenili RSM kako bi istovremeno ispitali uticaj više promenljivih (koncentracija etanola (43–77%), temperatura ekstrakcije (33–67 °C) i trajanje ekstrakcije (11–29 minuta)) na sadržaj ukupnih polifenola ekstrakata pšeničnih mekinja tretiranih primenom UAE. Pri optimalno određenim uslovima UAE (64% etanol, 60 °C i 25 minuta) dobijen je sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola od $3,12 \pm 0,03$ mg GAE/g mekinja.



Slika 13. Promena sadržaja ukupnih polifenola (TPC) tokom vremena ekstrakcije:
a) pšenične mekinje i b) ovsene mekinje

Iako je primena ultrazvučnog predtretmana poboljšala ekstrakciju fenolnih komponenti iz pšeničnih i ovsenih mekinja, a vreme mešanja unapredilo ekstrakciju polifenola (1–5 h za pšenične, odnosno 1–3 h za ovsene mekinje), produžavanje ekstrakcije preko 5 h za pšenične mekinje, odnosno preko 3 h za ovsene mekinje nije dovelo do poboljšanja efikasnosti u odnosu na kraća vremena ekstrakcije (slika 13).

Ispitujući uticaj UAE na kinetiku ekstrakcije fenolnih komponenti iz ovsenih mekinja, Chen i saradnici (2018) su utvrdili da primena UAE povećava početnu brzinu ekstrakcije što je, takođe, u saglasnosti sa rezultatima ove teze.

Rezultati dobijeni u ovom delu doktorske disertacije predstavljaju polaznu osnovu za dalja ispitivanja sa ciljem utvrđivanja optimalnih uslova za UAE polifenolnih jedinjenja iz pšeničnih i ovsenih mekinja. Za postizanje još veće efikasnosti ekstrakcije polifenolnih jedinjenja potrebno je sprovesti optimizaciju parametara ekstrakcije (primenjeno ekstrakciono sredstvo, dužina trajanja predtretmana ultrazvukom, temperatura ekstrakcije, snaga ultrazvuka, frekvencija i distribucija ultrazvučnih talasa).

4.1.2.2. HPLC analiza sadržaja polifenolnih jedinjenja pšeničnih i ovsenih mekinja

U ekstraktima pšeničnih i ovsenih mekinja primenom visokopritisne tečne hromatografije (HPLC) identifikovano je i kvantifikovano prisustvo sedam polifenolnih jedinjenja (tabela 17, slike 14 i 15). Identifikovane su i kvantifikovane galna kiselina (1), *p*-hidroksibenzoeva kiselina (2), vanilinska kiselina (3) i kafena kiselina (4) na 280 nm, a *p*-kumarinska kiselina (5), sinapinska kiselina (6) i ferulna kiselina (7) na 320 nm.

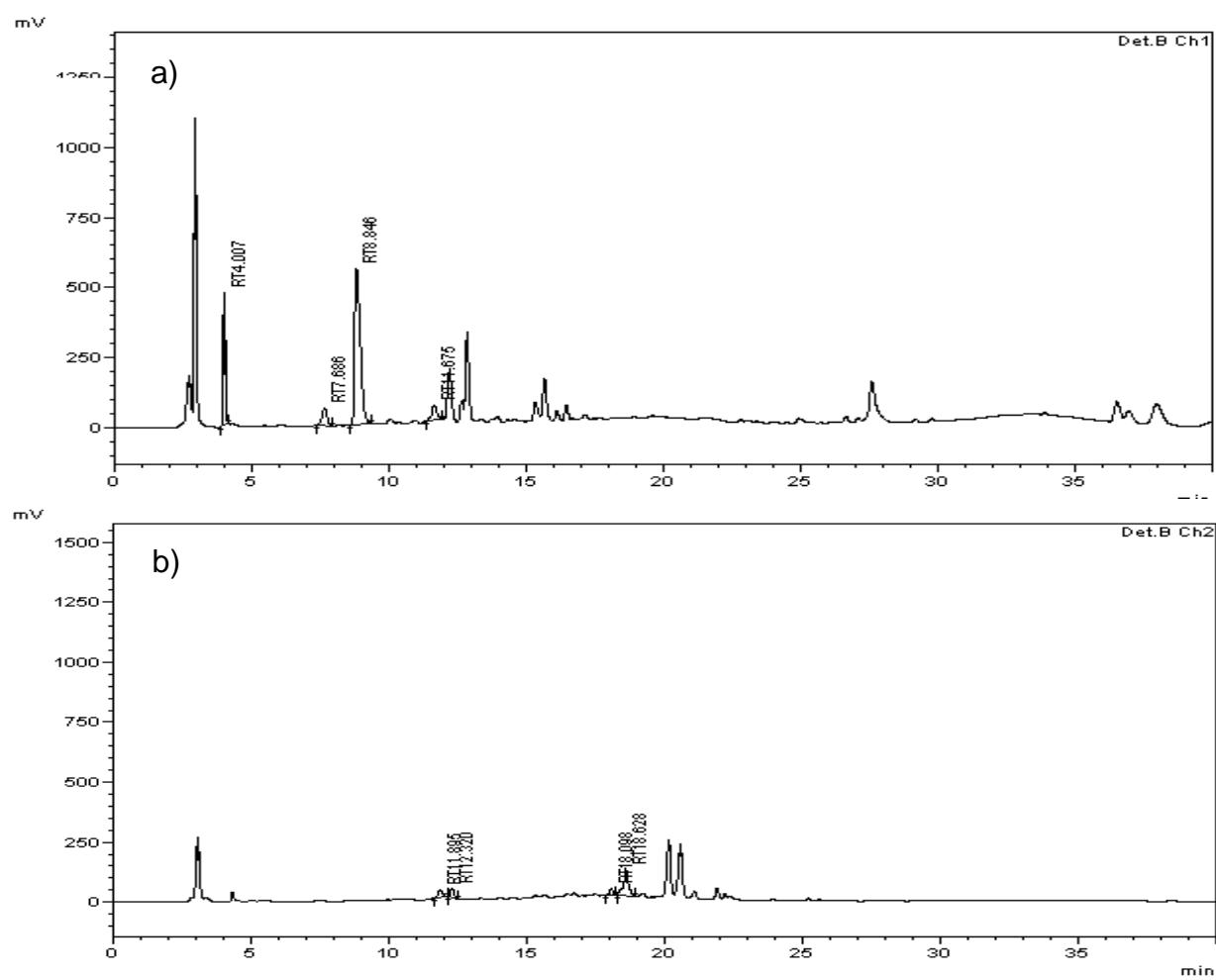
Tabela 17. Sastav polifenolnih jedinjenja u pšeničnim i ovsenim mekinjama

Pik Jedinjenje	Pšenične mekinje		Ovsene mekinje	
	t_R (min)	Količina (µg/g s.m.)	t_R (min)	Količina (µg/g s.m.)
1 Galna kiselina	4,01	92,61 ± 4,03 ^b	4,35	23,42 ± 0,90 ^a
2 <i>p</i> -Hidroksibenzoeva kiselina	7,69	56,04 ± 2,33 ^b	9,32	41,02 ± 1,79 ^a
3 Vanilinska kiselina	8,85	551,51 ± 16,84 ^b	10,42	5,60 ± 0,17 ^a
4 Kafena kiselina	11,68	12,57 ± 0,53 ^b	11,89	2,27 ± 0,07 ^a
5 <i>p</i> -Kumarinska kiselina	12,24	35,14 ± 0,95 ^b	12,32	2,12 ± 0,07 ^a
6 Sinapinska kiselina	16,49	23,41 ± 0,70 ^b	18,1	2,76 ± 0,09 ^a
7 Ferulna kiselina	15,7	41,86 ± 1,61 ^b	18,63	10,15 ± 0,39 ^a
Ukupan sadržaj:		813,15 ± 27,00 ^b		87,33 ± 3,48 ^a

t_R – retenciono vreme

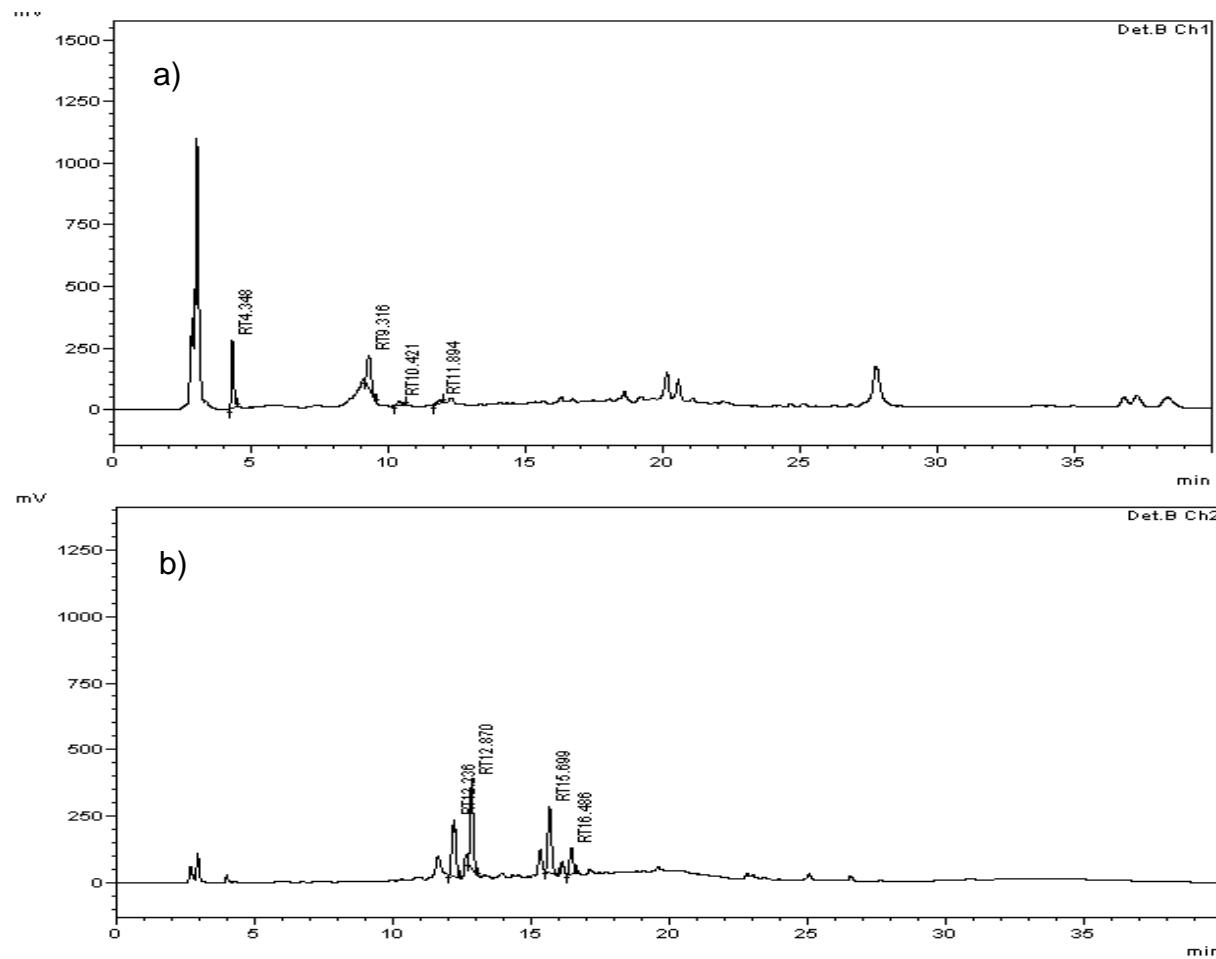
Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (n =3) ± standardna devijacija.

Srednje vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju (p < 0,05).



Slika 14. Hromatogrami polifenolnih jedinjenja ekstrakata pšeničnih mekinja:

a) na 280 nm i b) na 320 nm



Slika 15. Hromatogrami polifenolnih jedinjenja ekstrakata ovsenih mekinja:

a) na 280 nm i b) na 320 nm

Identifikovana jedinjenja se mogu podeliti na derivate cimetne kiseline (*p*-kumarinska kiselina, ferulna kiselina, kafena kiselina i sinapinska kiselina) i hidroksibenzoeve kiseline (galna kiselina, *p*-hidroksibenzoeva kiselina i vanilinska kiselina). Poznato je da se fenolne kiseline u mekinjama nalaze u slobodnom i vezanom obliku. Ipak, većina fenolnih kiselina je vezana estarskim vezama za čelijski zid (Liyana-Pathirana i Shahidi, 2006).

Imajući u vidu da analitičke procedure pripreme ekstrakata imaju značajan uticaj na sadržaj fenolnih kiselina, kao i na antioksidativni potencijal (Kim i sar., 2016), te da metod hidrolize utiče na prinos i profil fenolnih kiselina, a da se vezane fenolne kiseline mogu oslobođiti kiselom, baznom ili enzimskom hidrolizom (Bartolomé i Gómez-Cordovés, 1999), važno je prilikom poređenja rezultata obratiti pažnju na pripremu ekstrakata.

Pregledom dostupne literature koja se bavi ispitivanjem fenolnih jedinjenja pšeničnih mekinja utvrđeno je da je u toj vrsti mekinja najzastupljenija ferulna kiselina (Lu i Luthria, 2016). Zhou i Yu (2004) navode da udeo ferulne kiseline u ukupnim identifikovanim fenolnim kiselinama pšeničnih mekinja iznosi 57–78%. Ferulna kiselina se, međutim, u pšeničnim mekinjama nalaizi 99% u vezanoj formi (Lu i sar., 2014). U svetlu ovoga, a uzimajući u obzir da je priprema ekstrakata u okviru ove disertacije vršena etanolom (70%), te da nije urađena hidroliza uzorka koja bi dovela do oslobođanja vezanih fenolnih kiselina, pa i ferulne, rezultati dobijeni u tabeli 17 uporedivi su sa publikovanim rezultatima sadržaja fenolnih kiselina u nehidrolizovanim ekstraktima mekinja (Kim i sar., 2006). Ovi autori su kvantifikovali pet fenolnih kiselina – ferulnu, siringinsku, *p*-hidroksibenzoevu, vanilinsku i kumarinsku kiselinu u ekstraktima nehidrolizovanih pšeničnih mekinja, čiji su sadržaji u skladu sa rezultatima prikazanim u okviru ove teze.

U metanolnim ekstraktima nehidrolizovanih pšeničnih mekinja, Kim i saradnici (2006) su identifikovali ferulnu, vanilinsku i siringinsku kiselinu, a rezultati ovih autora su uporedivi sa rezultatima prikazanim u tabeli 17, pri čemu je dominantna vanilinska kiselina. Udeo derivata hidroksibenzoeve kiseline u ukupnim fenolnim jedinjenjima određenim metodom iz poglavlja 3.5.2.4. iznosio je 86,10%, a vanilinska kiselina prisutna u količini od $55,15 \pm 1,68$ mg/100 g s.m. bila je dominantno jedinjenje iz ove klase.

U studiji Cai i saradnika (2012), kao dominantne fenolne kiseline u ovsu identifikovane su vanilinska, kafena, *p*-kumarinska i cimetna kiselina. Hitayezu i saradnici (2015) su kvantifikovali 136,8–193,2 µg/g slobodnih fenolnih kiselina u frakcijama mlevenja ovsu koje su sadržale mekinje, što premašuje sadržaje dobijene u ovoj disertaciji. Veći sadržaj slobodnih fenolnih kiselina ustanovljen od strane Hitayez i saradnika (2015) može da se objasni primenom različitih rastvarača za ekstrakciju, kao i razlikama u tipu i gajenju ovsu.

Alrahmany i saradnici (2013) su ispitivali uticaj tretmana sa četiri vrste polisaharidaze na povećanje sadržaja slobodnih fenolnih kiselina ovsenih mekinja. U kontrolnom uzorku ovsenih mekinja, uzorku koji nije tretiran enzimima, registrovan je sadržaj ukupnih fenolnih kiselina (cimetna, ferulna, vanilinska, *p*-kumarinska i kafena kiselina) od 121,7 µg/g uzorka, što je, takođe, veći sadržaj od našeg rezultata za oko 40%.

Chen i saradnici (2018) su, ispitujući uticaj različitih tipova ekstrakcija na sadržaj i profil polifenolnih jedinjenja u ovsenim mekinjama, sprovedli ekstrakciju sa 80% etanolom na temperaturi od 20 °C i kvantifikovali 80,03 µg/g slobodnih fenolnih kiselina, što je u skladu sa rezultatima iz tabele 17.

Vrednosti dobijene za sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola primenom spektrofotometrijske metode znatno su veće u odnosu na vrednosti dobijene HPLC metodom (3,49 puta za pšenične mekinje i čak 18,32 puta za ovsene mekinje) (tabele 16 i 17). Ovakvi rezultati nisu iznenadjujući, jer je spektrofotometrijska Folin-Ciocalteu metoda relativno nespecifična i nejednakost osetljiva na prisustvo različitih fenolnih jedinjenja, a, takođe, i prisustvo različitih interferirajućih jedinjenja u uzorku može da utiče na sadržaj polifenola.

Takođe, prema većini literaturnih podataka, jedna od najznačajnijih klasa polifenola u ovsu, pa i u ovsenim mekinjama, su avenantramidi. S obzirom da primenjena HPLC metoda nije obuhvatala avenantramide, kvantifikacija ovih jedinjenja nije izvršena. Pretpostavlja se da je upravo to razlog za toliko veći (18,32 puta) sadržaj ukupnih polifenola mekinja ovsu određenih spektrofotometrijski u odnosu na HPLC metodu. U prilog ovoj pretpostavci ide rezultat Hitayezu i saradnika (2015), koji su kvantifikovali 331,3-775,5 µg/g avenantramida u mekinjama ovsu.

4.1.2.3. ANTIRADIKALSKA AKTIVNOST EKSTRAKATA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA NA DPPH·

DPPH· je stabilni slobodni radikal koji u metanolnom rastvoru daje tamnoljubičastu boju. Kada antioksidansi koji se nalaze u ekstraktu reaguju sa DPPH· dolazi do konverzije stabilnog DPPH· u redukovani neutralni DPPH-H, a intenzitet obojenja se smanjuje i menja u žuto, što se registruje spektrofotometrom merenjem apsorbancije na 517 nm. Antioksidativna aktivnost se izražava kao IC₅₀ vrednost, koja odgovara koncentraciji ispitivanog ekstrakta koja je potrebna da neutrališe 50% slobodnih radikala u model sistemu. Niže vrednosti IC₅₀ ukazuju na bolju antiradikalnu aktivnost ekstrakta na DPPH·.

Tabela 18. Antiradikalska aktivnost ekstrakata pšeničnih i ovsenih mekinja na DPPH.

Antiradikalna aktivnost na DPPH·	Pšenične mekinje	Ovsene mekinje
IC ₅₀ (mg/ml)	28,94 ± 2,15 ^a	56,68 ± 3,58 ^b

IC₅₀ – koncentraciju ekstrakta pri kojoj je neutralisano 50% DPPH·

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ($n = 3$) ± standardna devijacija.

Srednje vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Dostupni podaci iz literature koja se bavi antioksidativnim potencijalom žitarica i njihovih frakcija mlevenja uglavnom se odnose na metanolne, etanolne ili acetonske ekstrakte uzorka koji nisu hidrolizovani kako bi se oslobostile konjugovane fenolne kiseline, pa je na ovaj način određena antioksidativna aktivnost značajno manja u odnosu na onu koju bi ispoljio ekstrakt prethodno hidrolizovanog materijala (Sun i Ho, 2008).

Imajući u vidu veći sadržaj ukupnih polifenola u pšeničnim mekinjama u poređenju sa ovsenim (tabela 16), bilo je očekivano da pšenične mekinje ispolje veći antioksidativni potencijal u poređenju sa ovsenim, što i potvrđuje manja IC₅₀ vrednost ekstrakta pšeničnih mekinja (tabela 18).

S obzirom da je većina fitohemikalija locirana u omotaču i aleuronском sloju žitarica (Baublis i sar., 2000), sporedni proizvodi dobijeni tokom mlevenja žitarica, odnosno mekinje, poseduju veći antioksidativni potencijal u poređenju sa celim zrnom. Liana-Pathirana i Shahidi (2007) su potvrdili da pšenične mekinje poseduju izraženija antioksidativna svojstva u odnosu na ostale frakcije mlevenja pšenice, koja su u korelaciji sa najvišim sadržajem fenolnih materija u mekinjama, pre svega sa nivoom ferulne kiseline.

4.1.3. MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA

Mikrobiološki kvalitet mekinja namenjenih za ljudsku upotrebu, odnosno za primenu u industriji hrane, nije definisan nacionalnim i međunarodnim pravilnicima i vodičima. Ipak, neophodno je da ove sirovine za proizvodnju gelova namenjenih dobijanju zamenjivača masti budu mikrobiološki ispravne, jer su predodređene za proizvodnju ingredijenta koji se koristi u proizvodnji keksa. Stoga su u tabeli 19 prikazani rezultati ispitivanja mikrobiološke ispravnosti pšeničnih i ovsenih mekinja.

Tabela 19. Mikrobiološki kvalitet pšeničnih i ovsenih mekinja

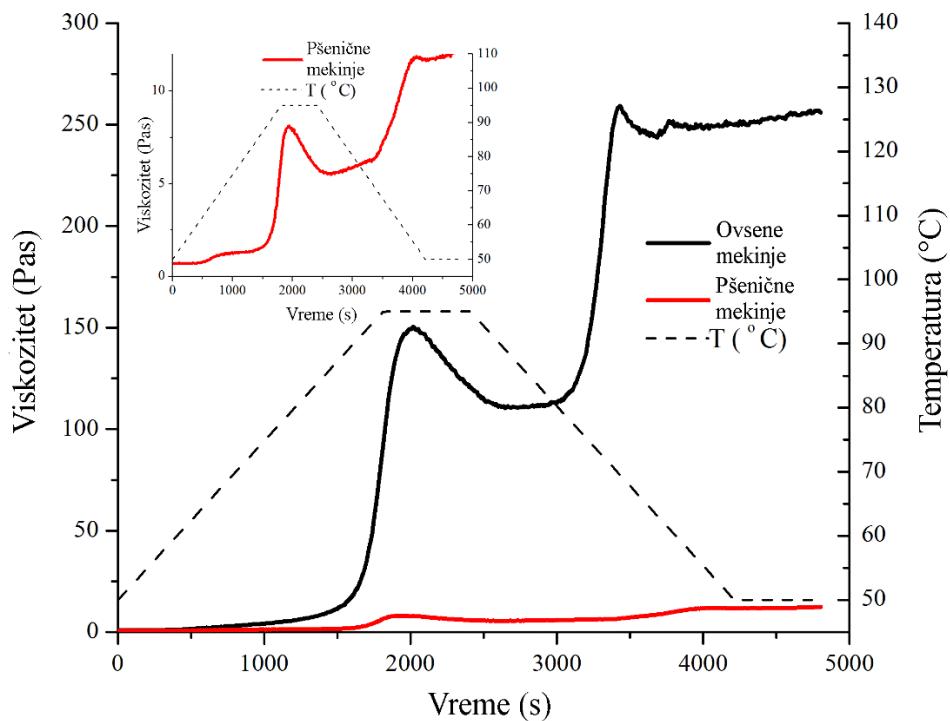
Mikroorganizmi	Broj živih čelija (cfu/g)	
	Pšenične mekinje	Ovsene mekinje
Kvasci i plesni	200	200
Enterobacteriaceae	< 10	360
<i>Bacillus cereus</i>	< 100	< 100
Koagulaza pozitivne stafilokoke	< 100	< 100
Sulfitoredukuće bakterije	< 10	< 10

Broj suspektnog *B. cereus*, koagulaza pozitivnih stafilokoka i anaerobnih sulfitoredukujućih bakterija u pšeničnim i ovsenim mekinjama bio je ispod granice detekcije metode (tabela 19), dok prisustvo *Salmonella* spp. i *L. monocytogenes* u isptanim uzorcima mekinja nije detektovano. Broj Enterobacteriaceae u pšeničnim mekinjama bio je ispod granice detekcije, dok je u ovsenim mekinjama registrovano njihovo prisustvo u relativno malom broju (tabela 19).

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su pšenične i ovsene mekinje sa mikrobiološkog aspekta potpuno bezbedne za primenu u proizvodnji keksa, s obzirom da nisu izolovani ispitivani patogeni mikroorganizmi i da je broj kvasaca i plesni bio daleko manji od 10000 cfu/g, koliko je propisano za žita i mlinske proizvode u članu 45. Pravilnika o mikrobiološkoj ispravnosti namirnica u prometu (Sl. list SRJ, br. 26/93, 53/95 i 46/2002). Enterobacteriaceae, iako prisutne u ovsenim mekinjama, ne mogu da prežive proces proizvodnje gelova od mekinja, koji podrazumeva topotni tretman u trajanju od pola sata, niti kasnije temperaturu pečenja keksa (Lee i Riemann, 1971).

4.1.4. VISKOZITETNI PROFILI PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA

Viskozitetni profili pšeničnih i ovsenih mekinja praćeni su uz zagrevanje i naknadno hlađenje suspenzije 17,8 g mekinja u 100 g destilovane vode, kako je opisano u poglavlju 3.5.5, a prikazani su na slici 16. Temperature želatinizacije skrobne komponente u slučaju oba sistema bile su veće od 85 °C, a za pšenične mekinje su bile više u odnosu na ovsene. Može se uočiti da su na temperaturama većim od temperatura želatinizacije ovsene mekinje imale mnogo veće vrednosti viskoziteta u odnosu na pšenične mekinje. Ovakvo ponašanje može se objasniti značajno većim ($p < 0,05$) sadržajem skroba u ovsenim mekinjama (tabela 13). U fazi hlađenja, oba uzorka okarakterisana su naglim porastom viskoziteta usled izraženog fenomena retrogradacije skroba.



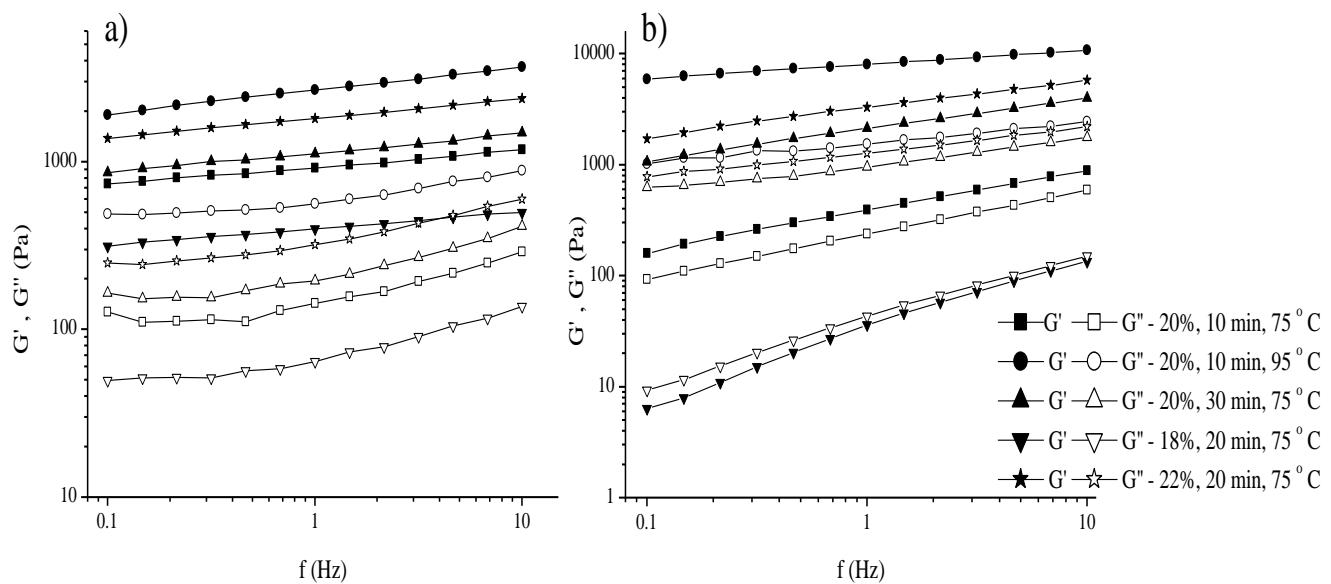
Slika 16. Profili pastiranja pšeničnih i ovsenih mekinja

4.2. REOLOŠKE OSOBINE GELOVA OD MEKINJA - DINAMIČKA OSCILATORNA MERENJA

Mekinje žitarica mogu da podražavaju osobine masti u prehrambenim proizvodima zbog prisustva visokog sadržaja vlakana koja imaju sposobnost da apsorbuju značajne količine vode i na taj način ispoljavaju svojstva želiranja/zgrušnjavanja. Poznato je da primena mehaničke sile i hidrotermičkog tretmana može da dovede do promena u fizičkim osobinama mekinja, hemijskom sastavu i aktivnosti enzima, što može da utiče na funkcionalnost sistema (Hemdane i sar., 2016).

U ovom istraživanju primjenjen je hidrotermički tretman u kombinaciji sa mehaničkom silom kako bi se modifikovala želatinozna svojstva pšeničnih i ovsenih mekinja. Dobijeni gelovi su okarakterisani primenom *frequency sweep* testa, nedestruktivne tehnike koja je omogućila merenja bez izazivanja strukturalnih oštećenja uzorka, što je dalje omogućilo dobijanje informacija o strukturi i makromolekulskoj organizaciji uzorka (Gunasekaran i Ak, 2000). Reološka ponašanja odabralih gelova prikazana su na slici 17.

Prema rezultatima *frequency sweep* testa, povećanje koncentracije mekinja, temperature i vremena homogenizacije dovelo je do povećanja čvrstoće gela, što se vidi iz povećanja vrednosti elastičnog modula (G'). Primena hidrotermičkog i mehaničkog tretmana dovela je do hidratacije makromolekula, naročito vlakana, i do želatinizacije skroba (Ralet i sar., 1990; Min i sar., 2010b). Prisustvo veće količine želatiniziranog skroba je odgovorno za veću apsorpciju vode i povećanje efekta ugušćivanja uzorka kod onih koji su pripremani sa visokom koncentracijom mekinja, kao i onih pripremljenih na višim temperaturama i uz duža vremena homogenizacije.



Slika 17. Viskoelastične osobine gelova: a) od pšeničnih mekinja; b) od ovsenih mekinja

Sve gelove pšeničnih mekinja karakteriše mehanički spektar tipičan za gel sisteme, s obzirom da je G' modul bio mnogo veći od G'' modula u celom opsegu ispitanih frekvencija. Moduli gelova su bili zavisni od frekvencije, a odnos G'/G'' je bio veći od 1, ali manji od 10. Sa reološke tačke gledišta ovakvo ponašanje sistema može biti klasifikovano kao slaba gel struktura (Clark i Ross-Murphy, 1987). Nasuprot tome, sposobnost želiranja ovsenih mekinja je bila manja pri nižim koncentracijama mekinja, nižim temperaturama i kraćim vremenima homogenizacije. Uzorak gela ovsenih mekinja pripremljen sa 18% mekinja, tretiran na 75 °C tokom 20 minuta, imao je relativno veliku zavisnost modula od frekvencije, praćen vrednošću $\tan \delta > 1$, što je karakteristično za koncentrovane rastvore (Clark i Ross-Murphy, 1987).

Povećanje koncentracije mekinja u gelovima dovelo je do promene u ponašanju gelova ovsenih mekinja od pretežno tečnog stanja do strukture gela. Generalno, u poređenju sa gelovima pšeničnih mekinja, gelovi ovsenih mekinja imali su veće vrednosti $\tan \delta$, posebno pri nižim koncentracijama mekinja u gelu i primenjenim nižim temperatrama i kraćim vremenima homogenizacije. Vrednost $\tan \delta (G'/G'')$ na frekvenciji od 1 Hz, koja predstavlja meru relativnog doprinosa viskoznih komponenti mehaničkim osobinama materijala, iznosila je 0,156 za gel pšeničnih mekinja pripremljen pod sledećim uslovima: koncentracija mekinja od 20%, temperatura homogenizacije 75 °C tokom 10 minuta, dok

je za gel ovsenih mekinja pripremljen pod istim uslovima vrednost δ (G'/G'') na frekvenciji od 1 Hz iznosila 0,605. Dobijeni rezultati ukazuju da su oba gela imala dominantno elastično ponašanje, ali su ovseni gelovi imali manje izražena elastična svojstva u odnosu na pšenične gelove.

Sistemi pripremljeni sa ovsenim mekinjama pri uslovima koji podrazumevaju visoku koncentraciju mekinja, visoku temperaturu homogenizacije i duže vreme homogenizacije formirali su gelove sa sličnom ili čak i većom jačinom od pšeničnih gel sistema. Razlike u reološkim osobinama gelova od mekinja su prouzrokovane razlikama u njihovom sastavu. Mekinje pšenice sadrže veću količinu vlakana od ovsenih mekinja, što je sagledivo iz tabele 13. Ovaj rezultat je u skladu sa rezultatima koje su objavili Gangloff (1992) i Kaur i saradnici (2011). Rastvorljivi arabinoksilani su odgovorni za visok viskozitet pšeničnih mekinja u vodi (Autio, 2006). S druge strane, ovsene mekinje se razlikuju od pšeničnih, jer su obogaćene subaleuronskim slojem. Čelijski zidovi ovih mekinja su bogati β -glukanima koji u vodenim rastvorima obrazuju sisteme visokog viskoziteta (MacDougall i Selvendran, 2001; Autio, 2006).

Kada se primeni dejstvo spoljašnje sile na mekinje, samo voda koja je snažno vezana vodoničnim vezama u nanoporama mekinja utiče na sposobnost zadržavanja vode od strane mekinja (Hemdane i sar., 2016). Zahvaljujući visokom sadržaju vlakana, tj. velikom broju raspoloživih hidroksilnih grupa, pšenične mekinje mogu da vežu vodu i formiraju gelove i pri nižim koncentracijama mekinja u gelu, kao i nižim temperaturama homogenizacije. Ipak, s obzirom na činjenicu da ovsene mekinje imaju veći sadržaj skroba u odnosu na pšenične mekinje (tabela 13), na višim temperaturama i dužem vremenu homogenizacije dolazi do izraženije želatinizacije skroba u ovsenim mekinjama i formiranja gelova. Izražena želatinizaciona svojstva ovsenih mekinja mogu se jasno uočiti sa slike 16.

4.3. OPTIMIZACIJA POSTUPKA PRIPREME GELOVA OD PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA PRIMENOM METODE ODZIVNE FUNKCIJE

Imajući u vidu da je glavna ideja ovog dela doktorske disertacije bila da se ispita podobnost primene gelova od mekinja kao zamenjivača masti, napravljeni su GMM model sistemi umešavanjem gelova od mekinja sa biljnom masnoćom u odnosu 1:1 (g/g). Ispitivanje uticaja procesnih parametara (koncentracija mekinja, vreme homogenizacije i temperatura homogenizacije) sprovedeno je primenom metode odzivne funkcije (RSM), koja predstavlja jednu od najčešće korišćenih metoda statistički planiranih eksperimenata (Myers i Montgomery, 2002). Naime, primena klasičnog pristupa eksperimentalnom radu istraživanja za optimizaciju sistema sa više promenljivih ulaznih veličina obično posmatra postupno svaki pojedinačni faktor umesto da ih sve testira istovremeno. Ovakav pristup uključuje dosta napora i vremena, a u slučajevima kada su interakcije faktora značajne nije u potpunosti tačan. Najefikasniji put povećanju tačnosti istraživanja i skraćivanju vremena njegovog trajanja je planiranje eksperimenta (*design of experiments, DOE*). Osnovna prednost RSM je činjenica da je potreban manji broj eksperimentalnih merenja kako bi se obezbedio dovoljan broj informacija za dobijanje statističkih validnih rezultata. Po našem saznanju, ovo je prvi put da je korišćen RSM kako bi se optimizovali uslovi za proizvodnju zamenjivača masti na bazi mekinja žitarica.

Odabran je Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn sa sledećim procesnim parametrima: koncentracija mekinja (C), vreme homogenizacije (t) i temperatura homogenizacije (T), koji su varirani na tri nivoa sa dva ponavljanja u centralnoj tački, dajući ukupno 15 eksperimenata – GMM model sistema (tabele 9 i 10).

Kao odzivi odabrani su parametri smeša koji ukazuju na:

- snagu GMM model sistema (K') kao meru reoloških osobina, dobijenu dinamičkim oscilatornim merenjima pri malim deformacijama i
- čvrstoću GMM model sistema (F) kao meru teksturnih osobina, dobijenu merenjem tekture pri velikim deformacijama.

Rezultati dobijeni primenom pomenutog eksperimentalnog plana prikazani su u tabeli 20.

Tabela 20. Vrednosti odziva modela dobijenih pri različitim kombinacijama eksperimentalnih faktora

Br. eksperimenta	Vrednosti dobijenih odziva							
	Eksperimentalni faktori			Pšenični GMM model sistemi		Ovseni GMM model sistemi		
	C (%)	t (min)	T (°C)	F (g)	K' (kPa)	F (g)	K' (kPa)	
1	18	10	85	450	15,0	575	8,8	
2	22	10	85	475	16,5	649	8,9	
3	18	30	85	378	18,8	517	9,1	
4	22	30	85	650	23,0	782	21,7	
5	18	20	75	334	8,7	364	5,9	
6	22	20	75	450	11,7	632	8,0	
7	18	20	95	580	17,0	689	17,9	
8	22	20	95	723	16,2	724	22,8	
9	20	10	75	371	5,2	504	3,8	
10	20	30	75	492	10,5	508	5,7	
11	20	10	95	682	12,0	688	15,2	
12	20	30	95	668	16,7	732	20,2	
13	20	20	85	685	20,1	789	11,2	
14	20	20	85	757	21,3	794	12,4	
15	20	20	85	721	20,7	797	12,0	

GMM model sistemi – model sistemi sa gelovima mekinja i bilnjom masnoćom (1:1)

Vrednosti dobijenih odziva su izražene kao srednja vrednost 4 ponavljanja.

4.3.1. REGRESIONE JEDNAČINE I ANALIZA VARIJANSE (ANOVA) MODELOVANIH ODZIVA

Da bi se ispitao uticaj nezavisnih promenljivih i njihove interakcije (koncentracija mekinja, vreme homogenizacije i temperatura homogenizacije) na zavisne promenljive (snagu sistema kao meru reoloških osobina GMM model sistema i čvrstoću kao meru teksturnih karakteristika GMM model sistema) i proverila prikladnost Box-Behnken-ovog dizajna u modelovanju i optimizaciji procesa dobijanja gela od mekinja, proverena je aproksimacija eksperimentalnih rezultata matematičkim modelom, polinomom drugog reda (*second order polinom, SOP*). Model i njegovi koeficijenti dobijeni su statističkom metodom višestruke regresione analize eksperimentalnih rezultata. Model daje funkcionalnu zavisnost između zavisnih i nezavisnih promenljivih, a sastoji se od linearnih i kvadratnih članova, kao i člana koji predstavlja interakciju ispitivanih promenljivih.

Statistička značajnost regresionih koeficijenata je određena pomoću Fisherovog testa (F-testa) sa nivoom značajnosti od 95%, a statistički značajni regresioni koeficijenti su dati u tabeli 21. Analiziranjem ovih koeficijenata može se zaključiti da su i snaga i čvrstoća sistema GMM model sistema sa obe vrste mekinja pozitivno zavisne od koncentracije mekinja, kao i od temperature i vremena homogenizacije.

Table 21. Koeficijenti regresionih jednačina za čvrstoću (F) i snagu (K') pšeničnih i ovsenih GMM model sistema

	Pšenični GMM model sistemi		Ovseni GMM model sistemi	
	F (g)	K' (kPa)	F (g)	K' (kPa)
Nulti član	721,00	20,70	793,33	12,24
Linearni članovi				
C	69,50	0,99	80,25	2,46
T	125,75	3,23	103,13	6,59
t	26,25	2,54	15,38	2,50
Interakcije				
C × t	61,75	/	47,75	3,13
C × T	6,75	-0,95	-58,25	0,70
t × T	-33,75	/	10,00	0,77
Kvadratni članovi				
C ²	-132,12	/	-84,17	/
T ²	-67,13	-7,26	-106,92	/
t ²	-100,63	-2,34	-78,42	/

GMM model sistemi – model sistemi sa gelovima mekinja i biljnom masnoćom (1:1)

/ – Koeficijenti koji nisu statistički značajni ($p < 0,05$).

U tabeli 22 su prikazani rezultati analize varijanse modelovanih odziva iz kojih se uočava značajnost uticaja faktora na ispitivane odzive. Kada su p vrednosti za određene članove odzivnog polinoma manje od 0,05, uticaj tih članova je statistički značajan. Najzačajniji uticaj ($p < 0,01$) na čvrstoću pšeničnog GMM model sistema imali su linearni članovi, temperatura i koncentracija, kao i kvadratni članovi sva tri faktora i nelinearni član C x t. Na snagu pšeničnog GMM model sistema najznačajniji uticaj ($p < 0,01$) imali su linearni i kvadratni članovi temperature i vremena i linearni član koncentracije. Na čvrstoću ovsenog GMM model sistema svi članovi su imali značajan uticaj ($p < 0,05$), dok su na snagu ovsenog GMM model sistema najznačajniji uticaj imali svi linearni članovi kao i nelinearni članovi C x t i C x T (tabela 22).

Table 22. Analiza varijanse (ANOVA) modelovanih odziva: za čvrstoću (F) i snagu (K') pšeničnih i ovsenih GMM model sistema

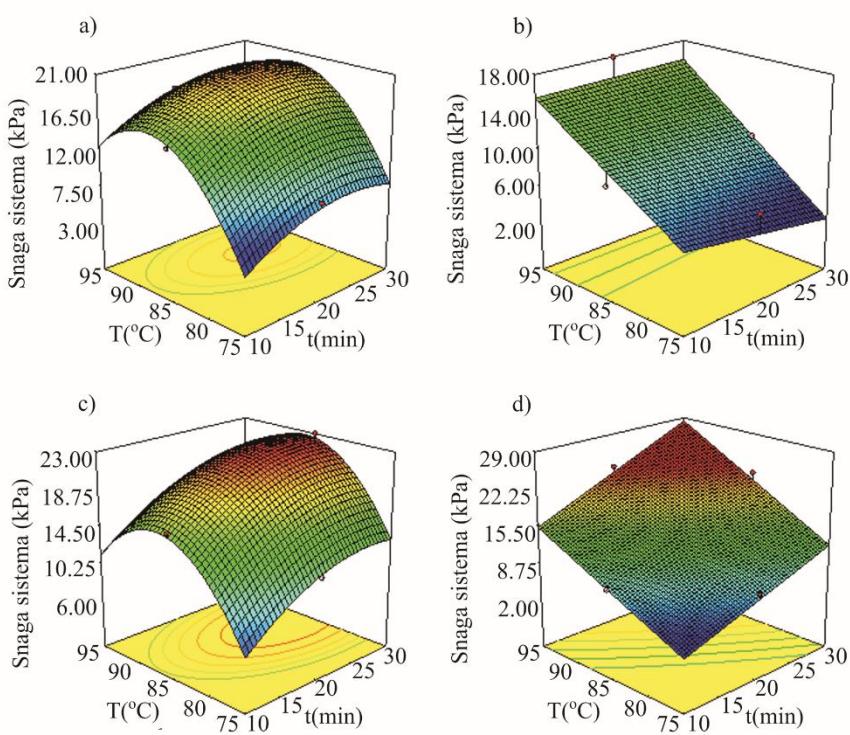
Pšenični GMM model sistemi								Ovseni GMM model sistemi								
	F (g)				K' (kPa)				F (g)				K' (kPa)			
	SS	df	F	p	SS	df	F	p	SS	df	F	p	SS	df	F	p
C	38642,00	1	66,57	0,0004	7,80	1	17,20	0,0089	51520,50	1	870,52	< 0,0001	48,51	1	28,69	0,0009
T	1.265E+05	1	217,92	< 0,0001	83,21	1	183,47	< 0,0001	85078,13	1	1437,54	< 0,0001	347,16	1	25,74	0,0039
t	5512,50	1	9,50	0,0274	51,51	1	113,59	0,0001	1891,13	1	31,95	0,0024	50,00	1	24,97	0,0041
C × t	15252,25	1	26,27	0,0037	1,82	1	4,02	0,1013	9120,25	1	154,10	< 0,0001	39,06	1	178,69	< 0,0001
C × T	182,25	1	0,3140	0,5994	3,61	1	7,96	0,0370	13572,25	1	229,33	< 0,0001	1,96	1	20,11	0,0065
t × T	4556,25	1	7,85	0,0379	0,0900	1	0,1985	0,6746	400,00	1	6,76	0,0483	2,40	1	1,01	0,3613
C ²	64456,67	1	111,04	0,0001	0,0052	1	0,0114	0,9189	26156,41	1	441,96	< 0,0001	6,65	1	1,24	0,3167
T ²	16636,67	1	28,66	0,0031	194,75	1	429,43	< 0,0001	42207,41	1	713,16	< 0,0001	0,7203	1	2,23	0,1955
t ²	37386,06	1	64,40	0,0005	20,17	1	44,49	0,0011	22704,64	1	383,63	< 0,0001	4,33	1	3,42	0,1236

GMM model sistemi – model sistemi sa gelovima mekinja i biljnom masnoćom (1:1); SS – suma kvadrata; df – stepen slobode; F – Fisherov test; p – p vrednost

U cilju lakšeg sagledavanja uticaja procesnih parametara na odzive, dobijeni rezultati prikazani su u vidu odzivnih površina na slikama 18 i 19.

Slika 18 grafički prikazuje uticaj procesnih parametara na reološke osobine mikroheterogenih sistema koji su sastavljeni od dve faze, masti i gelova mekinja. Ove osobine najviše zavise od osobina gelova mekinja, kako su ranije konstatovali Hadnađev i saradnici (2011), koji su ispitivali reološke karakteristike sistema masti i gela maltodekstrina.

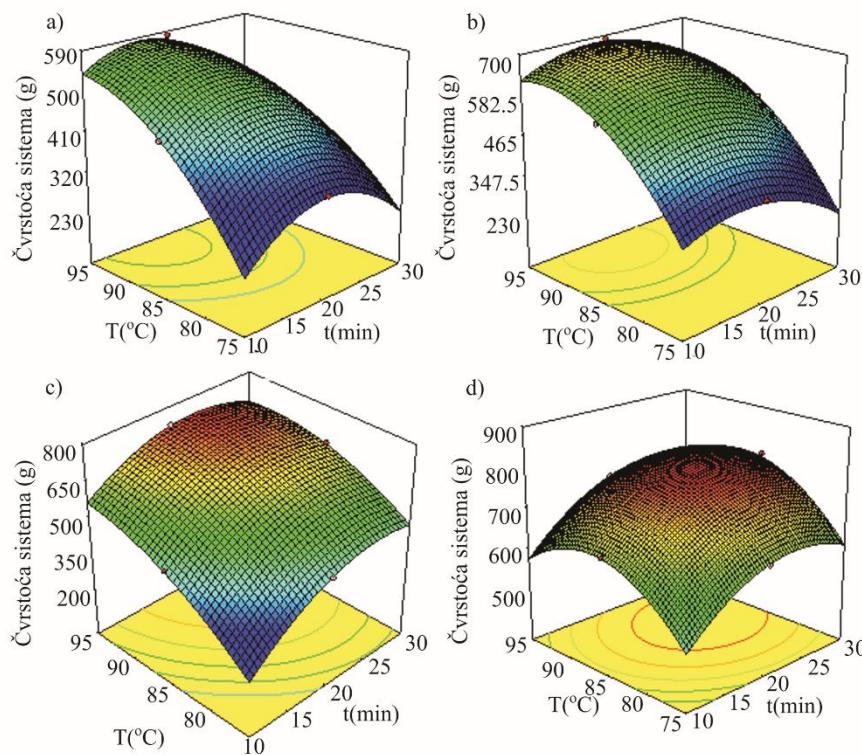
Analizirajući odzivne površine (slika 18) može se primetiti da povećanje vremena homogenizacije kod gelova sa 22% mekinja ima veliki uticaj na povećanje snage sistema. Kod gelova koji su pripremljeni sa niskom koncentracijom mekinja (18%), posebno kod gelova od ovsenih mekinja, formiraju se sistemi iste snage za sva ispitivana vremena homogenizacije, što ukazuje da povećanje vremena homogenizacije ne utiče na povećanje snage sistema.



Slika 18. Odzivne površine za snagu sistema u funkciji temperature i vremena homogenizacije pri koncentraciji mekinja od 18 g/100 g (a – pšenične mekinje; b – ovsene mekinje) i 22 g/100 g (c – pšenične mekinje; d – ovsene mekinje)

Jedan od glavnih problema prilikom zamene masti u prehrambenim proizvodima je uticaj zamenjivača masti na teksturu proizvoda. Naime, tokom primenjenih procesa pri proizvodnji hrane i tokom konzumiranja prehrambenih proizvoda dolazi do primene velikih napona pri kojima se narušava struktura proizvoda. Za razliku od dinamičnih oscilatornih merenja koja se sprovode pri malim deformacijama i u uslovima u kojima se ne narušava struktura, teksturne metode podrazumevaju analiziranje sistema pri velikim deformacijama. Stoga su teksturne osobine GMM sistema određene merenjem čvrstoće kao parametra tekture, koja je u dobroj korelaciji sa mazivošću (niže vrednosti čvrstoće ukazuju na bolju mazivost proizvoda).

Primena veće koncentracije mekinja (22%) i viših temperatura homogenizacije vodi do povećanja čvrstoće sistema, dok povećanje vremena homogenizacije sa 20 na 30 minuta, pri nižim koncentracijama mekinja (18%), rezultira smanjenjem čvrstoće (slika 19). Ova pojava pri produženom hidrotermičkom tretmanu je posebno naglašena kod gelova od pšeničnih mekinja kod kojih je čvrstoća uslovljena unakrsnim povezivanjem vlakana, za razliku od gelova od ovsenih mekinja kod kojih čvrstoća sistema najviše zavisi od želatinizacije skroba. Pri vremenu homogenizacije od 30 minuta kod obe vste GMM sistema sa niskom koncentracijom mekinja (18%) dolazi do smanjenja čvrtoće sistema (slika 19), koje je verovatno uzrokovano prekomernim mešanjem koje rezultira istiskivanjem vode iz sistema zbog primene velikih deformacija.



Slika 19. Odzivne površine za čvrstoću sistema u funkciji temperature i vremena homogenizacije pri koncentraciji mekinja od 18 g/100 g (a – pšenične mekinje; b – ovsene mekinje) i 22 g/100 g (c – pšenične mekinje; d – ovsene mekinje)

Da bi se procenila adekvatnost postavljenih fitovanih modela u obliku polinoma drugog reda korišćena je analiza varijanse, a dobijeni rezultati za sve modelovane odzive prikazani su u tabeli 23.

Table 23. Parametri za proveru adekvatnosti modela

	Pšenični GMM model sistemi	Ovseni GMM model sistemi		
	F (g)	K' (kPa)	F (g)	K' (kPa)
R ²	0,9903	0,9937	0,9988	0,9565
R ² _{adj}	0,9727	0,9823	0,9966	0,9238
R ² _{pred}	0,9637	0,9264	0,9822	0,7777
p-vrednost	0,0002	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Lack-of fit vrednost	0,9650	0,4362	0,1609	0,0973

GMM model sistemi – model sistemi sa gelovima mekinja i bilnjom masnoćom (1:1); K' – snaga GMM model sistema; F – čvrstoća GMM model sistema; R² – koeficijent determinacije; R²_{adj} – korigovani koeficijent determinacije; R²_{pred} – predikcioni koeficijent determinacije

Od statističkih parametara koji služe za proveru adekvatnosti modela, prikazani su: koeficijent determinacije (R^2), korigovani koeficijent determinacije (R^2_{adj}), predikcioni koeficijent determinacije (R^2_{pred}), p -vrednost i *lack of fit* vrednost (LoF). Koeficijent determinacije je pokazatelj slaganja eksperimentalnih i modelom predviđenih podataka i u idealnom slučaju iznosi 1. Za oba ispitivana odziva dobijena je vrednost R^2 veća od 0,95 (tabela 23), što praktično znači da se više od 95% varijacija ispitivanih odziva može objasniti predloženim modelom, čime je zadovoljen kriterijum prihvatljivosti postavljenih fitovanih modela ($R^2 > 0,80$) (Joglekar i May, 1987). Predikcioni koeficijent determinacije pokazuje koliko dobro predloženi regresioni model može da predviđa odzive za definisani set ulaznih parametara. U eksperimentalnom planu primjenjenom u optimizaciji procesnih parametara kako bi se dobio gel od mekinja sa reološkim i teksturnim osobinama najsličnijim onima koje poseduje mast, utvrđeno je da su vrednosti R^2_{pred} veoma bliske vrednostima R^2_{adj} za oba odziva, odnosno njihova razlika je manja od 0,2 (Alao i Konneh, 2009). Podobnost regresionih modela da precizno predvide varijacije za sve odzive indukovana je na osnovu p -vrednosti manje od 0,05. Vrednost LoF za sve odzive je bila veća od 0,05 (tabela 23), što ukazuje da *lack of fit* vrednost nije značajna i da su prepostavljeni regresioni modeli za sve odzive adekvatni.

4.3.2. ODABIR OPTIMALNIH PROCESNIH PARAMETARA PRIMENOM FUNKCIJE POŽELJNOSTI

Postoji nekoliko pristupa postupku optimizacije procesa, a u ovoj disertaciji je upotrebljen takozvani koncept funkcije poželjnosti (*desirability function concept*). Pomenuti pristup sastoji se od transformacije individualnih odziva u vrednost koja se naziva „poželjna funkcija“ i čije se vrednosti kreću od 0 do 1. Vrednost individualne funkcije poželjnosti "0" predstavlja najlošiju vrednost, dok vrednost "1" predstavlja najbolju (najpoželjniju) vrednost posmatranog odziva. Kombinacijom pojedinačnih poželjnih funkcija dobija se ukupna funkcija poželjnosti (D), koja predstavlja geometrijsku sredinu pojedinačnih funkcija. Optimalnom rešenju posmatranog problema odgovara ona kombinacija nezavisno promenljivih kojom je dobijena najveća vrednost D .

Ukoliko odzivi nemaju jednak značaj u optimizaciji, svakom od njih se dodeljuje vrednost prioriteta (nivoa značajnosti) u skladu sa zadatim kriterijuma optimizacije (tabela 24). Najmanje značajnom odzivu dodeljuje se vrednost prioriteta 1, a najznačajnjem 5. Ukupna poželjna funkcija imaće vrednost 1 samo u slučaju da svaka pojedinačna poželjna funkcija ima maksimalnu vrednost. Ukoliko bi makar jedna pojedinačna funkcija imala vrednost 0, tada bi i ukupna poželjna funkcija imala vrednost 0, odnosno bilo bi nemoguće postići optimizaciju procesa (Costa, 2011).

Tabela 24. Prikaz kriterijuma zadatih u optimizaciji procesnih parametara za dobijanje gela od mekinja

Kriterijum		
Faktori i odzivi	Cilj	Nivo značajnosti
C	maksimum	3
T	u rasponu	3
t	u rasponu	3
K'	ciljana vrednost	3
F	ciljana vrednost	3

C – koncentracija mekinja; T – temperatura homogenizacije; t – vreme homogenizacije; K' – snaga model sistema sa gelovima mekinja i bilnjom masnoćom (1:1); F – čvrstoća model sistema sa gelovima mekinja i bilnjom masnoćom (1:1)

Imajući u vidu da je krajnji cilj optimizacije bio ispitivanje mogućnost primene gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja kao zamjenjivača masti, napravljenim GMM model sistemima (tabela 20) merena su reološka svojstva i teksturne karakteristike sa ciljem pronađenja onih procesnih parametara za dobijanje gelova koji daju GMM model sisteme sa reološkim i teksturnim osobinama najsličnijim onima koje poseduje mast. Kao kriterijum optimizacije za oba odziva, snagu i čvrstoću sistema, postavljena je ciljana vrednost (*target*), odnosno one vrednosti koje su karakterisale mast koja je korišćena kao kontrola ($F = 486 \text{ g}$; $K' = 17,9 \text{ kPa}$).

Drugi cilj optimizacije bio je da se dobije GMM sistem maksimalno obogaćen u smislu nutritivnih i funkcionalnih karakteristika, te je, stoga, kao kriterijum optimizacije postavljena maksimizacija koncentracije mekinja u gelu, jer funkcionalne osobine gela od mekinja potiču upravo od mekinja, a veća koncentracija mekinja dovodi do obogaćenja u pogledu prehrambenih vlakana, kao i antioksidativno delotvornih komponenti.

Definisani kriterijumi i koeficijenti značajnosti za ispitivane faktore i posmatrane odzive sistema obrađeni su primenom Design-Expert® softvera i na taj način utvrđena je kombinacija faktora koja daje maksimalnu vrednost D , odnosno najveću vrednost ukupne funkcije poželjnosti.

Optimalno rešenje za pšenične mekinje sa vrednošću D od 0,968 dobijeno je za sledeće procesne parametre: 22,0% koncentracija mekinja, vreme homogenizacije od 11,7 min i temperatura homogenizacije od 83,2 °C. Najveći D za ovsene mekinje iznosio je 0,849 pri sledećim uslovima: 22,0% koncentracija mekinja, vreme homogenizacije od 10,0 min i temperatura homogenizacije od 95,0 °C. Razlike u vrednostima procesnih parametara za pripremu GMM model sistema zamenjivača masti na bazi ispitivanih vrsta mekinja proističu iz različitih mehanizama formiranja gel strukture. Dok pšenične mekinje formiraju gelove pri nižim temperaturama (83,2 °C) zahvaljujući visokom sadržaju vlakana koja se umrežavaju, ovsene mekinje, koje su okarakterisane višim sadržajem skroba, zahtevaju više temperature homogenizacije (95,0 °C) kako bi se izazvala želatinizacija skroba. Takođe, mogućnost formiranja optimalnih gelova pri kraćim vremenima homogenizacije (10,0 i 11,7 minuta umesto 30 minuta) može da se smatra dobrobitnim u pogledu energetske efikasnosti.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da RSM predstavlja pogodnu metodologiju za optimizaciju procesnih parametara (koncentracija mekinja, vreme homogenizacije i temperatura homogenizacije) za dobijanje zamenjivača masti na bazi pšeničnih i ovsenih mekinja, sa postizanjem reoloških i teksturnih osobina GMM model sistema sličnih reološkim i teksturnim osobinama masti. Takođe, mogućnost regresionih modela da precizno predvide varijacije za sve odzive može biti obećavajuća u slučaju "scale-up" proizvodnje zamenjivača masti na bazi mekinja na industrijski nivo, kao i modifikacije za različite primene u hrani.

4.3.3. PROVERA (VALIDACIJA) MODELA

U cilju provere dobijenih modela i optimizovanog postupka dobijanja gelova urađena su tri nezavisna seta eksperimenata u kojima su primenjene dobijene optimalne vrednosti ispitivanih procesnih parametara. Srednje vrednosti parametara prikazane su u tabeli 25. Predviđeni optimumi za dobijanje gelova od obe vrste mekinja ovim kontrolnim eksperimentom su verifikovani, a modeli su još jednom pokazali adekvatnost i značajnost, što potvrđuju dobijene vrednosti praćenih odziva (tabela 25).

Tabela 25. Prikaz predviđenih vrednosti dobijenih u modelu i eksperimentalno dobijenih vrednosti odziva

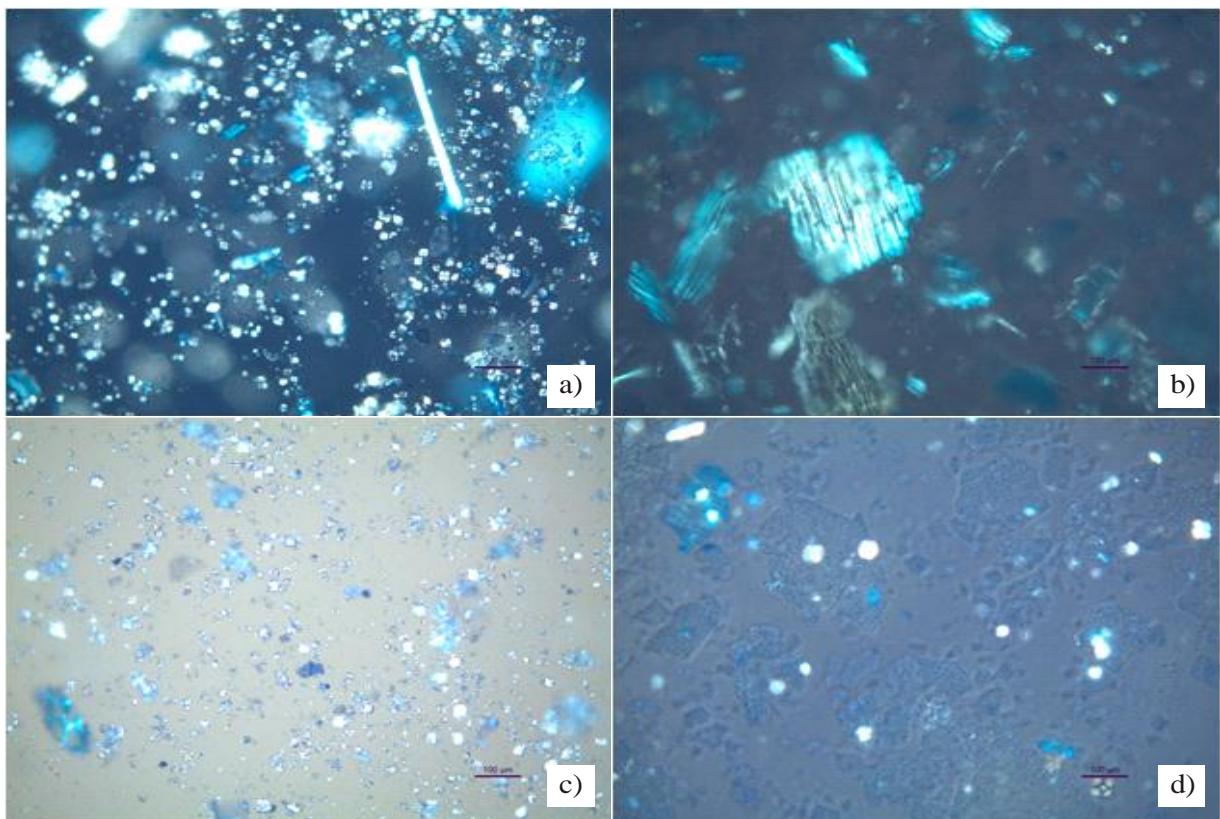
Odzivi	Eksperimentalno dobijena vrednost	Vrednost predviđena modelom	95% CI low	95% CI high	95% PI low	95% PI high
Pšenični GMM model sistem	F (g)	495	486,00	438,53	533,47	407,97
	K' (kPa)	20,65	16,73	15,41	18,06	14,55
Ovseni GMM model sistem	F (g)	587	576	552,52	599,24	545,27
	K' (kPa)	17,65	15,57	11,40	19,78	9,90

GMM model sistemi – model sistemi sa gelovima mekinja i bilnjom masnoćom (1:1); K' – snaga GMM model sistema; F – čvrstoća GMM model sistema; 95% CI low – donja granica intervala poverenja od 95%; 95% CI high – gornja granica intervala poverenja od 95%; 95% PI low – donja granica predikcionog intervala od 95%; 95% PI high – gornja granica predikcionog intervala od 95%

4.4. MIKROSTRUKTURA PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA I NJIHOVIH OPTIMALNIH GELOVA

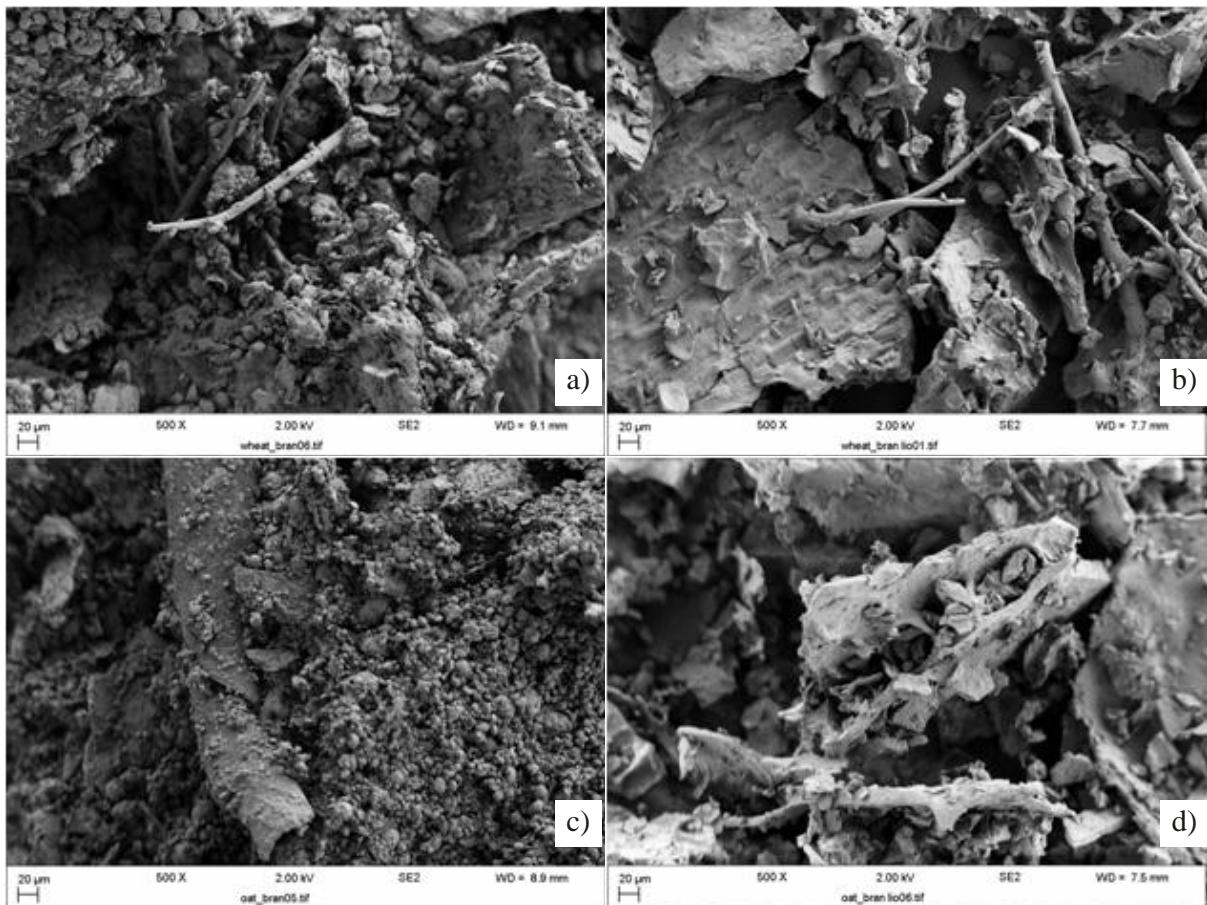
Proces geliranja pšeničnih i ovsenih mekinja rezultira strukturnim promenama, koje se mogu sagledati korišćenjem optičkog i skenirajućeg elektron mikroskopa. Promene su uočljive poređenjem izgleda pšeničnih i ovsenih mekinja i njihovih liofiliziranih gelova (pripremljenih pod optimalnim uslovima) (slike 20 i 21).

Na slici 20 prikazani su optički mikroografi mekinja i liofiliziranih gelova od mekinja. Na slikama 20a i 20c jasno su uočljive netaknute granule skroba u pšeničnim i ovsenim mekinjama u formi tzv. Malteškog krsta. Pšenične mekinje, pored skroba, sadrže i druge birefringentne materije, kao što su celulozna vlakna, koja su identifikovana bojenjem sa toluidinom, koje rezultira plavozelenim obojenjem. S druge strane, slike uzoraka liofiliziranih gelova od mekinja (slike 20b i 20d) su prilično tamne, što ukazuje da je došlo do skoro kompletne želatinizacije skroba, što je i očekivano, s obzirom na primenjene temperature homogenizacije ($83,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ za gel od pšeničnih mekinja i $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ za gel od ovsenih mekinja). Liofilizirani gel od pšeničnih mekinja sadrži celulozna vlakna koja se mogu videti na slici 20b kao svetao plavozeleni objekat sa jakom birefringencijom. Birefringencija ili dvostruka refrakcija predstavlja optičko svojstvo materije da ima indeks prelamanja svetlosti koji zavisi od polarizacije i smera prolaska svetlosti. Ovo svojstvo je karakteristično za mnoge supstance sa kristalnom strukturom, kao što su kalcit, skrob, celuloza, šećer, čvrste masti i kolagen (Flint, 1994).



Slika 20. Mikroografi mekinja i liofiliziranih gelova od mekinja snimljeni optičkim mikroskopom
 (a – pšenične mekinje; b – liofilizirani gel od pšeničnih mekinja;
 c – ovsene mekinje; d – liofilizirani gel od ovsenih mekinja)

Sa slike dobijenih skenirajućim elektronskim mikroskopom (SEM) može se uočiti da ovsene mekinje sadrže veliki broj granula skroba koji je želatinizirao prilikom primjenjenog hidrotermičkog postupka, pa su granule kreirale kontinualan matriks (slike 21c i 21d). S druge strane, uzorak pšeničnih mekinja poseduje granule skroba ugrađene u matriks glutena uporedo sa duguljastim celuloznim vlaknima (slika 21a). U uzorku gela od pšeničnih mekinja granule skroba su uglavnom dezintegrisane zbog želatinizacije (slika 21b). Zaključci do kojih se došlo sagledavnjem slika 21a-d u saglasnosti su sa rezultatima iz tabele 13, koji ukazuju da se ovsene mekinje i gel od ovsenih mekinja sastoje uglavnom od skroba, dok pšenične mekinje i gel od pšeničnih mekinja sadrže veću količinu celuloznog materijala.



Slika 21. Mikrostruktura uzoraka mekinja i liofiliziranih gelova od mekinja snimljena skenirajućim elektronским mikroskopom pri uvećanju od 500x
(a – pšenične mekinje; b – liofilizirani gel od pšeničnih mekinja;
c – ovsene mekinje; d – liofilizirani gel od ovsenih mekinja)

4.5. UTICAJ DODATKA ZAMENJIVAČA MASTI NA BAZI PŠENIČNIH I OVSENIH MEKINJA NA KARAKTERISTIKE KEKSA

Činjenica da su mekinje sporedni proizvod okarakterisan prisustvom velikog broja nutritivno vrednih jedinjenja, kao i koncept revalorizacije ovih sporednih proizvoda, bili su osnov ideje o upotrebi mekinja kao zamenjivača masti u keksu (čajnom pecivu), koji se smatra najzastupljenijom namirnicom iz kategorije brašneno-konditorskih proizvoda, a koju, ujedno, odlikuje i visok udeo masti u formulaciji.

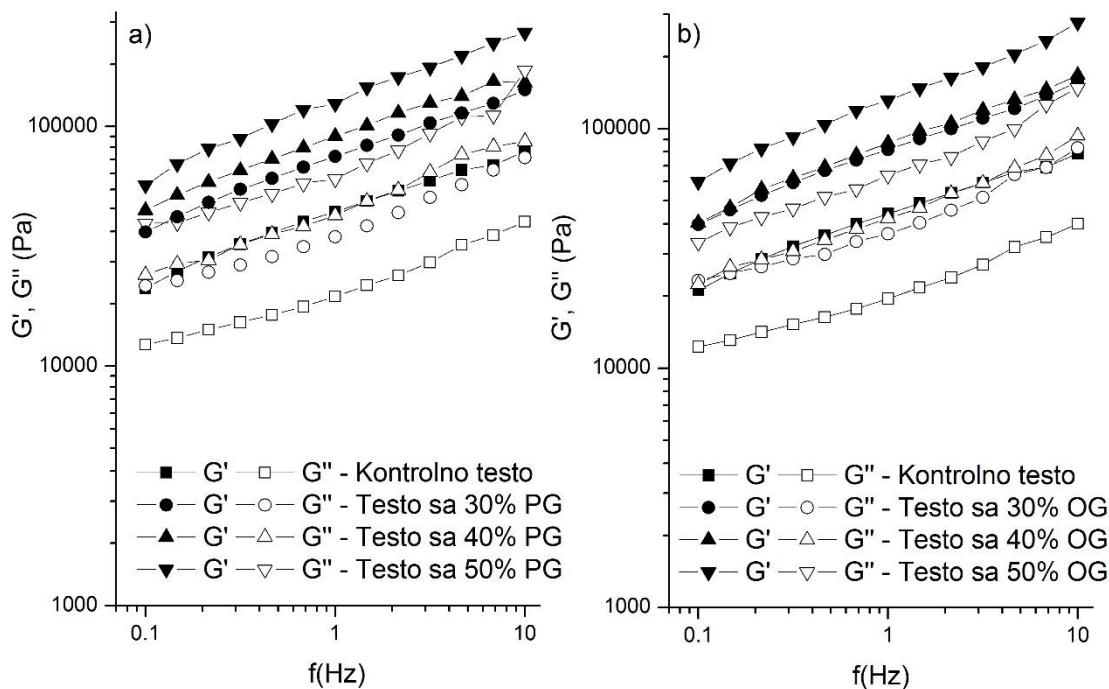
Gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja su pripremljeni po prethodno utvrđenim optimalnim tehnološkim parametrima (za pšenične mekinje: 22,0% koncentracija mekinja, vreme homogenizacije od 11,7 min i temperatura homogenizacije od 83,2 °C; za ovsene mekinje: 22,0% koncentracija mekinja, vreme homogenizacije od 10,0 min i temperatura homogenizacije od 95,0 °C), da bi dalje, kao zamenjivači masti, bili inkorporirani u formulaciju keksa na različitim nivoima supstitucije (30%, 40% i 50%).

Optimizacija formulacije keksa podrazumevala je odabir nivoa supstitucije masti (korišćenjem zamenjivača masti) koji će rezultirati dobijanjem finalnog proizvoda kod koga je u što većoj meri postignut kompromis između sniženja količine masti, sa jedne strane, i ostvarenja željenih teksturnih i senzorskih karakteristika, sa druge strane.

4.5.1. REOLOŠKE OSOBINE TESTA ZA KEKS SA ZAMENJIVAČIMA MASTI

Zamena masti u formulaciji za keks korišćenjem gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja primarno se odražava na reološke osobine testa, odnosno na kvalitet finalnog proizvoda. Reološke osobine testa ukazuju na obradivost i ponašanje testa tokom proizvodnje. Neadekvatna konzistencija testa može da prouzrokuje nezadovoljavajuću obradu i oblikovanje testa, čime se ugrožava kvalitet keksa. S obzirom da značajan uticaj na reološke osobine imaju sastojci testa, bilo koja njihova promena (količina i vrsta sastojaka) utiče na karakteristike testa. Stoga je sprovedeno određivanje reoloških parametara testa koje je sadržalo zamenjivač masti u poređenju sa kontrolnim (punomasnim) testom.

Viskoelastično ponašanje testa za keks definisano je pomoću dinamičkih oscilatornih merenja, koja su izvedena u linearnom viskoelastičnom režimu pri vrednostima naponu koje ne deluju destruktivno na strukturu sistema.



Slika 22. Reološke osobine testa za keks sa dodatkom različitih udela zamenjivača masti (30%, 40% i 50%) u poređenju sa testom za kontrolni keks: a) sa dodatkom gelova od pšeničnih mekinja; b) sa dodatkom gelova od ovsenih mekinja

Zamena masti gelovima od mekinja u formulacijama keksa dovela je do povećanja konzistencije testa u odnosu na kontrolnu (punomasnu) formulaciju (slika 22). Sve ispitivane formulacije testa za keks su pokazivale viskoelastično ponašanje u ispitanim opsegu frekvencija, ispoljavajući pri tome zavisnost između frekvencije i elastičnog i viskoznog modula. Sa povećanjem frekvencije dolazilo je i do rasta oba modula. Pored toga, za sve ispitivane uzorke modul elastičnosti (G') dominira nad viskoznim (G''), ukazujući na dominantnost elastičnih osobina testa za keks u odnosu na viskozne. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima drugih autora, koji su, takođe, ukazali na elastične osobine testa za keks (Lee i Inglett, 2006; Dapčević Hadnađev i sar., 2015; Šarić, 2016).

Reološke osobine ispitivanih uzoraka testa za keks su okarakterisane vrednostima parametara stepenog zakona primjenjenog na rezultate *frequency sweep* testa (tabela 26).

Tabela 26. Reološke osobine testa za kontrolni keks i testa sa zamjenjivačima masti (gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja) izražene vrednostima koeficijenata jednačina stepenog zakona

Uzorak	$G' = K' f^{n'}$		$G'' = K'' f^{n''}$	
	$K' (10^4 \text{ Pa})$	n'	$K'' (10^4 \text{ Pa})$	n''
Kontrolni keks	$4,32 \pm 0,16^c$	$0,26 \pm 0,03^a$	$2,04 \pm 0,11^d$	$0,28 \pm 0,02^a$
Keks sa 30% PG	$7,42 \pm 0,33^a$	$0,28 \pm 0,01^a$	$3,64 \pm 0,05^{ab}$	$0,30 \pm 0,00^{abc}$
Keks sa 40% PG	$8,86 \pm 0,17^b$	$0,32 \pm 0,01^a$	$4,54 \pm 0,07^a$	$0,32 \pm 0,02^{ab}$
Keks sa 50% PG	$12,62 \pm 0,04^d$	$0,32 \pm 0,00^a$	$6,56 \pm 0,49^b$	$0,37 \pm 0,01^c$
Keks sa 30% OG	$8,07 \pm 0,07^{ab}$	$0,28 \pm 0,02^a$	$3,87 \pm 0,07^{ab}$	$0,31 \pm 0,02^{abc}$
Keks sa 40% OG	$8,55 \pm 0,17^e$	$0,29 \pm 0,01^a$	$4,31 \pm 0,05^c$	$0,31 \pm 0,03^{bc}$
Keks sa 50% OG	$13,58 \pm 0,32^{ab}$	$0,31 \pm 0,01^a$	$6,56 \pm 0,07^c$	$0,37 \pm 0,01^{abc}$

PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ($n = 3$) \pm standardna devijacija.

Srednje vrednosti u istoj koloni označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Kontrolni uzorak (punomasno testo za keks) je imao najmanje K' i K'' vrednosti (vrednosti elastičnog i viskoznog modula na frekvenciji od 1 Hz), a zamena dela masti gelovima od mekinja dovela je do jačanja strukture testa, što se ogledalo kroz porast vrednosti ovih koeficijenata u odnosu na uzorak kontrolnog testa. Jačanje strukture testa podrazumeva da testo ispoljava veću tvrdoću i manju obradivost. Najveće vrednosti parametara K' i K'' ispoljavala su testa kojima je 50% masti zamjenjeno gelovima od mekinja, odnosno ova testa su bila tvrđa kako od kontrolnog, tako i od drugih testa (onih sa 30% i 40% zamene masti). Međutim, testa sa nivoom zamene masti od 40% imala su vrednosti parametra K' relativno bliske onima za testa sa 30%-nim nivoom supstitucije masti.

Naime, parametar K' je bio 19% veći u slučaju 40%-nog nivoa supstitucije u odnosu na 30%-nu supstituciju masti korišćenjem gela od pšeničnih mekinja, dok je ta razlika bila manja za slučaj korišćenja gela od ovsenih mekinja (9%) (tabela 26). Dakle, moglo se zaključiti da su testa sa 30% i 40% zamenjene masti međusobno slična po reološkim osobinama, dok je testo sa 50%-nom zamenom masti značajno tvrđe i manje obradivo.

Pored toga, najmanje vrednosti parametara n' i n'' za kontrolni uzorak su ukazivale na manju zavisnost strukturne stabilnosti pri primenjenim frekvencijama u odnosu na sisteme kod kojih je deo masti bio zamenjen.

Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Sudha i saradnika (2007), koji su dokazali da zamena dela masti zamenjivačima masti utiče na povećanje tvrdoće testa za keks. Ista zapažanja navode i Maache-Rezzoug i saradnici (1998), kao i Pareyt i saradnici (2009).

Povećanje tvrdoće testa sa dodatkom gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja kao zamenjivača masti može da se objasni smanjenom dostupnošću vode, sa jedne strane, i smanjenjem masti, sa druge strane. Uzimajući u obzir da je voda u svaku formulaciju dodata u količini koja treba da obezbedi konstantan sadržaj vlage testa od 18%, u formulacijama testa sa zamenjivačima masti manje je vode dostupno za hidrataciju komponenata testa i razvoj glutenske mreže. Naime, u formulacijama sa zamenjivačima masti deo vode je bio vezan za mekinje kako bi se formirala gel struktura, te je, stoga, došlo do smanjenja slobodne vode u sistemu, a posledično do formiranja tvrđih testa.

Komponente koje najviše utiču na ponašanje testa za keks tokom obrade su upravo voda i mast. Relativno velike količine masti u testu obezbeđuju plastičnost i rastegljivost, bez formiranja glutenske mreže, što stvara manje elastična testa, koja su poželjna u proizvodnji čajnog peciva (Faridi, 1990). Zna se da je uloga masti u testu za keks da omekšava testo i smanjuje viskozitet. Tokom mešanja testa za keks mast deluje kao mazivo i nadmeće se sa vodenom fazom za površinu brašna kako bi se sprečilo formiranje glutenskog kompleksa u testu (Wade, 1988). Zbog navedenog, nedostatak masne faze vodi vezivanju veće količine vode od strane glutena i formiranju glutenske mreže u toku zamesa, te se dobiju visokoelastična testa. Međutim, korišćeni zamenjivači masti su delovali i kao maziva tokom zamesa, a uzimajući u obzir i manju dostupnost slobodne vode, nije došlo do većeg razvoja glutenske mreže, te su dobijena testa sa zamenjivačima

masti okarakterisana većom čvrstoćom i elastičnim osobinama u odnosu na kontrolno punomasno testo. Iako je došlo do povećanja tvrdoće testa, sva testa sa dodatim zamenjivačima masti su bila obradiva, pa je omogućena realizacija ostalih faza proizvodnje keksa.

4.5.2. FIZIČKE KARAKTERISTIKE KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI

4.5.2.1. Boja keksa

Boja brašneno-konditorskih proizvoda je značajan faktor u inicijalnoj prihvatljivosti proizvoda od strane potrošača. Svetloća površine keksa, kao i učešće pojedinih tonova boje izraženi su vrednostima L^* , a^* i b^* . Rezultati određivanja površinske boje kontrolnog (punomasnog) keksa i keksa sa dodatkom zamenjivača masti prikazani su u tabeli 27.

Tabela 27. Boja kontrolnog keksa i keksa sa zamenjivačima masti (gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja)

Uzorak	L^*	a^*	b^*	ΔE
Kontrolni keks	$61,97 \pm 0,33^a$	$11,53 \pm 0,25^e$	$37,75 \pm 0,34^d$	-
Keks sa 30% PG	$62,19 \pm 1,12^a$	$10,77 \pm 0,36^d$	$35,34 \pm 0,49^c$	$2,76 \pm 0,58^a$
Keks sa 40% PG	$65,08 \pm 0,87^{bc}$	$8,81 \pm 0,55^b$	$32,67 \pm 0,79^b$	$6,58 \pm 1,11^b$
Keks sa 50% PG	$65,92 \pm 1,83^c$	$8,33 \pm 0,76^b$	$30,93 \pm 0,99^a$	$8,65 \pm 1,51^c$
Keks sa 30% OG	$63,83 \pm 0,86^b$	$10,02 \pm 0,24^c$	$35,57 \pm 0,37^c$	$3,31 \pm 0,65^a$
Keks sa 40% OG	$66,53 \pm 1,16^c$	$8,45 \pm 0,95^b$	$33,21 \pm 1,08^b$	$7,16 \pm +1,76^b$
Keks sa 50% OG	$68,40 \pm 1,02^d$	$7,26 \pm 0,30^a$	$30,39 \pm 0,45^a$	$10,70 \pm 0,79^d$

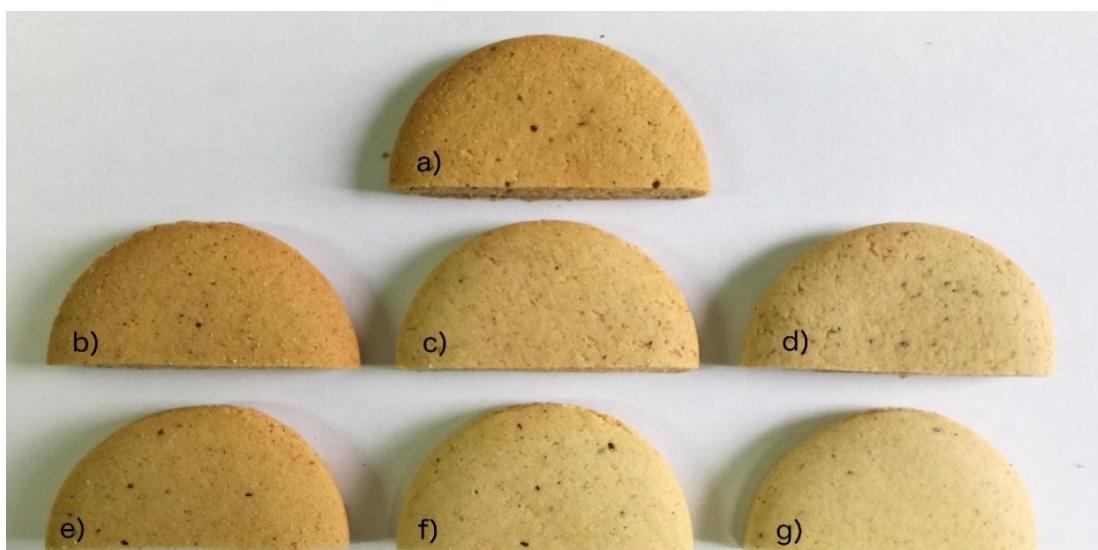
L^* – svetloća; a^* – udeo crvenog tona; b^* – udeo žutog tona; ΔE – ukupna promena boje između kontrolnog keksa i keksa sa zamenjivačem masti; PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ($n = 8$) \pm standardna devijacija.

Srednje vrednosti u istoj koloni označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Dodatak gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja kao zamenjivača masti u formulaciju za keks dovodi do povećanja svetloće (veće L^* vrednosti) i smanjenja udela crvenog (a^*) i žutog (b^*) tona na površini keksa u odnosu na kontrolni keks (tabela 27). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Conforti i saradnika (1996), koji su u formulaciji za keks koristili tri ugljenohidratna zamenjivača masti koji sadrže pektin, gume i one na bazi ovsa (*Slendid, Kel-Lite BK* i *Trim-Choisce*). Navedeni autori su ustanovili trend povećanja svetloće površine keksa sa povećanjem udela zamenjivača masti u formulaciji za keks. Oni su, takođe, ustanovili da se sa povećanjem nivoa supstitucije masti smanjuje ideo žutog tona, što može da bude prouzrokovano dodatkom hidrokoloida koji smanjuju alkalnost testa, što, dalje, utiče na reakcije tamnjenja površine keksa. Naime, tokom pečenja dolazi do tamnjenja površine keksa prouzrokovane odigravanjem reakcije neenzimatskog tamnjenja (Maillard-ova reakcija), koja podrazumeva interakciju redukujućih šećera sa proteinima. Pored toga, tamnjenje površine keksa je, takođe, posledica dekstrinizacije skroba i karamelizacije šećera (Chevallier i sar., 2000).

Slično zapažanje u pogledu svetloće keksa zabeležili su i Lee i Inglett (2006), koji su koristili zamenjivač masti na bazi ovsenih mekinja (*Nutrim OB*), te ustanovili da je keks sa dodatim zamenjivačem masti svetlij nego kontrolni.



Slika 23. Izgled različitih formulacija keksa: a) kontrolni keks, b) keks sa 30% PG, c) keks sa 40% PG, d) keks sa 50% PG, e) keks sa 30% OG, f) keks sa 40% OG i g) keks sa 50% OG
PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja

Svetlijia boja keksa sa dodatim gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja kao zamenjivača masti (slika 23 i tabela 27) može da se objasni činjenicom da je i za kontrolni i za keks sa zamenjivačima masti vлага testa održavana konstantnom (18%), što dalje znači da je kontrolni keks imao više slobodne vode, dok je u testu sa zamenjivačima masti veći deo vode bio vezan za mekinje pšenice i ovsu kako bi se formirala gel struktura. Na takav način je interakcija komponenti koje učestvuju u Maillard-ovoj reakciji u kontrolnom keksu bila bolja, što je rezultiralo tamnjim kontrolnim keksom (slika 23 i tabela 27).

Porast svetloće u ispitivanom keksu sa zamenjivačima masti u negativnoj je korelaciji sa vrednošću a^* ($r = -0,985, p = 0,000$, Prilog 2). Mamat i saradnici (2010) su ispitivali fizičke i hemijske karakteristike različitih vrsta komercijalnog keksa i došli do zaključka da su porast vrednosti parametra a^* (crveni ton) i smanjenje vrednosti parametara L^* indikatori procesa tamnjenja.

Zamena masti gelovima od mekinja pri različitim nivoima supstitucije masti dovela je do promene boje površine keksa koja je uočljiva za ljudsko oko (tabela 27). Naime, kod nivoa supstitucije od 30% promena je primetna pri korišćenju gela od pšeničnih mekinja kao zamenjivača masti ($\Delta E = 1,5\text{--}3,0$), odnosno još primetnija pri korišćenju gela od ovsenih mekinja ($\Delta E = 3,0\text{--}6,0$). Za nivoe supstitucije masti od 40% i 50% razlike u boji su veoma primetne ($\Delta E = 6,0\text{--}12,0$) u slučaju korišćenja oba gela od mekinja.

4.5.2.2. Parametri tehnološkog kvaliteta keksa

Delimična zamena namenske biljne masti gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja u formulaciji za keks uticala je na sadržaj vlage keksa, aktivnost vode i promenu oblika tokom pečenja, što je prikazano u tabeli 28.

Dobro je poznato da su sadržaj vlage i aktivnost vode veoma bitni parametri kvaliteta keksa, jer imaju veliki uticaj na prhkost i teksturu keksa, kao i mikrobiološku stabilnost i rok trajanja proizvoda. Sadržaj vlage i aktivnost vode mora da ostanu relativno niski u ovom tipu proizvoda kako bi se izbegao negativan uticaj na senzorske karakteristike i obezbedila dovoljno duga održivost keksa. Naime, aktivnost vode predstavlja količinu vode kojom mikroorganizmi raspolažu u reakcijama metabolizma. Svaki mikroorganizam ima graničnu a_w vrednost ispod koje neće rasti, formirati spore ili proizvoditi toksične metabolite (Beuchat, 1981). U pogledu mikrobiološke stabilnosti proizvoda neophodno je voditi računa o minimalnim a_w vrednostima koje omogućavaju rast različitih tipova mikroorganizama.

Rezultati prikazani u tabeli 28 ukazuju da su sadržaji vlage i vrednosti aktivnosti vode veće u keksu sa zamenjivačima masti u odnosu na kontrolni punomasni keks, pri čemu je trend porasta ovih parametara pratio porast redukcije masti, odnosno povaćanja udela zamenjivača masti u formulaciji za keks.

Literaturni podaci pokazuju da upotreba zamenjivača masti na bazi ugljenih hidrata ili proteina vodi porastu sadržaja vlage keksa i kreker (Conforti i sar., 1996; Zoulias i sar. 2000a; Romanchik-Cerpovicz i sar., 2002; Lee i Inglett, 2006). Posledično, plesni se kod proizvoda sa zamenjivačima masti javljaju brže, odnosno za kraći period skladištenja u poređenju sa proizvodima koji ne sadrže zamenjivače masti. Stoga je od velikog značaja da porast vlage i aktivnosti vode budu pod kontrolom kako ne bi došlo do pogoršanja održivosti proizvoda.

Zoulias i koautori (2000a) su ispitali nekoliko zamenjivača masti: polidekstrozu, *C*deLight* (maltodekstin sa DE=3), *Diarytrim* (ovsena vlakna bogata β -glukanima), pektin i *Simplesse* (smeša mirkopartikularnih proteina surutke i emulgatora), zamenjujući mast do nivoa od 35% u formulaciji za keks. Ovi autori došli su do zaključka da je porast udela zamenjivača masti u nekoj formulaciji praćen povećanjem sadržaja vlage i zavisi od tipa primjenjenog zamenjivača. Tako, na primer, polidekstroza, pektin i *Simpless* obezbeđuju viši sadržaj vlage u poređenju sa *C*deLight*-om i *Dairytrim*-om (Zoulias i sar., 2000a). Međutim, korišćenje navedenih zamenjivača masti rezultira aktivitetom vode do 0,23, što je značajno ispod vrednosti podesne za rast mikroorganizama, enzimsku aktivnost ili oksidativnu degradaciju (Labuza i Dugan, 1971). Hippelheuser i koautori (1995) su, zamenivši mast zamenjivačima na bazi skroba u formulaciji za mafine, ustanovili porast aktivnosti vode sa 0,84, koliko je aktivnost iznosila kod punomasnih mafina (27% masti), na 0,907–0,926, kod mafina sa niskim sadržajem masti (5% masti).

Aktivnost vode (a_w) u keksu proizvedenom primenom različitih nivoa supstitucije masti kretala se u rasponu od 0,297 do 0,412 (tabela 28), što ukazuje na potencijalnu stabilnost sa aspekta mikrobiološkog kvara. Dobijene vrednosti za aktivnost vode su ispod vrednosti podesnih za rast mikroorganizama kao glavnih kontaminenata namirnica sa malim sadržajem vlage – kserofilnih plesni (0,65 do 0,75) i osmofilnih kvasaca (0,60) (Beuchat, 1981).

Tabela 28. Parametri tehnološkog kvaliteta, sadržaj vlage i aktivnost vode kontrolnog keksa i keksa sa zamenjivačima masti (gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja)

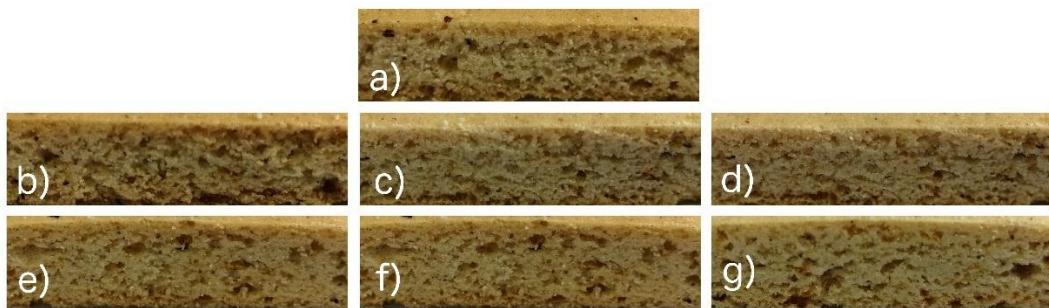
Uzorak	R (mm)	T (mm)	R/T	BWL (%)	M (%)	a _w
Kontrolni keks	57,47 ± 0,30 ^d	10,13 ± 0,02 ^a	5,67 ± 0,03 ^e	15,32 ± 1,10 ^{ce}	6,39 ± 0,02 ^a	0,297 ± 0,00 ^a
Keks sa 30% PG	56,52 ± 0,24 ^c	10,45 ± 0,03 ^b	5,41 ± 0,02 ^d	15,31 ± 0,78 ^{de}	6,72 ± 0,02 ^c	0,325 ± 0,00 ^c
Keks sa 40% PG	55,50 ± 0,22 ^b	10,62 ± 0,02 ^c	5,22 ± 0,02 ^c	13,21 ± 0,58 ^b	6,86 ± 0,04 ^d	0,408 ± 0,00 ^e
Keks sa 50% PG	54,65 ± 0,29 ^a	11,25 ± 0,01 ^g	4,86 ± 0,03 ^a	11,04 ± 0,61 ^a	7,93 ± 0,06 ^f	0,411 ± 0,00 ^f
Keks sa 30% OG	55,70 ± 0,22 ^b	10,75 ± 0,03 ^d	5,18 ± 0,02 ^c	16,70 ± 0,68 ^d	6,45 ± 0,02 ^a	0,319 ± 0,00 ^b
Keks sa 40% OG	55,40 ± 0,18 ^b	10,99 ± 0,04 ^e	5,04 ± 0,02 ^b	15,29 ± 0,27 ^{ce}	6,63 ± 0,03 ^b	0,386 ± 0,00 ^d
Keks sa 50% OG	54,29 ± 0,18 ^a	11,08 ± 0,04 ^f	4,90 ± 0,01 ^a	14,06 ± 0,78 ^{bc}	7,47 ± 0,02 ^e	0,412 ± 0,00 ^g

R – srednji prečnik; T – visina; R/T – faktor širenja; BWL – gubitak mase tokom pečenja; M – sadržaj vlage; a_w – aktivnost vode; PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (n=3 za M i a_w; n=6 za R i T; n=8 za BWL) ± standardna devijacija.
Srednje vrednosti u istoj koloni označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Usled povećanih elastičnih osobina testa za keks koja sadrže gelove od mekinja, odnosno zamenjivače masti (tabela 27), očekivano je manje bočno širenje tokom pečenja keksa u odnosu na kontrolnu formulaciju, koje je rezultiralo dobijanjem keksa sa manjim faktorom širenja (R/T) i manjim prečnikom (R) (tabela 28). Naime, vlakna i skrob iz mekinja su vezali deo vode kako bi želatinizirali, te je, stoga, smanjena količina slobodne vode u testu keksa koji sadrži zamenjivač masti, što je dovelo do elastičnog skupljanja nakon pečenja. Pored toga, u takvom testu manje je vode dostupno za formiranje glutenske mreže, što je rezultiralo povećanjem tvrdoće keksa (slika 25) i zaustavljanjem širenja keksa sa zamenjivačima masti tokom pečenja, odnosno dobijen je keks sa manjim faktorom širenja, što posledično vodi do keksa sa gustim strukturnim pakovanjem (slika 24). U prilog ovome služi i dobijena statistički značajna negativna korelacija ($r = -0,902$, $p = 0,014$) između instrumentalno određene tvrdoće i srednjeg prečnika keksa (Prilog 2). Dakle, inkorporiranje zamenjivača masti u formulaciju za keks doprinelo je manjoj deformaciji testa tokom pečenja, što može da bude korisno, jer pravilan oblik keksa ima uticaj na njegovu vizuelnu prihvatljivost od strane potrošača.

Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima drugih autora. Lee i Inglett (2006) su ispitali uticaj zamene šorteninga (10%, 20% i 30%) ovsenim mekinjama (*Nutrim oat bran*) na fizičke osobine keksa i ustanovili statistički značajno ($p < 0,01$) smanjenje prečnika i povećanje visine keksa sa dodatkom zamenjivača masti. Slična zapažanja publikovana su u radovima Pareyt i saradnika (2009), koji su pokazali da se sa smanjenjem masti u testu povećavaju njegove elastične osobine i smanjuje širenje keksa, što je i odgovorno za dobijanje keksa sa kompaktnijom strukturon. Zoulias i koautori (2000a) su ustanovili da do nivoa zamene od 23% nema značajnog uticaja primene zamenjivača masti na dijametar keksa, ali da pri nivou zamene od 35% dijametar postaje najmanji u slučaju korišćenja *C*deLight-a* i *Dairytrim-a*. S druge strane, pektin, maltrodekstrini i β -glukani pojačavaju formiranje glutenske mreže i elastičnost, što rezultira keksom sa malim dijametrom.



Slika 24. Izgled poprečnog preseka keksa: a) kontrolni keks, b) keks sa 30% PG, c) keks sa 40% PG, d) keks sa 50% PG, e) keks sa 30% OG, f) keks sa 40% OG i g) 50% OG

PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja

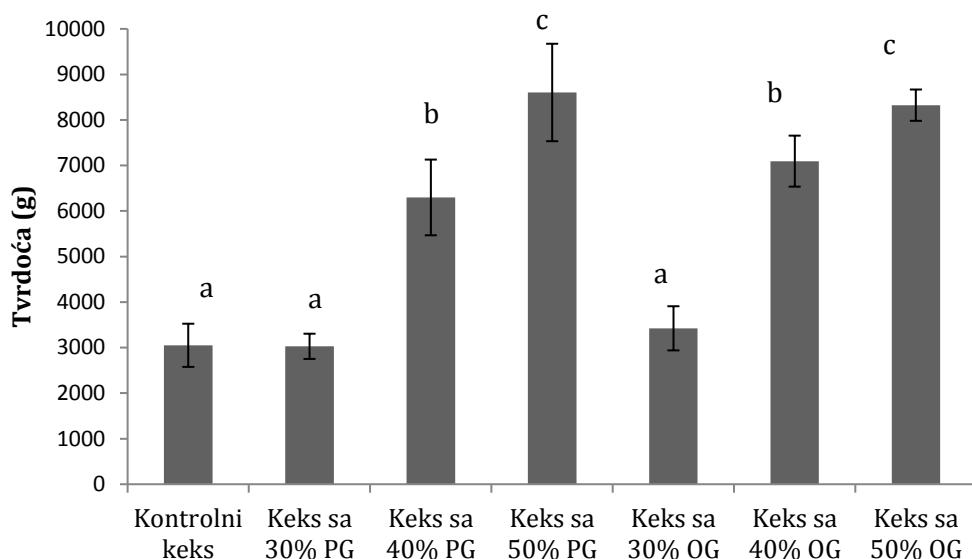
Osim dimenzija i oblika keksa, pri analizi tehnoloških karakteristika značajan parametar je i gubitak mase tokom pečenja (BWL), koji nastaje zbog isparavanja vode tokom pečenja. Najmanja masa testanog komada (inicijalna masa keksa pre pečenja, m_0), koja predstavlja meru gustine, dobijena je u formulaciji sa najviše masti. Isto zapažanje beleže i Pareyt i saradnici (2009), koji su ovo smanjenje gustine sa povećanjem nivoa masti objasnili kao posledicu veće količine inkorporiranog vazduha tokom faze mešanja testa. Keks sa zamenjivačem masti na bazi mekinja odlikuje manja BWL vrednost u odnosu na kontrolni keks (tabela 27), što je verovatno posledica bolje vezanosti vode u testu sa zamenjivačem masti, koja je manje dostupna za isparavanje. BWL je značajan parametar i sa aspekta prinosa proizvoda, jer manja vrednost ovog parametra ukazuje na veću masu dobijenog proizvoda. U ovom pogledu dodatak ispitivanih zamenjivača masti je poboljšao tehnološki kvalitet keksa.

4.5.2.3. Teksturna svojstva keksa

Tekstura proizvoda je veoma bitan parametar njegovog kvaliteta, koji značajno doprinosi ukupnom kvalitetu i njegovoj prihvatljivosti od strane potrošača. Pored izgleda i ukusa, tekstura se ubraja u tri najznačajnija faktora prepoznata od strane potrošača pri oceni prehrambenih proizvoda (Bourne, 1990). Zamena masti značajno utiče na teksturu proizvoda, posebno u slučaju proizvoda tipa keksa. Senzorska ispitivanja su ukazala da je uticaj zamene masti na teksturne osobine keksa veći nego u slučaju zamene šećera ili brašna (Campbell i sar., 1994).

Korišćenjem teksturometra, 3-point bending tehnikom, po postupku opisanom u poglavlju 3.5.9.3, određeni su tvrdoća i lomljivost kontrolnog (punomasnog) keksa i keksa za zamenjivačima masti.

Merenjem tvrdoće keksa dokazano je da su svi uzorci sa smanjenim sadržajem masti bili tvrđi u odnosu na kontrolni uzorak (slika 25).



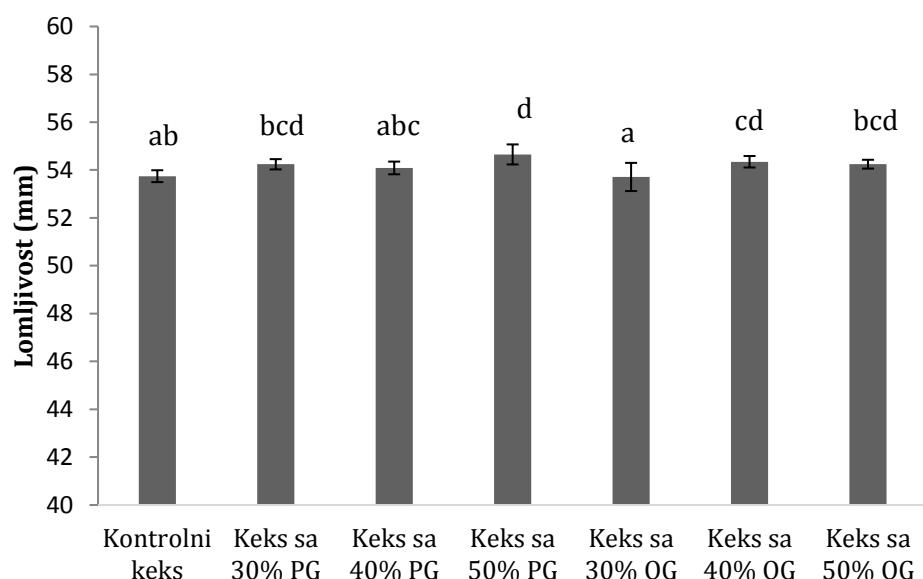
Slika 25. Tvrdoća (H) kontrolnog keksa i keksa sa zamenjivačima masti (gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja)

PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja
Različita slova na grafikonu označavaju vrednosti koje se statistički značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Vrednosti maksimalne sile potrebne za lom keksa (tvrdoća) veće su za uzorce sa smanjenim sadržajem masnoće u odnosu na kontrolni keks, a dobijeni rezultati saglasni su sa rezultatima istraživanja Baltsavias i saradnika (1999), Manohar i Rao (1999), Pareyt i saradnika (2009), kao i Laguna i saradnika (2014). Ovo je stoga što mast u keksu ne poseduje samo senzorsku nego i tehnološku funkcionalnost. U slučaju korišćenja celuloznih vlakana kao zamenjivača masti, porast udela vlakana doprinosi porastu potrebne sile kompresije. Ova vlakna povećavaju, takođe, rezistentnost na širenje i pospešuju nastanak spužvaste strukture, pa se dobija keks sa jačom strukturuom (Ang, 2001).

Testo sa smanjenim sadržajem masti karakteriše prisustvo manje količine inkorporiranog vazduha, što posledično dovodi do izražajnije čvrstoće keksa (Chevallier i sar., 2000). Ipak, korišćenjem zamenjivača masti na bazi gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja na nivou supstitucije masti od 30% dobijen je keks tvrdoće koja se nije statistički značajno ($p < 0,05$) razlikovala od tvrdoće kontrolnog (punomasnog) keksa. Slične rezultate dobili su i Campbell i koautori (1994), koji su sprovodili eksperimente u kojima su supstituisali mast polidekstrozom i emulgatorima, te zaključili da zamena masti do nivoa od 25% značajno ne utiče na silu penetracije, ali pri višim nivoima zamene masti polidekstrozom ($> 35\%$) sila potrebna za lom je viša (Sanchez i sar., 1995).

Na tvrdoću keksa, pored vrste i sadržaja upotrebljene masti, utiču i debljina i oblik keksa (Mamat i sar., 2010). U prilog navedenom može se navesti dobijena pozitivna korelacija tvrdoće i visine keksa ($r = 0,858$, $p = 0,029$, Prilog 2). Naime, uzorke veće visine je karakterisala i veća tvrdoća.



Slika 26. Lomljivost (F) kontrolnog keksa i keksa sa zamenjivačima masti (gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja)

PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja
Različita slova na grafikonu označavaju vrednosti koje se statistički značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Lomljivost keksa je određena kao rastojanje u trenutku loma, izražena je u mm i predstavlja otpor koji uzorak pruža sili savijanja. Ova osobina keksa smatra se poželjnom sa stanovišta senzorskih karakteristika sve do nivoa kada postaje ekstremna. Uklanjanje masti iz formulacije za keks bez dodatka nekog zamjenjivača masti vodi porastu lomljivosti. Zamena masti gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja vodi povećanju lomljivosti keksa, ali su statistički značajne ($p < 0,05$) razlike u odnosu na kontrolni keks potvrđene samo kod keksa sa nivoom zamene od 50% gelom od pšeničnih mekinja i onog sa nivoom supstitucije od 40% gelom od ovsenih mekinja (slika 26).

Tekstura (tvrdoća i lomljivost) prehrambenih proizvoda ocenjena je i ljudskim čulima, te su utvrđeni korelacioni odnosi između vrednosti tvrdoće i lomljivosti izmerenih instrumentalno i ocenjenih senzorski. Vrednost Pearsonovog koeficijenta od 0,907 ukazuje na postojanje statistički značajne ($p = 0,013$) korelacije između tvrdoće određene na oba načina (Prilog 2). Međutim, nije potvrđena statistički značajna korelacija ($r = 0,661$, $p = 0,153$, Prilog 2) između lomljivosti određene instrumentalno i lomljivosti određene od strane panela ocenjivača. Ovo se može objasniti time što se lomljivost kao senzorski parametar odnosi na silu koja je neophodna da se uzorak usitni u mrvice ili komade, a krajnji podeoci na skali su mrvljivo (0) i lomljivo (100). S tim u vezi, utvrđena je značajna korelacija ($r = 0,973$, $p = 0,001$, Prilog 2) između tvrdoće određene instrumentalno i lomljivosti određene senzorski.

Konačno, pokazatelji teksturnih karakteristika, određeni instrumentalno, ukazuju da zamena masti na nivou od 30% gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja rezultira dobijanjem proizvoda kod kojih nisu narušena poželjna teksturna svojstva, te se ovako dobijeni keks može smatrati prihvatljivim.

4.5.3. SENZORSKA OCENA KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI

Senzorska analiza korišćena u ovom delu doktorske disertacije imala je cilj da utvrdi uticaj zamene masti sa gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja na senzorski kvalitet i prihvatljivost proizvoda. Primenom senzorske analize mogu se definisati granice u kojima je moguće zameniti mast u proizvodu, a da to umnogome ne naruši prihvatljivost proizvoda kod potrošača (Pestorić, 2011). Znači, zamenjivači masti mogu da se koriste u formulacijama za keks, ali samo do nivoa zamene naznačenog kao maksimalan, pri kome se još uvek dobijaju proizvodi sa prihvatljivim senzorskim osobinama (Conforti i sar., 1996).

Tokom senzorskog profilisanja kontrolnog keksa i keksa sa dodatkom zamenjivača masti korišćeni su deskriptivni testovi, odnosno senzorsko profilisanje proizvoda. Pouzdana senzorska ocena od strane panela eksperata predstavlja nezamenjiv korak u procesu razvoja novih proizvoda, koji omogućava uspešno plasiranje proizvoda na tržište i na taj način smanjuje rizik neuspeha u pogledu potrošačke prihvatljivosti.

Generalno, proizvodi sa smanjenim sadržajem masti dobijaju niže senzorske ocene u poređenju sa njihovim punomasnim parnjacima, pa se, stoga, pribegava delimičnoj, a ne potpunoj zameni masti, kako bi se dobio keks prihvatljivih senzorskih osobina (Oreopoulou, 2006).

Rezultati senzorske analize kontrolnog (punomasnog) keksa i keksa sa zamenjivačima masti dobijenih od strane panela utreniranih ocenjivača prikazani su u tabeli 29.

Tabela 29. Rezultati senzorske analize kontrolnog keksa i keksa sa zamenjivačima masti (gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja)

Senzorska svojstva	Kontrolni keks	Uzorci					
		Keks sa 30% PG	Keks sa 40% PG	Keks sa 50% PG	Keks sa 30% OG	Keks sa 40% OG	Keks sa 50% OG
Izgled							
Intenzitet boje	42,38 ± 10,14 ^b	51,75 ± 7,57 ^a	30,25 ± 7,91 ^c	16,00 ± 6,23 ^{de}	39,75 ± 7,42 ^b	22,13 ± 6,20 ^d	10,00 ± 5,21 ^e
Uočljivost mekinja	7,13 ± 3,36 ^e	21,88 ± 4,82 ^{bc}	27,13 ± 5,82 ^b	33,50 ± 7,15 ^a	5,00 ± 2,78 ^e	16,75 ± 3,45 ^{cd}	13,38 ± 8,12 ^d
Ukus							
Sladak ukus	53,50 ± 7,45 ^a	53,50 ± 13,46 ^a	34,63 ± 8,42 ^{ab}	27,75 ± 6,20 ^b	55,38 ± 6,44 ^a	29,88 ± 8,49 ^b	15,50 ± 8,75 ^c
Strani ukus	3,13 ± 1,73 ^d	6,13 ± 3,56 ^{cd}	9,38 ± 4,90 ^c	18,00 ± 6,41 ^b	1,50 ± 0,93 ^d	23,63 ± 9,80 ^a	18,00 ± 5,73 ^b
Aroma							
Arome od namenskih dodataka	62,38 ± 6,78 ^b	74,50 ± 5,73 ^a	48,25 ± 10,78 ^c	36,38 ± 3,07 ^{de}	40,63 ± 6,25 ^{ef}	44,13 ± 14,30 ^{cd}	25,25 ± 9,63 ^f
Miris							
Miris na sirovine	4,38 ± 1,4 ^{cde}	1,13 ± 0,99 ^e	5,63 ± 2,56 ^{cd}	28,63 ± 8,75 ^a	4,13 ± 2,23 ^{de}	8,50 ± 4,38 ^c	14,50 ± 3,07 ^b
Tekstura							
Površinska hrapavost	23,63 ± 5,21 ^c	20,75 ± 6,82 ^c	25,25 ± 4,33 ^c	35,38 ± 2,56 ^a	30,00 ± 1,20 ^b	8,13 ± 5,49 ^d	9,50 ± 3,66 ^d
Lomljivost	25,88 ± 4,91 ^c	33,63 ± 4,98 ^c	58,13 ± 13,13 ^b	84,75 ± 4,95 ^a	30,38 ± 9,61 ^c	54,88 ± 10,86 ^b	83,63 ± 5,13 ^a

Senzorska svojstva	Uzorci							
	Kontrolni keks	Keks sa 30% PG	Keks sa 40% PG	Keks sa 50% PG	Keks sa 30% OG	Keks sa 40% OG	Keks sa 50% OG	
Tvrdoća	26,50 ± 7,35 ^d	31,50 ± 6,48 ^d	54,38 ± 8,60 ^b	72,13 ± 3,18 ^a	46,13 ± 10,30 ^c	54,00 ± 6,82 ^b	70,25 ± 3,85 ^a	
Gustina	24,38 ± 5,97 ^{de}	31,38 ± 6,93 ^c	29,75 ± 7,57 ^{cd}	52,88 ± 4,22 ^a	42,75 ± 2,96 ^b	21,50 ± 9,52 ^e	51,75 ± 3,58 ^a	
Oblaganje zuba	69,25 ± 2,82 ^a	25,13 ± 5,87 ^d	31,25 ± 8,68 ^d	53,38 ± 7,60 ^b	39,63 ± 8,94 ^c	64,50 ± 3,30 ^a	56,50 ± 9,20 ^b	
Kohezivnost mase	25,00 ± 13,29 ^d	20,13 ± 12,01 ^d	28,00 ± 8,40 ^d	69,38 ± 14,99 ^{ab}	55,50 ± 8,21 ^c	60,13 ± 7,97 ^{bc}	72,25 ± 9,47 ^a	
Hrskavost	86,50 ± 5,90 ^a	88,00 ± 3,93 ^a	61,63 ± 7,93 ^b	37,13 ± 8,68 ^c	85,63 ± 6,80 ^a	63,63 ± 7,52 ^b	36,25 ± 8,66 ^c	

PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ocena panela ocenjivača ($n = 8$) ± standardna devijacija.
Srednje vrednosti u istoj koloni označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Većina posmatranih senzorskih parametara za keks sa 30%-nom supstitucijom masti gelom od pšeničnih mekinja nije se značajno razlikovala u odnosu na kontrolni punomasni keks (miris na sirovine, površinska hrapavost, lomljivost, tvrdoća, kohezivnost mase i hrskavost) (tabela 28). Statistički značajna razlika nije postojala u pogledu niza senzorskih svojstava (intenzitet boje, uočljivost mekinja, sladak ukus, strani ukus, miris na sirovine, lomljivost i hrskavost) i kada su poređeni keks sa 30%-om zamenom masti gelom od ovsenih mekinja sa kontrolnim keksom. Na osnovu ustanovljenih senzorskih profila keksa, kreiranih za potrebe ove doktorske disertacije, može se zaključiti da se supstitucijom masti gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja na nivou od 30% u velikoj meri ne narušava senzorski kvalitet finalnog proizvoda (tabela 29).

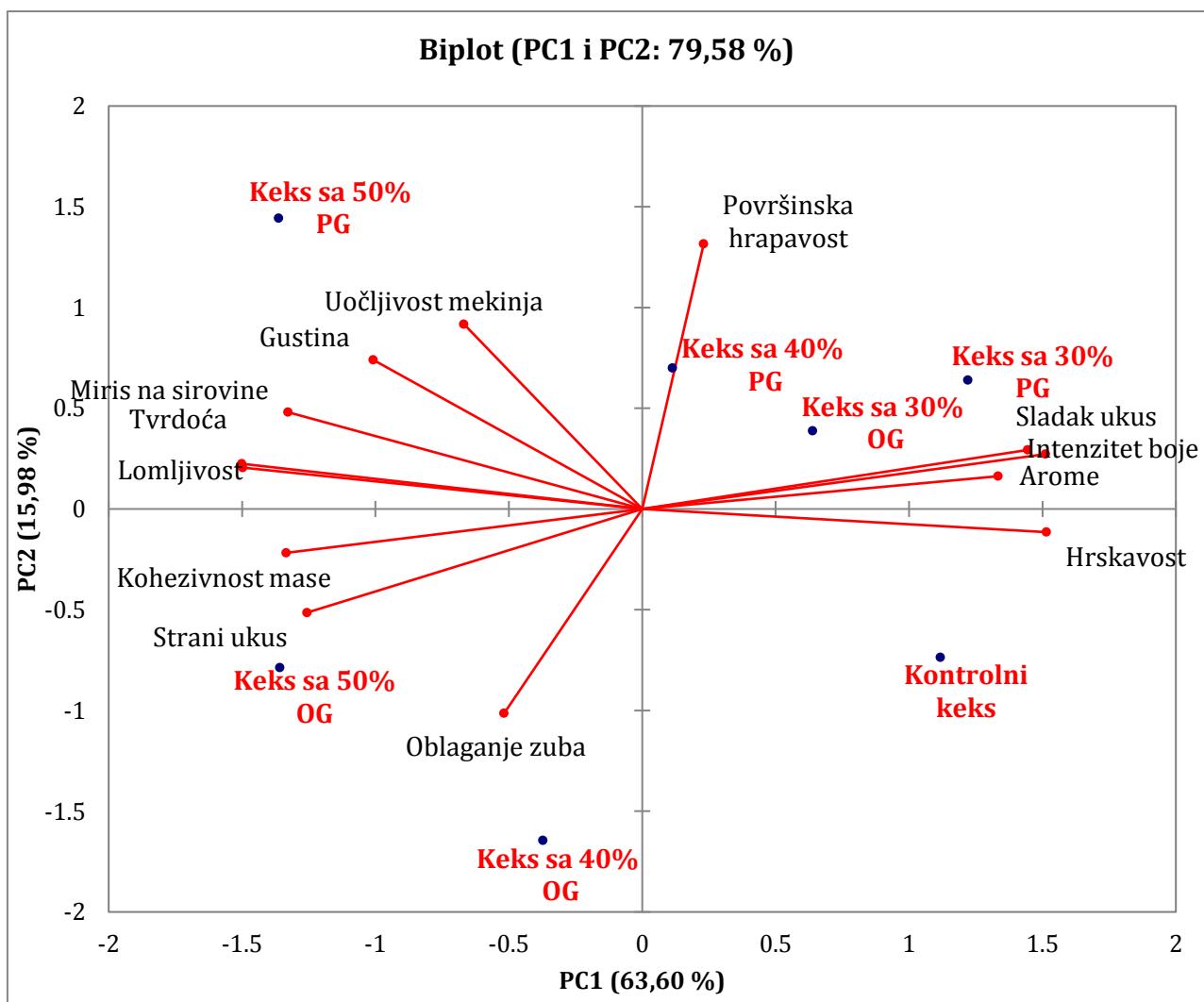
Slične zaključke o uticaju zamenjivača masti na senzorski profil keksa možemo pronaći i u literaturi. Naime, Inglett i saradnici (1994) su, ispitujući uticaj zamenjivača masti na senzorsku sliku keksa, zaključili da visoki nivoi zamene masti u formulacijama za keks primarno utiču na slast (sladak ukus), puterasti ukus i vlažnost keksa, koji postaju niži. Potrošači opisuju keks sa smanjenim sadržajem masti (50–100% zamena masti) kao nabijen i teško žvakljiv (Warner i Inglett, 1997).

Trim Choice-5 (dobijen iz ovsenog brašna sa mekinjama), dodat u formulaciju keksa kao zamenjivač masti na nivou 33%, 66% i 100% zamene, doveo je do porasta sadržaja vlage i svetloće boje keksa, kao i povećanja njegove tvrdoće sa porastom udela zamenjivača. Iako je smanjenje masti dovelo do promene pomenutih karakteristika, potrošači su čak i keks sa nivoom supstitucije masti od 66% ocenili prihvatljivim, bez signifikantnih razlika u poređenju sa kontrolnim keksom (Conforti i sar., 1996).

Keks sa smanjenim sadržajem masti dobijen korišćenjem polidekstroze, *C*deLight-a* (maltodekstrin), *Dairytrim-a* (β -glukani ovsu), pektina i *Simplesse* ispitana je od strane treniranog panela (Zoulias i sar., 2000a) i ocenjen je po pitanju izgleda kao prihvatljiv, sa svih pet zamenjivača masti korišćenih na nivou zamene masti od 11,5%, 23,0% i 35,0%.

S obzirom da je senzorska ocena sprovedena od strane panela rezultirala velikim brojem podataka, u cilju što boljeg vizuelnog prikaza isti su obrađeni pomoću PCA i prikazani u vidu biplot dijagrama koji prikazuje pozicije uzoraka keksa u PC prostoru u odnosu na rezultate senzorske analize (slika 27).

PCA omogućava dobijanje sažetog prikaza velikog broja merenja, kao i utvrđivanje korelativnih odnosa između ocenjenih senzorskih svojstava od strane panela, kao i odnosa između ispitivanih uzoraka i posmatranih senzorskih osobina. Prva glavna komponenta (PC1) konstruisana je da obuhvata najveći deo varijanse podataka, dok naredne (PC2, PC3, PC4, PC5, PC6) obuhvataju onaj deo varijanse koji nije obuhvaćen glavnom komponentom.



Slika 27. Biplot dijagram pozicije uzoraka keksa u PC prostoru u odnosu na rezultate senzorske analize

PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja

Primenom analize glavnih komponenti objašnjeno je 79,58% varijabilnosti rezultata senzorskog profilisanja keksa. PC1 objašnjava 63,60% varijabilnosti, a pozitivno korelira sa senzorskim svojstvima kojima je opisan sladak ukus keksa, intenzitet boje, aromama koje su namenski dodate keksu i hrstavošću. Nasuprot navedenom, PC1 negativno korelira sa svojstvima koja opisuju teksturu keksa (lomljivost, tvrdoča, kohezivnost mase i gustina), njegov miris i strani ukus. Druga glavna komponenta (PC2) opisuje 15,98% varijabilnosti podataka, a definišu je površinska hrapavost i oblaganje zuba. O ovome svedoče vrednosti kvadrata kosinusa pomenutih promenljivih date u tabeli 30.

Tabela 30. Kvadrati kosinusa promenljivih

Promenljive	F1	F2
Površinska hrapavost	0,022	0,722
Uočljivost mekinja	0,186	0,351
Lomljivost/krtost	0,934	0,018
Tvrdoča	0,938	0,021
Gustina	0,424	0,228
Miris na sirovine	0,734	0,096
Intenzitet boje	0,951	0,031
Strani miris	0,741	0,011
Sladak ukus	0,869	0,036
Strani ukus	0,658	0,110
Oblaganje zuba	0,112	0,429
Kohezivnost mase	0,742	0,020
Hrskavost	0,956	0,006

Vrednosti u tabeli prikazane crvenom bojom ukazuju da je doprinos promenljive najveći za posmatranu glavnu komponentu.

Posmatrajući dijagram na slici 27, jasno je uočljivo međusobno razdvajanje uzoraka sa različitim nivoom zamene masti korišćenjem gelova od mekinja, kao i njihovo razdvajanje u zavisnosti od vrste mekinja, što je posebno izraženo kod uzoraka sa većim koncentracijama dodatih mekinja (keks sa 40% PG i 40% OG i keks sa 50% PG i 50% OG). Takođe, uočava se i njihovo diferenciranje u odnosu na kontrolni uzorak. Sa druge strane, uzorci keksa sa najnižim nivoom supstitucije masti (keks sa 30% PG i keks sa 30% OG) po svojim senzorskim svojstvima nalikuju kontrolnom uzorku, ali uz nešto vidljiviju površinsku hrapavost, što je i opravdano, uzimajući u obzir formulaciju ove dve vrste keksa.

Tabela 31. PCA analiza parametara senzorske ocene keksa – vrednosti koeficijenata korelacija glavnih komponenti i promenljivih i doprinosi varijabli za PC1 i PC2

Promenljive	Koeficijenti korelaciјe		Doprinosi (%)	
	PC1	PC2	PC1	PC2
Površinska hrapavost	0,149	0,850	0,267	34,750
Uočljivost mekinja	-0,432	0,592	2,252	16,884
Lomljivost/krtost	-0,966	0,132	11,298	0,844
Tvrdoća	-0,969	0,145	11,350	1,009
Gustina	-0,651	0,478	5,128	10,993
Miris na sirovine	-0,857	0,310	8,884	4,626
Intenzitet boje	0,975	0,176	11,504	1,486
Strani miris	0,861	0,105	8,964	0,530
Sladak ukus	0,932	0,189	10,509	1,719
Strani ukus	-0,811	-0,332	7,955	5,308
Oblaganje zuba	-0,334	-0,655	1,350	20,635
Kohezivnost mase	-0,861	-0,141	8,975	0,951
Hrskavost	0,978	-0,074	11,565	0,265

Formulacije u kojima je 30% masti zamenjeno gelom od pšeničnih i ovsenih mekinja (keks sa 30% PG i 30% OG) bile su u pozitivnoj korelaciji sa obe glavne komponente, PC1 i PC2 (slika 27), a uzorci ove dve vrste keksa izdvojili su se na osnovu sledećih svojstava: slatkog ukusa, intenziteta boje, arome i površinske hrapovosti (tabela 31). Oni su se razlikovali od kontrolnog keksa po teksturnoj osobini oblaganje zuba, pri čemu je stepen do koga se keks lepi za zube znatno niži u slučaju keksa sa zamenjivačem masti, što ujedno predstavlja i poboljšanje kontrolne formulacije.

Zbog činjenice da uzorci keksa sa najnižim nivoom supstitucije masti (keks sa 30% PG i 30% OG) po svom senzorskom profilu nalikuju kontrolnom uzorku, upravo ovaj nivo zamene masti je sa aspekta senzorske ocene usvojen kao najpogodniji.

4.6. NUTRITIVNI PROFIL I ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL ODABRANIH FORMULACIJA KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI

S obzirom da minimalno smanjenje sadržaja masti u formulaciji proizvoda poput keksa i njemu srodnih proizvoda ima značajan odziv na senzorski kvalitet istih (Vetter, 1991), važno je da sastojak koji supstituiše deo masti u formulaciji keksa, po svojoj vrsti i količini, bude adekvatan, da doprinese da keks ispunjava zahteve potrošača sa senzorskog aspekta, kao i da poseduje slične parametre kvaliteta kao standarni (punomasni) keks. Osim toga, keks sa smanjenim sadržajem masnoće može da ima i druge nutritivne prednosti, osim smanjenog sadržaja masnoće i smanjene energetske vrednosti, tj. poželjno je da primenjeni supstituent dela masti bude funkcionalno vredan sastojak, koji će proizvodu dati dodatnu nutritivnu vrednost. Stoga su zamenjivači masti na bazi mekinja, korišćeni u okviru ove disertacije, adekvatno izabrani, jer su nutritivno vredni i bogati funkcionalnim komponentama (Patel, 2015) Naravno, stepen do koga se mogu koristiti kao zamenjivači masti zavisi ne samo od njihovog nutritivno-funkcionalnog potencijala, nego i gorepričazanih rezultata boje, tehnoloških karakteristika, teksturnih svojstava i senzornih parametara, od kojih su neki limitirajući.

Imajući u vidu dobijene rezultate u pogledu boje keksa, tehnoloških karakteristika (D, H, D/H, BWL, M, a_w), teksturnih parametara dobijenih instrumentalno (tvrdota i lomljivost), kao i parametara senzorske ocene dobijenih od strane obučenog panela, ocenjeno je da je keks sa nivoom zamene masti od 30% u slučaju supstitucije gelovima od obe vrste mekinja najbolji, te je, dalje, upravo on okarakterisan u pogledu nutritivnih i funkcionalnih komponenti.

Rezultati određivanja hemijskog sastava kontrolnog keksa, kao i keksa sa zamenjivačima masti (keks sa 30% PG i 30% OG) prikazani su u tabeli 32, a poređenjem dobijenih vrednosti za sastav makronutrijenata može se zaključiti da se supstitucijom 30% masti gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja u formulaciji za keks postiže kako obogaćivanje u pogledu sadržaja ukupnih prehrambenih vlakana, tako i smanjenje sadržaja masti i energetske vrednosti.

Tabela 32. Hemski sastav (g/100 g) i energetska vrednost (kcal/100 g) kontrolnog keksa i keksa za zamenjivačima masti

Parametar	Kontrolni keks	Keks sa 30% PG	Keks sa 30% OG
Sirovi proteini	7,14 ± 0,02 ^a	7,50 ± 0,01 ^c	7,28 ± 0,09 ^b
Masti	13,9 ± 0,17 ^b	9,51 ± 0,14 ^a	9,53 ± 0,11 ^a
Zasićene masne kiseline	7,15 ± 0,96 ^b	4,74 ± 0,58 ^a	4,80 ± 0,55 ^a
Ukupni ugljeni hidrati	72,93 ± 0,27 ^a	74,15 ± 0,45 ^b	76,13 ± 0,28 ^c
Skrob	50,42 ± 0,15 ^a	52,23 ± 0,05 ^b	53,70 ± 0,14 ^c
Šećeri	22,51 ± 0,12 ^a	21,92 ± 0,40 ^a	22,43 ± 0,14 ^a
Prehrambena vlakna	2,20 ± 0,11 ^a	3,06 ± 0,06 ^c	2,44 ± 0,02 ^b
Vлага	6,39 ± 0,02 ^a	6,70 ± 0,02 ^b	6,45 ± 0,04 ^a
Pepeo	0,58 ± 0,00 ^a	0,77 ± 0,01 ^b	0,82 ± 0,00 ^c
Energetska vrednost	447,86 ± 2,02 ^c	418,29 ± 0,60 ^a	424,22 ± 2,28 ^b
Smanjenje sadržaja masti (%)	/	30,53	30,41

PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ($n = 3$) ± standardna devijacija.

Srednje vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

Oba odabrana keksa sa zamenjivačima masti mogla bi na deklaraciji da ponesu nutritivnu izjavu „sa smanjenom količinom masti”, što bi bilo u skladu sa zahtevima Pravilnika o prehrambenim i zdravstvenim izjavama koje se navode na deklaraciji hrane (Službeni glasnik RS, br. 51/2018).

Na osnovu dobijenih rezultata za sadržaj ukupnih vlakana, keks sa gelom od pšeničnih mekinja može da nosi oznaku "izvor vlakana", jer sadrži više od 3 g prehrambenih vlakana u 100 g proizvoda (Službeni glasnik RS, br. 51/2018).

Sa aspekta sadržaja i sastava masnih kiselina ustanovljeno je da gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja u formulaciji keksa doprinose smanjenju sadržaja zasićenih i povećanju sadržaja polinezasićenih masnih kiselina (tabela 34), iz čega proizilazi da odabrane formulacije keksa imaju povoljniji odnos PUFA/SFA. Naime, kako se deo hidrogenizovane masti, koja ima najveći udeo zasićenih masnih kiselina (50,65%), menja gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja u kojima je znatno manji sadržaj zasićenih masnih kiselina, a veći sadržaj nezasićenih masnih kiselina u odnosu na mast (tabela 33), tako se i udeo zasićenih masnih kiselina u korist nezasićenih snižava u keksu sa zamenjivačima masti, što posledično može da dovede do smanjenja LDL holesterola, kao i odnosa ukupnog i HDL holesterola potrošača koji kontinuirano konzumiraju keks sa ovim vrstama zamenjivača masti (FAO, 2008).

Tabela 33. Masnokiselinski profil gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja i masti

Masne kiseline	Udeo masne kiseline (%) u ukupnim masnim kiselinama		
	Gel od pšeničnih mekinja	Gel od ovsenih mekinja	Biljna mast
C12:0 (laurinska)	/	/	0,18
C14:0 (miristinska)	/	/	1,00
C16:0 (palmitinska)	16,96	17,79	43,93
C18:0 (stearinska)	0,86	1,06	4,71
C20:0 (arahidonska)	/	/	0,83
SFA	17,82	18,27	50,65
C16:1n7 (palmitoleinska)	/	/	0,15
C18:1n9 (oleinska)	16,48	36,68	38,63
C20:1n9 (eikozeinska)	/	/	0,15
MUFA	16,48	36,68	38,93
C18:2n6 (linolna)	60,43	42,29	10,25
C18:3n3 (α -linoleinska)	5,26	2,6	0,17
PUFA	65,69	45,06	10,42
UFA (MUFA + PUFA)	82,17	81,73	49,35
PUFA/SFA	3,68	2,46	0,20

PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja; SFA – zasićene masne kiseline; MUFA – mononezasićene masne kiseline; PUFA – polinezasićene masne kiseline; UFA – nezasićene masne kiseline (ukupne)

Tabela 34. Sastav masnih kiselina (%), udeo masne kiseline u ukupnim masnim kiselinama) kontrolnog keksa i keksa za zamenjivačima masti

Masne kiseline	Kontrolni keks	Keks sa 30% PG	Keks sa 30% OG
C14:0 (miristinska)	0,85	0,83	0,81
C16:0 (palmitinska)	45,99	42,64	42,95
C18:0 (stearinska)	5,28	5,02	5,12
SFA	52,12	48,49	48,88
C16:1n7 (palmitoleinska)	0,14	0,15	0,14
C18:1n9 (oleinska)	37,52	36,77	36,14
MUFA	37,66	36,92	36,28
C18:2n6 (linolna)	9,96	14,00	13,72
C18:3n3 (α -linoleinska)	0,25	0,59	0,52
PUFA	10,21	14,59	14,24
UFA (MUFA + PUFA)	48,13	51,51	50,52

PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja; SFA – zasićene masne kiseline; MUFA – mononezasićene masne kiseline; PUFA – polinezasićene masne kiseline; UFA – nezasićene masne kiseline (ukupne)

Značaj minerala za normalno funkcionisanje ljudskog organizma je veoma velik. Od ispitivanih minerala u uzorcima keksa, kategoriji makroelemenata pripadaju Ca, Mg, Na i K, dok kategoriji mikroelemenata pripadaju Fe, Cu i Zn.

Upotreba zamenjivača masti na bazi mekinja u formulaciji za keks vodi povećanju sadržaja niza minerala (tabela 35). Ipak, da bi se neki proizvod deklarisao kao proizvod sa značajnom količinom određenih minerala potrebno je da 100 g tog proizvoda zadovoljava 15% od date nutritivne referentne vrednosti (NRV) (tabela 35). Sagledavajući rezultate za sadržaj mineralnih materija u odabranom keksu sa zamenjivačima masti može se zaključiti da, iako je došlo do povećanja sadržaja svih minerala, keks sa gelom od pšeničnih mekinja može da se označi kao značajan izvor gvožđa i bakra, dok se keks sa gelom od ovsenih mekinja može označiti kao značajan izvor bakra.

Gvožđe predstavlja neophodan sastojak važnih enzima i koenzima, a nedostatak gvožđa ima za posledicu smanjenu otpornost organizma, izražen zamor i slab apetit. Smanjena količina bakra izaziva anemiju, depigmentaciju kose i deformaciju kostiju. Stoga se može pretpostaviti da bi keks sa zamenjivačima masti na bazi mekinja mogao biti dobrobitan deo ishrane orijentisane na supresiju stanja izazvanih niskim nivoima gvožđa i bakra u organizmu.

Tabela 35. Mineralni sastav kontrolnog keksa i odabralih keksova sa zamenjivačima masti kao i njihove nutritivne referentne vrednosti (NRV)

Parametar (mg/kg)	Kontrolni keks	Keks sa 30% PG	Keks sa 30% OG	NRV (mg/danu)*
Ca	203,41 ± 6,23 ^a	247,70 ± 8,45 ^b	235,30 ± 7,31 ^b	800
Mg	148,06 ± 5,45 ^a	241,62 ± 7,89 ^b	219,36 ± 15,31 ^b	375
Fe	14,46 ± 0,57 ^a	22,48 ± 0,14 ^c	16,10 ± 0,26 ^b	14
Na	3438,00 ± 20,64 ^a	3565,00 ± 22,05 ^b	3471,00 ± 21,65 ^a	/
Cu	1,38 ± 0,02 ^a	1,74 ± 0,11 ^b	2,05 ± 0,08 ^c	1
Zn	4,27 ± 0,76 ^a	4,37 ± 0,54 ^a	4,78 ± 0,61 ^a	10
K	738,35 ± 11,78 ^a	931,15 ± 10,46 ^c	823,60 ± 12,32 ^b	2000

*NRV – nutritivan referentni unos minerala po danu kod zdravih odraslih osoba, preuzeto iz Priloga 12 Pravilnika o deklarisanju, označavanju i reklamiranju hrane (Službeni glasnik RS, br. 19/2017 i 16/2018)
PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ($n = 3$) ± standardna devijacija.

Srednje vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

4.6.1. SADRŽAJ UKUPNIH RASTVORLJIVIH POLIFENOLA I ANTRADIKALSKA AKTIVNOST NA DPPH RADIKALE ODABRANIH FORMULACIJA KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI

Imajući u vidu da su pšenične i ovsene mekinje okarakterisane značajnim sadržajem polifenola (tabela 16), kao i da su ispoljile značajnu antiradikalnu aktivnost na DPPH· (tabela 18), ispitani su sadržaji ukupnih polifenola i antioksidativni kapacitet keksa sa dodatkom gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja u odnosu na kontrolni keks (tabela 36).

Tabela 36. Sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola i antiradikalna aktivnost na DPPH-kontrolnog keksa i keksa sa zamjenjivačima masti

Parametar	Kontrolni keks	Keks sa 30% PG	Keks sa 30% OG
TPC (mg/100 g s.m.)	69,96 ± 1,70 ^a	99,75 ± 4,11 ^c	80,73 ± 2,58 ^b
IC ₅₀ (mg/ml)	168,55 ± 6,45 ^c	100,67 ± 5,74 ^a	135,52 ± 4,98 ^b

PG – gel od pšeničnih mekinja; OG – gel od ovsenih mekinja; TPC – sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola; IC₅₀ – koncentraciju ekstrakta pri kojoj je neutralisano 50% DPPH·.

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ($n = 3$) ± standardna devijacija.
Srednje vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$).

S obzirom da je jedan od ciljeva upotrebe izabranih funkcionalnih zamjenjivača masti i njegov doprinos u smislu antioksidativnog potencijala u odnosu na kontrolni keks, povećanje polifenolnog sadržaja od oko 15% za keks sa 30% gela od ovsenih mekinja, odnosno za oko 43% za keks sa 30% gela od pšeničnih mekinja može se smatrati značajnim. Veće povećanje sadržaja ukupnih polifenola keksa sa gelom od pšeničnih mekinja bilo je i očekivano s obzirom na veći sadržaj polifenola pšeničnih u odnosu na ovsene mekinje (tabela 16).

Analiza antiradikalne aktivnosti na DPPH· 70% etanolnih ekstrakata kontrolnog keksa i keksa sa zamjenjivačima masti ukazuje na povećanje antioksidativnog potencijala sa dodatkom zamjenjivača masti u formulaciju keksa.

Pregledom dostupne naučne literature ustanovljeno je da su mekinje žitarica uglavnom korišćene kao supstituent dela brašna u keksu sa ciljem postizanja bolje funkcionalnosti finalnih proizvoda, te da je sa dodatkom mekinja evidentirano povećanje polifenolnog sadržaja i antioksidativnog potencijala u odnosu na kontrolne formulacije bez mekinja (Bilgiçli i sar., 2007; Vitali i sar., 2009; Baumgartner i sar., 2018).

4.7. MIKROBIOLOŠKA ISPRAVNOST ODABRANIH FORMULACIJA KEKSA SA ZAMENJIVAČIMA MASTI

U ispitanim uzorcima keksa broj Enterobacteriaceae, kao i broj kvasaca i plesni je bio ispod granice detekcije metode (<10 cfu/g), odnosno bio je manji od donje dozvoljene granice preporučene za keks i čajno pecivo u Vodiču za primenu mikrobioloških kriterijuma za hranu (2011, poglavlje IV, str. 53).

Mikrobiološka bezbednost odabranih formulacija keksa, upakovanih u metaliziranu, polipropilensku ambalažu, ispitana je i nakon 6 meseci skladištenja na sobnoj temperaturi, određivanjem broja Enterobacteriaceae i broja kvasaca i plesni. Broj testiranih mikroorganizama je i nakon šestomesečnog perioda bio manji od granice detekcije primenjenih metoda, zahvaljujući, pre svega, niskoj a_w vrednosti keksa, koja se nije drastično promenila tokom 6 meseci skladištenja ($0,330 \pm 0,00$ za keks sa 30% PG i $0,323 \pm 0,00$ za keks sa 30% OG). Naime, Enterobacteriaceae, uključujući i najvažnije patogene *E. coli* i *Salmonella* spp., nemaju sposobnost rasta pri a_w vrednostima manjim od 0,95 (Anthony i Fontana, 2007). Niska a_w vrednost keksa, je takođe, uzrok odsustva kvasaca i plesni u finalnim proizvodima. Ekstremno kserofilna plesan *Xeromyces bisporus* najbolje podnosi niske aktivnosti vode supstrata od svih poznatih mikroorganizama i jedina ima sposobnost rasta pri a_w od 0,62 (Leong i sar. 2011). Međutim, čak ni ova plesan nema sposobnost rasta pri ovako niskim a_w vrednostima, izmerenim u ispitivanom keksu.

Na osnovu rezultata sprovedenih mikrobioloških ispitivanja može se smatrati da je keks sa 30% gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja, upotrebljenih sa funkcijom zamenjivača masti, apsolutno bezbedan za konzumiranje sa mikrobiološkog aspekta, kao i da je nakon 6 meseci skladištenja pod adekvatnim uslovima i dalje bio u skladu sa preporučenim mikrobiološkim kriterijumima za keks i čajno pecivo, definisanim u Vodiču za primenu mikrobioloških kriterijuma za hranu (2011, poglavlje IV, str. 53). Imajući u vidu limitirajući uticaj niskih vrednosti aktiviteta vode supstrata na rast i umnožavanje mikroorganizama, jasno je da će ispitivani keks biti mikrobiološki stabilan i bezbedan duži vremenski period ukoliko se upakuje u adekvatnu ambalažu, koja neće dozvoliti intenzivan porast njegove a_w vrednosti.

5. ZAKLJUČAK

U radu je sprovedena karakterizacija sirovina, pšeničnih i ovsenih mekinja, koje su korišćene za proizvodnju novih zamenjivača masti, u pogledu njihovog nutritivnog i funkcionalnog sastava.

U nastavku istraživanja ispitana je uticaj procesnih parametara i sprovedena je optimizacija procesnih parametara hidrotermičkog tretmana (koncentracija mekinja, vreme homogenizacije i temperatura homogenizacije) kako bi se dobili gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja sa teksturnim i reološkim osobinama najsličnijim onima koje poseduje mast.

Gelovi od pšeničnih i ovsenih mekinja, pripremljeni pod optimalnim uslovima, inkorporirani su u formulaciju keksa na različitim nivoima supstitucije masti (30%, 40%, 50%) kako bi se ispitao i objasnio uticaj dodatka zamenjivača masti na fizičke, teksturne i senzorske karakteristike keksa.

U završnom delu rada sprovedena je uporedna analiza kontrolne formulacije keksa i odabranih formulacija keksa sa zamenjivačima masti (30% gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja) u pogledu nutritivnog profila i funkcionalnih karakteristika.

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci koji se odnose na karakterizaciju polaznih sirovina (pšenične i ovsene mekinje):

- najveće razlike u hemijskom sastavu pšeničnih i ovsenih mekinja postoje u sadržaju ukupnih prehrambenih vlakana i skroba. Pšenične mekinje karakteriše statistički značajno veći sadržaj vlakana ($p < 0,05$), dok ovsene mekinje odlikuje skoro dva puta veći sadržaj skroba u odnosu na pšenične mekinje;
- udeo rastvorljivih u ukupnim prehrambenim vlaknima za pšenične mekinje iznosio je oko 5%, dok je za ovsene mekinje iznosio 25%;
- esencijalna linolna kiselina je najzastupljenija masna kiselina u obe vrste mekinja (58,57% u pšeničnim mekinjama i 41,10% u ovsenim mekinjama);
- odnos PUFA/SFA je iznad preporučenog minimuma od 0,4 i iznosi 3,29 u pšeničnim mekinjama, odnosno 2,24 u ovsenim mekinjama;
- u mineralnom sastavu mekinja dominiraju makroelementi K, Mg i Ca;
- sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola (TPC) u nehidrolizovanim etanolnim ekstraktima mekinja dobijenim maceracijom iznosio je $2,43 \pm 0,12$ mg GAE/g s.m. pšeničnih mekinja, odnosno $1,59 \pm 0,07$ mg GAE/g s.m. ovsenih mekinja;
- primenom visokopritisne tečne hromatografije (HPLC) u mekinjama je identifikovano i kvantifikovano prisustvo sedam polifenolnih jedinjenja: galna kiselina, *p*-hidroksibenzoeva kiselina, vanilinska kiselina, kafena kiselina, *p*-kumarinska kiselina, sinapinska kiselina i ferulna kiselina. Udeo derivata hidroksibenzoeve kiseline u ukupnim fenolnim jedinjenjima je 86,10%, a dominantno jedinjenje iz ove klase bila je vanilinska kiselina prisutna u količini od $55,15 \pm 1,68$ mg/100 g s.m. pšeničnih mekinja, dok je u ovsenim mekinjama dominirala *p*-hidroksibenzoeva kiselina prisutna u količini od $4,10 \pm 0,18$ mg/100 g s.m;
- vrednosti dobijene za sadržaj TPC primenom spektrofotometrijske metode znatno su veće u odnosu na vrednosti dobijene HPLC metodom (3,49 puta za pšenične mekinje i čak 18,32 puta za ovsene mekinje). Ovako velika razlika u sadržaju polifenola za ovsene mekinje može da se objasni činjenicom da avenantramidi, grupa polifenola karakteristična za ovas, nije kvantifikovana HPLC metodom;

- primena ultrazvučnog predtretmana poboljšala je ekstrakciju fenolnih komponenti iz pšeničnih i ovsenih mekinja, a uticaj je bio najupečatljiviji u prvoj fazi ekstrakcije. Naime, slična efikasnost ekstrakcije postignuta je primenom ultrazvučnog tretmana u trajanju od 10 min i konvencionalnom ekstrakcijom rastvaračem u trajanju od 24 h (17,78% veći prinos za pšenične i 9,52% za ovsene mekinje nakon 24 h mešanja u odnosu na prinos dobijen nakon 10 minuta primene ultrazvuka). Postignuto skraćenje vremena ekstrakcije može biti od posebnog značaja u industrijskoj proizvodnji ekstrakata sa potencijalnom primenom u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji;
- ovsene mekinje su imale mnogo veće vrednosti viskoziteta na temperaturama većim od temperature želatinizacije u odnosu na vrednosti viskoziteta pšeničnih mekinja. Ovakvo ponašanje se može objasniti značajno većim ($p < 0,05$) sadržajem skroba u ovsenim mekinjama.

Primena hidrotermičkog tretmana u kombinaciji sa mehaničkom silom dovela je do modifikovanja želatinoznih svojstava pšeničnih i ovsenih mekinja, a sa ciljem njihove primene kao zamjenjivača masti u prehrambenim proizvodima. Dobijeni gelovi su okarakterisani primenom *frequency sweep* testa i izvedeni su sledeći zaključci:

- povećanje vrednosti primenjenih procesnih parametara (koncentracija mekinja, vreme homogenizacije i temperatura homogenizacije) dovelo je do povećanja čvrstoće gela;
- razlike u reološkim osobinama gelova od mekinja su prouzrokovane razlikama u njihovom sastavu, odnosno različitim mehanizmima za formiranje gel strukture. Mekinje pšenice sadrže veću količinu vlakana od ovsenih mekinja, te je primena hidrotermičkog i mehaničkog tretmana dovela do hidratacije ovih makromolekula, dok je kod ovsenih mekinja izraženija želatinizacija skroba.

Ispitivanjem uticaja procesnih parametara (koncentracija mekinja, vreme homogenizacije i temperatura homogenizacije) na snagu model sistema sa gelovima od mekinja i biljnom masnoćom (1:1) (GMM model sistemi) kao meru reoloških osobina i čvrstoću GMM model sistema kao meru teksturnih osobina, primenom metode odzivne funkcije (RSM) i funkcije poželjnosti (proizvodnja gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja čije će reološke i teksturne osobine biti najsličnije onima koje poseduje mast), ustanovljeno je sledeće:

- snaga i čvrstoća GMM model sistema su pozitivno zavisne od koncentracije mekinja, kao i od temperature i vremena homogenizacije za obe vrste mekinja;
- pretpostavljeni regresioni modeli za sve odzive bili su adekvatni, o čemu svedoče dobijene vrednosti parametara: koeficijent determinacije (R^2), korigovani koeficijent determinacije (R^2_{adj}), predikcioni koeficijent determinacije (R^2_{pred}), p -vrednost i *lack of fit* vrednost;
- optimalno rešenje za pšenične mekinje sa vrednošću D od 0,968 dobijeno je za sledeće procesne parametre: 22,0% koncentracija mekinja, vreme homogenizacije od 11,7 min i temperatura homogenizacije od 83,2 °C;
- najveći D za ovsene mekinje iznosio je 0,849 pri sledećim uslovima: 22,0% koncentracija mekinja, vreme homogenizacije od 10,0 min i temperatura homogenizacije od 95,0 °C;
- RSM predstavlja pogodnu metodologiju za optimizaciju procesnih parametara za dobijanje zamenjivača masti na bazi pšeničnih i ovsenih mekinja.

Rezultati koji se odnose na uticaj različitog stepena zamene masti gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja na fizičke karakteristike, teksturni i senzorski profil keksa upućuju na sledeće zaključke:

- dodatak gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja kao zamenjivača masti u formulaciju za keks dovodi do povećanja svetloće (veće L^* vrednosti) i smanjenja udela crvenog (a^*) i žutog (b^*) tona na površini keksa u odnosu na kontrolni keks;
- sadržaj vlage i vrednosti aktivnosti vode veće su u keksu sa zamenjivačima masti u odnosu na kontrolni punomasni keks, pri čemu je trend porasta ovih parametara pratio porast redukcije masti, odnosno povećanja udela zamenjivača masti u formulaciji za keks. Ipak, aktivnost vode u keksu proizvedenom primenom

različitih nivoa supstitucije masti kretala se u rasponu od 0,297 do 0,412, što ukazuje na potencijalnu stabilnost sa aspekta mikrobiološkog kvara;

- keks sa zamenjivačima masti na bazi mekinja iskazao je manje bočno širenje tokom pečenja keksa u odnosu na kontrolnu formulaciju, koje je rezultiralo dobijanjem keksa sa manjim faktorom širenja (R/T) i manjim prečnikom (D);
- tvrdoča i lomljivost, kao pokazatelji teksturnog kvaliteta proizvoda, veće su za uzorce sa zamenjivačima masti u odnosu na kontrolnu formulaciju. Ipak, zamenom masti gelovima na bazi pšeničnih i ovsenih mekinja na nivou od 30% dobijen je keks koji karakterišu tvrdoča i lomljivost koje se nisu statistički značajno ($p < 0,05$) razlikovale od tvrdoče i lomljivosti kontrolnog keksa;
- na osnovu rezultata senzorske ocene keksa, sprovedene od strane panela utreniranih ocenjivača, može se zaključiti da se supstitucijom masti gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja na nivou od 30% u velikoj meri ne narušava senzorski kvalitet finalnog proizvoda.

Na osnovu uporedne analize kontrolne (punomasne) formulacije i keksa sa 30% gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja kao zamenjivača masti zaključeno je sledeće:

- poređenjem dobijenih vrednosti za sastav makronutrijenata, utvrđeno je da se supstitucijom 30% masti gelovima od pšeničnih i ovsenih mekinja u formulaciji za keks postiže kako obogaćivanje u pogledu sadržaja ukupnih prehrambenih vlakana, tako i smanjenje sadržaja masti i energetske vrednosti;
- oba odabrana keksa sa zamenjivačima masti mogla bi na deklaraciji da ponesu nutritivnu izjavu „sa smanjenom količinom masti“;
- keks sa gelom od pšeničnih mekinja može da nosi oznaku "izvor vlakana", jer sadrži više od 3 g prehrambenih vlakana u 100 g proizvoda;
- keks sa gelom od pšeničnih mekinja može da se označi kao značajan izvor gvožđa i bakra, dok se keks sa gelom od ovsenih mekinja može označiti kao značajan izvor bakra;
- upotreba zamenjivača masti u formulaciji za keks doprinela je povećanju sadržaja polifenolnih jedinjenja i porastu antioksidativnog kapaciteta keksa;

- na osnovu rezultata mikrobioloških ispitivanja može se smatrati da je keks sa 30% gelova od pšeničnih i ovsenih mekinja, upotrebljenih sa funkcijom zamenjivača masti, apsolutno bezbedan za konzumiranje sa mikrobiološkog aspekta, kao i da je nakon 6 meseci skladištenja pod adekvatnim uslovima i dalje bio u skladu sa preporučenim mikrobiološkim kriterijumima za keks i čajno pecivo.

Sagledavajući sve iznete zaključke, generalni zaključak doktorske disetracije je:

- Novi zamenjivači masti na bazi pšeničnih i ovsenih mekinja, inkorporirani u formulaciju keksa, omogućili su formulisanje finalnih proizvoda prihvativih tehnoloških svojstava (teksturnih i senzorskih) u poređenju sa kontrolnim (punomasnim) keksom, uz evidentno obogaćenje u pogledu sadržaja prehrambenih vlakana, kao i antioksidativno delotvornih komponenti.
- Doktorska disertacija je doprinela proširenju palete novih funkcionalnih niskoenergetskih proizvoda na domaćem tržištu.

6. LITERATURA

- Abozed, S. S., El-Kalyoubi, M., Abdelrashid, A., & Salama, M. F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant activities of various solvent extracts from whole wheat and bran. *Annals of Agricultural Sciences*, 59 (1), 63–67.
- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (21), 6182–6187.
- Afaghi, A., Ghanei, L., & Ziaeefard, A. (2013). Effect of low glycemic load diet with and without wheat bran on glucose control in gestational diabetes mellitus: A randomized trial. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 17 (4), 689–692.
- Aggarwal, D., Sabikhi, L., & Kumar, M. S. (2016). Formulation of reduced-calorie biscuits using artificial sweeteners and fat replacer with dairy-multigrain approach. *NFS Journal*, 2, 1–7.
- Akoh, C. C. (1998). Fat replacers. *Food Technology*, 52 (3), 47–53.
- Alao, A. R., & Konneh, M. (2009). A response surface methodology based approach to machining processes: modelling and quality of the models. *International Journal of Experimental Design and Process Optimisation*, 1 (2-3), 240–261.
- Alexander, R. J. (1995). Fat replacers based on starch. *Cereal Foods World*, 40 (5), 36–367.
- Alrahmany, R., & Tsopmo, A. (2012). Role of carbohydrases on the release of reducing sugar, total phenolics and on antioxidant properties of oat bran. *Food Chemistry*, 132 (1), 413–418.
- Alrahmany, R., Avis, T. J., & Tsopmo, A. (2013). Treatment of oat bran with carbohydrases increases soluble phenolic acid content and influences antioxidant and antimicrobial activities. *Food Research International*, 52 (2), 568–574.

- Amadò, R. (2006). Health promoting effects of dietary fibre, In: Williams, P. A. & Philips G. O. (eds.), *Gums and Stabilisers for the Food Industry*. RSC Publishing, London, pp. 467–475.
- American Association of Cereal Chemists (AACC) (1999). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*. 10th ed., Minnesota, USA.
- Ang, J. F. (2001). Powdered cellulose and the development of new generation healthier foods. *Cereal Foods World*, 46 (3), 107–111.
- Anon. (1994). Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease. (Report on Health and Social Subjects 46), HMSO, London, 1994.
- Anthony, J. & Fontana, J. (2007). Minimum water activity limits for growth of microorganisms. In: Barbosa-Cánovas, G. V., Fontana, A. J., Schmidt, S. J. & Labuza, T. P. (eds.), *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*. Blackwell Publishing Ltd, Ames, Iowa, p. 405.
- Apprich, S., Tirpan Alan, Ö., Hell, J., Reisinger, M., Böhmdorfer, S., Siebenhandl-Ehn, S., & Kneifel, W. (2014). Wheat bran-based biorefinery 2: Valorization of products. *LWT-Food Science and Technology*, 56 (2), 222–231.
- Arendt, E. K., & Zannini, E. (2013). *Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*. Woodhead Publishing.
- Armbrister, W. L., & Setser, C. S. (1994). Sensory and physical properties of chocolate chip cookies made with vegetable shortening or fat replacers at 50 and 75% levels. *Cereal Chemistry*, 71 (4), 344–350.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000). *Official Methods of Analysis*. 17th ed., Maryland, USA.
- Autio, K. (2006). Functional aspects of cereal cell-wall polysaccharides. In: Eliasson, A. C. (ed.), *Carbohydrates in Food*. 2nd ed., Taylor and Francis, Boca Raton, Florida, pp. 167–208.
- Baltsavias, A., Jurgens, A., & Van Vliet, T. (1999). Fracture properties of short-dough biscuits: effect of composition. *Journal of Cereal Science*, 29 (3), 235–244.
- Bartolomé, B., & Gómez-Cordovés, C. (1999). Barley spent grain: release of hydroxycinnamic acids (ferulic and *p*-coumaric acids) by commercial enzyme preparations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79 (3), 435–439.

- Baublis, A. J., Lu, C., Clydesdale, F. M., & Decker, E. A. (2000). Potential of wheat-based breakfast cereals as a source of dietary antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 19 (sup3), 308S–311S.
- Baumgartner, B., Özkaya, B., Saka, I., & Özkaya, H. (2018). Functional and physical properties of cookies enriched with dephytinized oat bran. *Journal of Cereal Science*, 80, 24–30.
- Beuchat, L. R. (1981). Microbial stability as affected by water activity [Bacteria, fungi, spoilage]. *Cereal Foods World*, 26, 345–349.
- Bilgiçli, N., İbanoğlu, Ş., & Herken, E. N. (2007). Effect of dietary fibre addition on the selected nutritional properties of cookies. *Journal of Food Engineering*, 78 (1), 86–89.
- Brečić, R., Gorton, M., & Barjolle, D. (2014). Understanding variations in the consumption of functional foods – evidence from Croatia. *British Food Journal*, 116 (4), 662–675.
- Cai, S., Wang, O., Wu, W., Zhu, S., Zhou, F., Ji, B., Gao, F., Zhang, D., Liu, J., & Cheng, Q. (2011). Comparative study of the effects of solid-state fermentation with three filamentous fungi on the total phenolics content (TPC), flavonoids, and antioxidant activities of subfractions from oats (*Avena sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (1), 507–513.
- Calorie Control Council (2004). Fat replacers: Food ingredients for healthy eating. Available from Calorie Control Council (www.caloriecontrol.org).
- Campbell, A. D., & Bell, L. N. (2001). Acceptability of low-fat, sugar-free cakes: Effect of providing compositional information during taste-testing. *Journal of the American Dietetic Association*, 101 (3), 354–356.
- Campbell, L. A., Ketelsen, S. M., & Antenucci, R. N. (1994). Formulating oatmeal cookies with calorie-sparing ingredients. *Food Technology*, 48 (5), 98–105.
- Cavallero, A., Empilli, S., Brighenti, F., & Stanca, A. M. (2002). High (1→3, 1→4)- β -glucan barley fractions in bread making and their effects on human glycemic response. *Journal of Cereal Science*, 36 (1), 59–66.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S., & Webb, C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 79 (1–2), 131–141.

- Charlton, O., & Sawyer-Morse, M. K. (1996). Effect of fat replacement on sensory attributes of chocolate chip cookies. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 96 (12), 1288–1290.
- Chau, C. F., & Huang, Y. L. (2005). Effects of the insoluble fiber derived from Passiflora edulis seed on plasma and hepatic lipids and fecal output. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49 (8), 786–790.
- Chen, C., Wang, L., Wang, R., Luo, X., Li, Y., Li, J., Li, Y., & Chen, Z. (2018). Ultrasound-assisted extraction from defatted oat (*Avena sativa* L.) bran to simultaneously enhance phenolic compounds and β-glucan contents: Compositional and kinetic studies. *Journal of Food Engineering*, 222, 1–10.
- Chevallier, S., Colonna, P., Della Valle, G., & Lourdin, D. (2000). Contribution of major ingredients during baking of biscuit dough systems. *Journal of Cereal Science*, 31 (3), 241–252.
- Cho, S. S., Qi, L., Fahey Jr, G. C., & Klurfeld, D. M. (2013). Consumption of cereal fiber, mixtures of whole grains and bran, and whole grains and risk reduction in type 2 diabetes, obesity, and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 98 (2), 594–619.
- Chugh, B., Singh, G., & Kumbhar, B. K. (2013). Development of low-fat soft dough biscuits using carbohydrate-based fat replacers. *International Journal of Food Science*, 1–12.
- Clark, A. H., & Ross-Murphy, S. B. (1987). Structural and mechanical properties of biopolymer gels. In: *Biopolymers*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 57–192.
- Clark, D. (1994). Fat replacers and fat substitutes. *Food Technology*, 48 (12), 86–87.
- Conforti, F. D., & Archilla, L. (2001). Evaluation of a maltodextrin gel as a partial replacement for fat in a high-ratio white-layer cake. *International Journal of Consumer Studies*, 25 (3), 238–245.
- Conforti, F. D., Charles, S. A., & Duncan, S. E. (1996). Sensory evaluation and consumer acceptance of carbohydrate-based fat replacers in biscuits. *International Journal of Consumer Studies*, 20 (3), 285–296.
- Curti, E., Carini, E., Bonacini, G., Tribuzio, G., & Vittadini, E. (2013). Effect of the addition of bran fractions on bread properties. *Journal of Cereal Science*, 57 (3), 325–332.
- Dapčević Hadnađev, T., Hadnađev, M., Pojić, M., Rakita, S., & Krstonošić, V. (2015). Functionality of OSA starch stabilized emulsions as fat replacers in cookies. *Journal of Food Engineering*, 167, 133–138.

- Dimberg, L. H., Gissén, C., & Nilsson, J. (2005). Phenolic compounds in oat grains (*Avena sativa* L.) grown in conventional and organic systems. *Ambio*, 331–337.
- Diplock, A. T., Aggett, P. J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E. B., & Roberfroid, M. B. (1999). Scientific concepts of functional foods in Europe: Concensus document. *British Journal of Nutrition*, 81 (Suppl. 1), S1–S27.
- Duță, D. E., Culețu, A., & Mohan, G. (2018). Reutilization of cereal processing by-products in bread making. In: Galanakis, C. M. (ed.), *Sustainable Recovery and Reutilization of Cereal Processing By-Products*. Woodhead Publishing, pp. 279–317.
- Đorđević, T., & Antov, M. (2017). Ultrasound assisted extraction in aqueous two-phase system for the integrated extraction and separation of antioxidants from wheat chaff. *Separation and Purification Technology*, 182, 52–58.
- Ekholm, P., Virkki, L., Ylinen, M., & Johansson, L. (2003). The effect of phytic acid and some natural chelating agents on the solubility of mineral elements in oat bran. *Food Chemistry*, 80 (2), 165–170.
- El-Sharnouby, G. A., Aleid, S. M., & Al-Otaibi, M. M. (2012). Nutritional quality of biscuit supplemented with wheat bran and date palm fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Food and Nutrition Sciences*, 3 (3), 322–328.
- Emmons, C. L., & Peterson, D. M. (2001). Antioxidant activity and phenolic content of oat as affected by cultivar and location. *Crop Science*, 41 (6), 1676–1681.
- Emmons, C. L., Peterson, D. M., & Paul, G. L. (1999). Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa* L.) extracts. 2. *In vitro* antioxidant activity and contents of phenolic and tocol antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (12), 4894–4898.
- FAO (2008). Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation, Geneva, November 10–14.
- Fardet, A. (2010). New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: What is beyond fibre? *Nutrition Research Reviews*, 23 (1), 65–134.
- Faridi, H. (1990). Application of rheology in the cookie and cracker industry. In: Faridi, H., Faubion, J. M. (eds.), *Dough Rheology and Baked Product Texture*. Springer, Boston, MA, pp. 363–384.
- Finley, J. W., & Leveille, G. A. (1996). Macronutrient substitutes. In: Ziegler, E. E., Filer, L. J. (eds.), *Present Knowledge in Nutrition*. 7th ed., ILSI Press, Washington, pp. 581–595.

- Fišteš, A. (2009). Prilog proučavanju mogućnosti racionalizacije tehnološkog postupka mlevenja pšenice primenom osmovaljne stolice. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Flint, O. (1994). *Food Microscopy: A Manual of Practical Methods, Using Optical Microscopy*. BIOS Scientific Publishers in association with the Royal Microscopical Society, UK.
- Francis, F. J., & Clydesdale, F. M. (1975). *Food Colorimetry: Theory and Applications*. The Avi Publishing Company, INC, Wesport, Connecticut, USA.
- Frye, A. M., & Setser, C. S. (1993). Bulking agents and fat substitutes. In: Altschul, A. M. (ed.), *Low-Calorie Foods Handbook*. Marcel Dekker, New York, USA, 211–251.
- Fulcher, R. G., & Rooney Duke, T. K. (2002). Whole-grain structure and organization: implications for nutritionists and processors. In: Marquart, L., Slavin J. L., Fulcher, R. G. (eds.), *Whole-Grain Foods in Health and Disease*. Eagan Press, St Paul, MN, pp. 9–45.
- Gangloff, M. B. (1992). Composition and *in vitro* digestion of barley, oat, and wheat bran. Doctoral dissertation, Oregon State University, Corvallis, OR, USA.
- García-Estepa, R. M., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (1999). Phytic acid content in milled cereal products and breads. Food Research International, 32 (3), 217–221.
- Gavrilović, M. (2003). *Tehnologija konditorskih proizvoda*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Giarnetti, M., Paradiso, V. M., Caponio, F., Summo, C., & Pasqualone, A. (2015). Fat replacement in shortbread cookies using an emulsion filled gel based on inulin and extra virgin olive oil. LWT-Food Science and Technology, 63 (1), 339–345.
- Giese, J. (1996). Fats and fat replacers: Balancing the health benefits. Food Technology, 50 (9), 76–78.
- Grigelmo-Miguel, N., Carreras-Boladeras, E., & Martin-Belloso, O. (2001). Influence of the addition of peach dietary fiber in composition, physical properties and acceptability of reduced-fat muffins. Food Science and Technology International, 7 (5), 425–431.
- Guinard, J. X., Smiciklas-Wright, H., Marty, C., Sabha, R. A., Soucy, I., Taylor-Davis, S., & Wright, C. (1996). Acceptability of fat-modified foods in a population of older adults: Contrast between sensory preference and purchase intent. Food Quality and Preference, 7 (1), 21–28.

- Gujral, H. S., Mehta, S., Samra, I. S., & Goyal, P. (2003). Effect of wheat bran, coarse wheat flour, and rice flour on the instrumental texture of cookies. *International Journal of Food Properties*, 6 (2), 329–340.
- Gunasekaran, S., & Ak, M. M. (2000). Dynamic oscillatory shear testing of foods – selected applications. *Trends in Food Science & Technology*, 11 (3), 115–127.
- Hailu, G., Boecker, A., Henson, S., & Cranfield, J. (2009). Consumer valuation of functional foods and nutraceuticals in Canada. A conjoint study using probiotics. *Appetite*, 52 (2), 257–265.
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., & Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: Their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36 (6), 2090–2097.
- Hemdane, S., Jacobs, P. J., Dornez, E., Verspreet, J., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2016). Wheat (*Triticum aestivum* L.) bran in bread making: A critical review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15 (1), 28–42.
- Hemery, Y., Rouau, X., Lullien-Pellerin, V., Barron, C., & Abecassis, J. (2007). Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. *Journal of Cereal Science*, 46 (3), 327–347.
- Henry, R. J., Rangan, P., & Furtado, A. (2016). Functional cereals for production in new and variable climates. *Current Opinion in Plant Biology*, 30, 11–18.
- Herranen, M., Kariluoto, S., Edelmann, M., Piironen, V., Ahvenniemi, K., Iivonen, V., & Korhola, M. (2010). Isolation and characterization of folate-producing bacteria from oat bran and rye flakes. *International Journal of Food Microbiology*, 142 (3), 277–285.
- Hippleheuser, A. L., Landberg, L. A., & Turnak, F. L. (1995). A system approach to formulating a low-fat muffin. *Food Technology*, 49 (3), 92–95.
- Hitayezu, R., Baakdah, M. M., Kinnin, J., Henderson, K., & Tsopmo, A. (2015). Antioxidant activity, avenanthramide and phenolic acid contents of oat milling fractions. *Journal of Cereal Science*, 63, 35–40.
- Hossain, K., Ulven, C., Glover, K., Ghavami, F., Simsek, S., Alamri, M. S., ... & Mergoum, M. (2013). Interdependence of cultivar and environment on fiber composition in wheat bran. *Australian Journal of Crop Science*, 7 (4), 525–531.

- Hromádková, Z., Košt’álová, Z., & Ebringerová, A. (2008). Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of phenolics-rich heteroxylans from wheat bran. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15 (6), 1062–1068.
- Inglett, G. E., Carriere, C. J., Maneepun, S., & Tungtrakul, P. (2004). A soluble fibre gel produced from rice bran and barley flour as a fat replacer in Asian foods. *International Journal of Food Science & Technology*, 39 (1), 1–10.
- Inglett, G. E., Warner, K., & Newman, R. K. (1994). Sensory and nutritional evaluations of Oatrim. *Cereal Foods World*, 39 (10), 755–758.
- International Food Information Council Foundation Food & Health Survey (IFICF) (2009). Washington, DC.
http://www.foodinsight.org/Resources/Detail.aspx?topic=2009_Food_Health_Survey_Consumer_Attitudes_toward_Food_Nutrition_and_Health
- International Organization for Standardization (ISO) (2005). Sensory analysis – Methodology – Paired comparison test. No. 5495.
- International Organization for Standardization (ISO) (2005). Sensory analysis – Methodology – General guidance. No. 6658.
- International Organization for Standardization (ISO) (2007). 2007. Sensory analysis – General guidance for the design of test rooms. No. 8589.
- Iqbal, S., Bhanger, M. I., & Anwar, F. (2007). Antioxidant properties and components of bran extracts from selected wheat varieties commercially available in Pakistan. *LWT-Food Science and Technology*, 40 (2), 361–367.
- Jacob, J., & Leelavathi, K. (2007). Effect of fat-type on cookie dough and cookie quality. *Journal of Food Engineering*, 79 (1), 299–305.
- Javed, M. M., Zahoor, S., Shafaat, S., Mehmooda, I., Gul, A., Rasheed, H., & Aftab, M. N. (2012). Wheat bran as a brown gold: Nutritious value and its biotechnological applications. *African Journal of Microbiology Research*, 6 (4), 724–733.
- Joglekar, A. M., & May, A. T. (1987). Product excellence through design of experiments. *Cereal Foods World*, 32 (12), 857–868.
- Jung, J. Y., Kim, S. A., & Chung, H. J. (2005). Quality characteristics of low-fat muffin containing corn bran fiber. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 34 (5), 694–699.
- Kaack, K., & Pedersen, L. (2005). Low energy chocolate cake with potato pulp and yellow pea hulls. *European Food Research and Technology*, 221 (3–4), 367–375.

- Kalinga, D., & Mishra, V. K. (2009). Rheological and physical properties of low fat cakes produced by addition of cereal β -glucan concentrates. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33 (3), 384–400.
- Karlović, Đ., & Andrić, N. (1996). *Kontrola kvaliteta semena uljarica*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, Savezno ministarstvo za nauku, tehnologiju i razvoj, Beograd, Savezni zavod za standardizaciju, Beograd.
- Karper, Dž. (1995). Hrana - Vaš čudesni lek, prevod: Pavićević-Stojanović, M., & Pavićević-Tjapkin, R., Narodna knjiga-Alfa, Beograd, str. 249–250.
- Kaukovirta-Norja, A., & Lethinen, P. (2008). Traditional and modern oat-based foods. In: Hamaker, B. R. (ed.), *Technology of Functional Cereal Products*. Woodhead Publishing Limited & CRC Press, Cambridge, England, pp. 215–232.
- Kaur, N., & Singh, D. P. (2017). Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. *Appetite*, 112, 167–187.
- Kaur, S., Sharma, S., & Nagi, H. P. S. (2011). Functional properties and antinutritional factors in cereal bran. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 4 (2), 122–131.
- Khalid, K. H., Ohm, J. B., & Simsek, S. (2017). Whole wheat bread: Effect of bran fractions on dough and end-product quality. *Journal of Cereal Science*, 78, 48–56.
- Khalil, A. W., Ali, J., Masood, T., Arif, M., Parvez, M., & Hassan, S. (2015). Effect of oat bran on the quality of enriched high fiber biscuits. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 10, 68–73.
- Kim, K. H., Tsao, R., Yang, R., & Cui, S. W. (2006). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*, 95 (3), 466–473.
- Kocer, D., Hicsasmaz, Z., Bayindirli, A., & Katnas, S. (2007). Bubble and pore formation of the high-ratio cake formulation with polydextrose as a sugar-and fat-replacer. *Journal of Food Engineering*, 78 (3), 953–964.
- Kotilainen, L., Rajalahti, R., Ragasa, C., & Pehu, E. (2006). *Health Enhancing Foods: Opportunities for Strengthening the Sector in Developing Countries*. Agriculture and Rural Development, The World Bank, Washington, DC, pp. 1–82.
- Kováčová, M., & Malinová, E. (2007). Ferulic and coumaric acids, total phenolic compounds and their correlation in selected oat genotypes. *Czech Journal of Food Sciences*, 25 (6), 325–332.

- Kroon, P. A. (2000). What role for feruloyl esterases today? *Polyphénols Actualités*, 19, 4–5.
- Kruger, C. L., & Mann, S. W. (2003). Safety evaluation of functional ingredients. *Food and Chemical Toxicology*, 41 (6), 793–805.
- Laguna, L., Primo-Martín, C., Varela, P., Salvador, A., & Sanz, T. (2014). HPMC and inulin as fat replacers in biscuits: Sensory and instrumental evaluation. *LWT-Food Science and Technology*, 56 (2), 494–501.
- Lásztity, R. (1998). Oat grain – A wonderful reservoir of natural nutrients and biologically active substances. *Food Reviews International*, 14 (1), 99–119.
- Lazaridou, A., & Biliaderis, C. G. (2007). Molecular aspects of cereal β -glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *Journal of Cereal Science*, 46 (2), 101–118.
- Lee, S., & Inglett, G. E. (2006). Rheological and physical evaluation of jet-cooked oat bran in low calorie cookies. *International Journal of Food Science & Technology*, 41 (5), 553–559.
- Lee, S., Kim, S., & Inglett, G. E. (2005). Effect of shortening replacement with oatrim on the physical and rheological properties of cakes. *Cereal Chemistry*, 82 (2), 120–124.
- Lee, W. H., & Riemann, H. (1971). The inhibition and destruction of Enterobacteriaceae of pathogenic and public health significance. In: Hugo, W. B. (ed.), *Inhibition and Destruction of the Microbial Cell*. Academic Press, London, pp. 399–418.
- Leong, S. L. Pettersson, O. V., Rice, T., Hocking, A. D., & Schnürer, J. (2011). The extreme xerophilic mould *Xeromyces bisporus* – growth and competition at various water activities. *International Journal of Food Microbiology*, 145 (1), 57–63.
- Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78 (3), 517S–520S.
- Liu, R. H. (2007). Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, 46 (3) 207–219.
- Liyana-Pathirana, C. M., & Shahidi, F. (2007). The antioxidant potential of milling fractions from breadwheat and durum. *Journal of Cereal Science*, 45 (3), 238–247.
- Lu, Y., & Luthria, D. (2016). Influence of gelatinization on the extraction of phenolic acids from wheat fractions. *Food Chemistry*, 194, 1138–1142.

- Lu, Y., Lv, J., Hao, J., Niu, Y., Whent, M., Costa, J., & Yu, L. L. (2015). Genotype, environment, and their interactions on the phytochemical compositions and radical scavenging properties of soft winter wheat bran. *LWT-Food Science and Technology*, 60 (1), 277–283.
- Lucca, P. A., & Tepper, B. J. (1994). Fat replacers and the functionality of fat in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 5(1), 12–19.
- Luque-Garcia, J. L., & De Castro, M. L. (2003). Ultrasound: A powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry TRAC*, 22 (1), 41–47.
- Maache-Rezzoug, Z., Bouvier, J. M., Allaf, K., & Patras, C. (1998). Effect of principal ingredients on rheological behaviour of biscuit dough and on quality of biscuits. *Journal of Food Engineering*, 35 (1), 23–42.
- MacDougall, A. J., Selvendran, R. R. (2001). Chemistry, architecture, and composition of dietary fiber from plant cell walls. In: Cho, S. S., Dreher, M. L. (eds.), *Handbook of Dietary Fiber*. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 281–320.
- Mamat, H., Hardan, M. O. A., & Hill, S. E. (2010). Physicochemical properties of commercial semi-sweet biscuit. *Food Chemistry*, 121 (4), 1029–1038.
- Manley, D. (2001). *Biscuit, Cracker and Cookie Recipes for the Food Industry*. 1st ed., Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, UK.
- Marlett, J. A. (1993). Comparisons of dietary fiber and selected nutrient compositions of oat and other grain fractions. In: Wood, P. J. (ed.), *Oat Bran*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, pp. 49–82.
- Martínez-Cervera, S., Salvador, A., & Sanz, T. (2015). Cellulose ether emulsions as fat replacers in muffins: Rheological, thermal and textural properties. *LWT-Food Science and Technology*, 63 (2), 1083–1090.
- Martínez-Cervera, S., Salvador, A., Muguerza, B., Moulay, L., & Fiszman, S. M. (2011). Cocoa fibre and its application as a fat replacer in chocolate muffins. *LWT-Food Science and Technology*, 44 (3), 729–736.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J. P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics sonochemistry*, 3 (3), S253–S260.
- Mattila, P., Pihlava, J. M., & Hellström, J. (2005). Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (21), 8290–8295.

- Mellentin, J. (2014). *Failures in Functional Foods and Beverages*. New Nutrition Business, London.
- Menezes, E., Deliza, R., Chan, H. L., & Guinard, J. X. (2011). Preferences and attitudes towards açaí-based products among North American consumers. *Food Research International*, 44 (7), 1997–2008.
- Menrad, K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56 (2–3), 181–188.
- Menjivar, J. A., & Faridi, H. (1994). Rheological properties of cookie and cracker doughs. In: Faridi, H. (ed.), *The Science of Cookie and Cracker Production*. Chapman & Hall, New York, pp. 283–322.
- Milner, J. A. (2000). Functional foods: the US perspective. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (6), 1654S–1659S
- Min, B., Bae, I. Y., Lee, H. G., Yoo, S. H., & Lee, S. (2010a). Utilization of pectin-enriched materials from apple pomace as a fat replacer in a model food system. *Bioresource Technology*, 101 (14), 5414–5418.
- Min, B., Lee, S. M., Yoo, S. H., Inglett, G. E., & Lee, S. (2010b). Functional characterization of steam jet-cooked buckwheat flour as a fat replacer in cake-baking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90 (13), 2208–2213.
- Møller, J. K., Madsen, H. L., Aaltonen, T., & Skibsted, L. H. (1999). Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants. *Food Chemistry*, 64 (2), 215–219.
- Moore, J., Hao, Z., Zhou, K., Luther, M., Costa, J., & Yu, L. (2005). Carotenoid, tocopherol, phenolic acid, and antioxidant properties of Maryland-grown soft wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (17), 6649–6657.
- Nandeesh, K., Jyotsna, R., & Venkateswara Rao, G. (2011). Effect of differently treated wheat bran on rheology, microstructure and quality characteristics of soft dough biscuits. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35 (2), 179–200.
- Napier, K. (1997). *Fat Replacers: The Cutting Edge of Cutting Calories*. American Council on Science and Health, New York. Available from ACSH (www.acsh.org).
- Nilsson, A. C., Ostman, E. M., Holst, J. J., & Björck, I. M. (2008). Including indigestible carbohydrates in the evening meal of healthy subjects improves glucose tolerance, lowers inflammatory markers, and increases satiety after a subsequent standardized breakfast. *The Journal of Nutrition*, 138 (4), 732–739.

- O'Shea, N., Ktenioudaki, A., Smyth, T. P., McLoughlin, P., Doran, L., Auty, M. A. E., Arendt, E. K., Gallagher, E. (2015). Physicochemical assessment of two fruit by-products as functional ingredients: Apple and orange pomace. *Journal of Food Engineering*, 153, 89–95.
- Oh, I. K., & Lee, S. (2018). Utilization of foam structured hydroxypropyl methylcellulose for oleogels and their application as a solid fat replacer in muffins. *Food Hydrocolloids*, 77, 796–802.
- Onyeneho, S. N., & Hettiarachchy, N. S. (1992). Antioxidant activity of durum wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40 (9), 1496–1500.
- Oreopoulou, V. (2006). *Fat Replacers*. In: Hui, Y. H. (ed.), *Bakery Products – Science and Technology*, Blackwell, Oxford, pp. 193–210.
- Owusu-Apenten, R. (2004). *Introduction to Food Chemistry*. CRC Press, Washington, DC.
- Palzer, S. (2009). Food structures for nutrition, health and wellness. *Trends in Food Science & Technology*, 20 (5), 194–200.
- Pareyt, B., Talhaoui, F., Kerckhofs, G., Brijs, K., Goesaert, H., Wevers, M., & Delcour, J. A. (2009). The role of sugar and fat in sugar-snap cookies: Structural and textural properties. *Journal of Food Engineering*, 90 (3), 400–408.
- Parker, M. L., Ng, A., & Waldron, K. W. (2005). The phenolic acid and polysaccharide composition of cell walls of bran layers of mature wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Avalon) grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 (15), 2539–2547.
- Patel, S. (2015) Cereal bran fortified-functional foods for obesity and diabetes management: Triumphs, hurdles and possibilities, *Journal of Functional Foods*, 14, 255–269.
- Pestorić, M. (2011). Razvoj i vrednovanje senzorskih i instrumentalnih metoda za ocjenu teksturnih svojstava tjestenine. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Peterson, D. M. (2001). Oat antioxidants. *Journal of Cereal Science*, 33 (2), 115–129.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). Spoilage of stored, processed and preserved foods. In: Pitt, J. I., Hocking, A. D. (eds.), *Fungi and Food Spoilage*, Springer, Boston, MA, pp. 489–507.
- Pojić, M., Hadnađev, M., & Dapčević Hadnađev, T. (2013). Gelatinization properties of wheat flour as determined by empirical and fundamental rheometric method. *European Food Research and Technology*, 237, 299–307.

- Popov-Raljić, J. V., Mastilović, J. S., Laličić-Petronijević, J. G., Kvrešan, Ž. S., & Demin, M. A. (2013). Sensory and color properties of dietary cookies with different fiber sources during 180 days of storage. *Hemija industrija*, 67 (1), 123–134.
- Pravilnik o deklarisanju, označavanju i reklamiranju hrane. Službeni glasnik RS, 19/2017 i 16/2018.
- Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za fine pekarske proizvode, žita za doručak i snek proizvode. Službeni list SCG, 12/2005 i Službeni glasnik RS, 43/2013 i 68/2016.
- Pravilnik o metodima fizičkih i hemijskih analiza za kontrolu kvaliteta žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo smrznutih testa. Službeni list SFRJ, 74/1988.
- Pravilnik o mikrobiološkoj ispravnosti namirnica u prometu. Službeni list SRJ, 26/1993, 53/1995 i 46/2002 (član 45).
- Pravilnik o prehrambenim i zdravstvenim izjavama koje se navode na deklaraciji hrane. Službeni glasnik RS, 51/2018.
- Prückler, M., Siebenhandl-Ehn, S., Apprich, S., Höltlinger, S., Haas, C., Schmid, E., & Kneifel, W. (2014). Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization. *LWT-Food Science and Technology*, 56 (2), 211–221.
- Ralet, M. C., Thibault, J. F., & Della Valle, G. (1990). Influence of extrusion-cooking on the physico-chemical properties of wheat bran. *Journal of Cereal Science*, 11 (3), 249–259.
- Rebolleda, S., Sanz, M. T., Benito, J. M., Beltrán, S., Escudero, I., & San-José, M. L. G. (2015). Formulation and characterisation of wheat bran oil-in-water nanoemulsions. *Food Chemistry*, 167, 16–23.
- Rimsten, L. (2003). Extractable cell-wall polysaccharides in cereals, with emphasis on β -glucan in steeped and germinated barley. Doctoral dissertation, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Roberfroid, M. B. (2000). Concepts and strategy of functional food science: The European perspective. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (6), 1660S–1664S.
- Roberfroid, M. B. (2002). Global view on functional foods: European perspectives. *British Journal of Nutrition*, 88 (S2), S133–S138.
- Rodriguez, R., Jimenez, A., Fernández-Bolanos, J., Guillen, R., & Heredia, A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 17 (1), 3–15.
- Roller, S., & Jones, S. A. (1996). *Handbook of Fat Replacers*. CRC Press, New York.

- Romanchik-Cerpovicz, J. E., Tilmon, R. W., & Baldree, K. A. (2002). Moisture retention and consumer acceptability of chocolate bar cookies prepared with okra gum as a fat ingredient substitute. *Journal of the American Dietetic Association*, 102 (9), 1301–1303.
- Roselló-Soto, E., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Orlien, V., Trujillo, F. J., Mawson, R., Knoerzer, K., Tiwari, B. T., & Barba, F. J. (2015). Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by-products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. *Trends in Food Science & Technology*, 42 (2), 134–149.
- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C. (2004). *Introduction to Food- and Airborne Fungi*. 7th ed., Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
- Sanchez, C., Klopfenstein, C. F., & Walker, C. E. (1995). Use of carbohydrate-based fat substitutes and emulsifying agents in reduced-fat shortbread cookies. *Cereal Chemistry*, 72 (1), 25–29.
- Santeramo, F. G., Carlucci, D., De Devitiis, B., Seccia, A., Stasi, A., Visceccchia, R., & Nardone, G. (2018). Emerging trends in European food, diets and food industry. *Food Research International*, 104, 39–47.
- Santiago-García, P. A., Mellado-Mojica, E., León-Martínez, F. M., & López, M. G. (2017). Evaluation of Agave angustifolia fructans as fat replacer in the cookies manufacture. *LWT-Food Science and Technology*, 77, 100–109.
- Shaltout, O. E., & Youssef, M. M. (2007). Fat replacement and their applications in food products: A review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 4, 29–44.
- Sharma, H. R., & Chauhan, G. S. (2002). Effects of stabilized rice bran: Fenugreek blends on the quality of breads and cookies. *Journal of Food Science and Technology*, 39 (3), 225–233.
- Shukla, T. P. (1995). Problems in fat-free and sugarless baking. *Cereal Foods World*, 40, 159–160.
- Singer, N. S., & Moser, R. H. (1993). Microparticulated protein as fat substitutes. In: Altschul, A. M. (ed.), *Low-Calorie Foods Handbook*. Marcel Dekker, New York, USA, 171–180.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.

- Siro, I., Kapolna, E., Kapolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance – A review. *Appetite*, 51 (3), 456–467.
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5 (4), 1417–1435.
- Sloan, A. E., & Stiedemann, M. K. (1995). Free fat at last? Don't bet on it!. *Cereal Foods World*, 803–809.
- Sozer, N., Cicerelli, L., Heinö, R. L., & Poutanen, K. (2014). Effect of wheat bran addition on *in vitro* starch digestibility, physico-mechanical and sensory properties of biscuits. *Journal of Cereal Science*, 60 (1), 105–113.
- Spence, J. T. (2006). Challenges related to the composition of functional foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (Suppl.), S4–S6.
- SRPS EN ISO 11290-1:2010. Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Listeria monocytogenes* – Deo 1: Metoda otkrivanja.
- SRPS EN ISO 4833-1:2014. Mikrobiologija lanca hrane – Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama – Deo 1: Brojanje kolonija na 30 °C tehnikom nalivanja ploča.
- SRPS EN ISO 6579:2008. Horizontalna metoda za otkrivanje *Salmonella* spp.
- SRPS EN ISO 6888-1:2008. Horizontalna metoda za određivanje broja koagulaza pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus* i druge vrste). – Deo 1: Tehnika upotrebljene agara po Berd-Parkeru.
- SRPS EN ISO 7932:2008. Horizontalna metoda za određivanje broja suspektnog *Bacillus cereus* – Tehnika brojanja kolonija na 30 °C.
- SRPS EN ISO 8586:2015. Senzorske analize – Opšta uputstva za odabir, obuku i praćenje odabranih ocenjivača i stručnjaka za senzorska ocenjivanja.
- SRPS ISO 11036:2002. Senzorske analize – Metodologija – Profil teksture.
- SRPS ISO 11037:2013. Senzorske analize – Uputstva za senzorsko ocenjivanje boje proizvoda.
- SRPS ISO 15213:2011. Horizontalna metoda za određivanje broja sulfitoredučujućih bakterija koje rastu pod anaerobnim uslovima.
- SRPS ISO 21527-2:2011. Horizontalna metoda za određivanje broja kvasaca i plesni – Deo 2: Tehnika brojanja kolonija u proizvodima sa aktivnošću vode manjom od 0,95 ili jednakom 0,95.

- SRPS ISO 21528-2:2009. Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja Enterobacteriaceae – Deo 2: Metoda brojanja kolonija.
- SRPS ISO 3972:2011. Senzorske analize – Metodologija – Metoda utvrđivanja osjetljivosti čula ukusa.
- Stanyon, P., & Costello, C. (1990). Effects of wheat bran and polydextrose on the sensory characteristics of biscuits. *Cereal Chemistry*, 67 (6), 545–547.
- Stevenson, L., Phillips, F., O'Sullivan, K., & Walton, J. (2012). Wheat bran: Its composition and benefits to health, a European perspective. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63 (8), 1001–1013.
- Sudha, M. L., Srivastava, A. K., Vetrimani, R., & Leelavathi, K. (2007). Fat replacement in soft dough biscuits: Its implications on dough rheology and biscuit quality. *Journal of Food Engineering*, 80 (3), 922–930.
- Sun, T., & Ho, C. T. (2008). Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Cereals. In: Shibamoto, T., Kanazawa, K., Shahidi, F., Ho, C. (eds.), *Functional Food and Health*. ACS symposium series 993, American Chemical Society, Washington, DC (2008), pp. 143–150.
- Swanson, R. B., Garden, L. A., & Parks, S. S. (1999). Effect of a carbohydrate-based fat substitute and emulsifying agents on reduced-fat peanut butter cookies. *Journal of Food Quality*, 22 (1), 19–29.
- Šarić, B. (2016). Iskorišćenje tropa borovnice i maline u formulaciji bezglutenskog keksa sa dodatom vrednošću. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Tabaraki, R., & Nateghi, A. (2011). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18 (6), 1279–1286.
- Tong, L. T., Zhong, K., Liu, L., Qiu, J., Guo, L., Zhou, X., & Zhou, S. (2014). Effects of dietary wheat bran arabinoxylans on cholesterol metabolism of hypercholesterolemic hamsters. *Carbohydrate Polymers*, 112, 1–5.
- Urala, N., & Lähteenmäki, L. (2007). Consumers' changing attitudes towards functional foods. *Food Quality and Preference*, 18 (1), 1–12.
- Vecchio, R., Van Loo, E. J., & Annunziata, A. (2016). Consumers' willingness to pay for conventional, organic and functional yogurt: evidence from experimental auctions. *International Journal of Consumer Studies*, 40 (3), 368–378.

- Verardo, V., Serea, C., Segal, R., & Caboni, M. F. (2011). Free and bound minor polar compounds in oats: Different extraction methods and analytical determinations. *Journal of Cereal Science*, 54 (2), 211–217.
- Vetter J. L. (1993). Low-calorie bakery foods. In: Altschul, A. M. (ed.), *Low-Calorie Foods Handbook*. Marcel Dekker, New York, USA, 273–291.
- Vinatoru, M., Toma, M., Radu, O., Filip, P. I., Lazurca, D., & Mason, T. J. (1997). The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry*, 4 (2), 135–139.
- Vitaglione, P., Napolitano, A., & Fogliano, V. (2008). Cereal dietary fibre: A natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends in Food Science & Technology*, 19 (9), 451–463.
- Vitali, D., Dragojević, I. V., & Šebečić, B. (2009). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 114 (4), 1462–1469.
- Wade, P. (1988). *Biscuits, Cookies and Crackers, Volume 1: The Principles of the Craft*. Elsevier Applied Science, London and New York.
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106 (2), 804–810.
- Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17 (6), 300–312.
- Warner, K., & Inglett, G. E. (1997). Flavor and texture characteristics of foods containing Z-trim corn and oat fibers as fat and flour replacers. *Cereal Foods World*, 42 (10), 821–825.
- Wekwete, B., & Navder, K. P. (2005). Effect of avocado puree as a fat replacer on the physical, textural and sensory properties of oatmeal cookies. *Journal of the American Dietetic Association*, 105 (8), A47.
- Wood P. (1997). Functional foods for health: Opportunities for novel cereal processes and products. In: Campbell, G. M., Webb, C., McKee, S. L. (eds.), *Cereals Novel Uses and Processes*. Plenum Press, New York, pp. 233–239.
- Wylie-Rosett, J. (2002). Fat substitutes and health: An advisory from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation*, 105 (23), 2800–2804.

- Xu, J. G., Tian, C. R., Hu, Q. P., Luo, J. Y., Wang, X. D., & Tian, X. D. (2009). Dynamic changes in phenolic compounds and antioxidant activity in oats (*Avena nuda* L.) during steeping and germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (21), 10392–10398.
- Yılmaz, İ., & Dağlıoğlu, O. (2003). The effect of replacing fat with oat bran on fatty acid composition and physicochemical properties of meatballs. *Meat Science*, 65 (2), 819–823.
- Youngs, V. L., Puskulcu, M., & Smith, R. R. (1977). Oat lipids. 1. Composition and distribution of lipid components in two oat cultivars. *Cereal Chemistry*, 54 (4), 803–812.
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J., & Qian, M. (2002). Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (6), 1619–1624.
- Zahn, S., Pepke, F., & Rohm, H. (2010). Effect of inulin as a fat replacer on texture and sensory properties of muffins. *International Journal of Food Science & Technology*, 45 (12), 2531–2537.
- Zhou, K., & Yu, L. (2004). Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT-Food Science and Technology*, 37 (7), 717–721.
- Zielinski, H., & Kozłowska, H. (2000). Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (6), 2008–2016.
- Zoulias, E. I., Oreopoulou, V., & Kounalaki, E. (2002a). Effect of fat and sugar replacement on cookie properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82 (14), 1637–1644.
- Zoulias, E. I., Oreopoulou, V., & Tzia, C. (2000a). Effect of fat mimetics on physical, textural and sensory properties of cookies. *International Journal of Food Properties*, 3 (3), 385–397.
- Zoulias, E. I., Oreopoulou, V., & Tzia, C. (2002b). Textural properties of low-fat cookies containing carbohydrate- or protein-based fat replacers. *Journal of Food Engineering*, 55 (4), 337–342.
- Zoulias, E. I., Piknis, S., & Oreopoulou, V. (2000b). Effect of sugar replacement by polyols and acesulfame-K on properties of low-fat cookies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 (14), 2049–2056.

7. PRILOG

Prilog 1. Masnokiselinski profil pšeničnih i ovsenih mekinja

Masne kiseline	Udeo masne kiseline (%) u ukupnim masnim kiselinama	
	Pšenične mekinje	Ovsene mekinje
C16:0 (palmitinska)	18,40	17,79
C18:0 (stearinska)	1,01	1,22
SFA	19,41	19,01
C18:1n9 (oleinska)	16,67	38,29
MUFA	16,67	38,29
C18:2n6 (linolna)	58,57	41,10
C18:3n3 (α -linoleinska)	5,35	1,61
PUFA	63,92	42,70
UFA (MUFA + PUFA)	80,59	80,99
PUFA/SFA	3,29	2,24

MUFA – mononezasićene masne kiseline; PUFA – polinezasićene masne kiseline; UFA – nezasićene masne kiseline (ukupne); SFA – zasićene masne kiseline

Prilog 2. Vrednosti Pearsonovih koeficijenata korelacije između određivanih parametara

	L	a	b	ΔE	R	T	R/T	BWL	a_w	M	H	F
L	1	-0,985 p=0,000	-0,861 p=0,028	0,950 p=0,004	-0,917 p=0,010	0,789 p=0,062	-0,860 p=0,028	-0,372 p=0,468	0,808 p=0,052	0,530 p=0,280	0,890 p=0,018	0,361 p=0,482
a		1	0,927 p=0,008	-0,983 p=0,000	0,938 p=0,006	-0,794 p=0,059	0,869 p=0,025	0,518 p=0,293	-0,893 p=0,016	-0,626 p=0,184	-0,942 p=0,005	-0,439 p=0,384
b			1	-0,976 p=0,001	0,916 p=0,010	-0,776 p=0,070	0,842 p=0,036	0,769 p=0,074	-0,937 p=0,006	-0,852 p=0,031	-0,961 p=0,002	-0,641 p=0,171
ΔE				1	-0,942 p=0,005	0,806 p=0,053	-0,875 p=0,023	-0,622 p=0,187	0,912 p=0,011	0,745 p=0,089	0,963 p=0,002	0,558 p=0,249
R					1	-0,887 p=0,019	0,951 p=0,004	0,568 p=0,240	-0,795 p=0,059	-0,757 p=0,081	-0,902 p=0,014	-0,407 p=0,423
T						1	-0,986 p=0,000	-0,545 p=0,264	0,648 p=0,164	0,731 p=0,099	0,858 p=0,029	0,576 p=0,231
R/T							1	0,557 p=0,251	-0,716 p=0,109	-0,748 p=0,088	-0,895 p=0,016	-0,519 p=0,291
BWL								1	-0,778 p=0,068	-0,880 p=0,021	-0,733 p=0,097	-0,765 p=0,077
a_w									1	0,698 p=0,123	0,943 p=0,005	0,607 p=0,201
M										1	0,774 p=0,071	0,746 p=0,088
H											1	0,681 p=0,136
F												1

Vrednosti označene crvenom bojom ukazuju na jaku korelaciju, dok vrednosti koje su bodovane ukazuju na umerenu korelaciju

	L	a	b	ΔE	R	T	D/T	BWL	a_w	M	H	F
Površinska hrapavost	0,151 p=0,776	-0,020 p=0,970	0,099 p=0,852	0,027 p=0,960	0,036 p=0,946	-0,085 p=0,873	0,071 p=0,894	0,560 p=0,248	-0,294 p=0,572	-0,199 p=0,706	-0,168 p=0,750	-0,120 p=0,821
Uočljivost mekinja	0,831 p=0,040	-0,737 p=0,095	-0,450 p=0,371	0,625 p=0,185	-0,664 p=0,150	0,523 p=0,287	-0,600 p=0,208	0,181 p=0,731	0,399 p=0,434	0,038 p=0,944	0,501 p=0,312	-0,158 p=0,765
Lomljivost/krtost	0,875 p=0,022	-0,928 p=0,008	-0,986 p=0,000	0,973 p=0,001	-0,947 p=0,004	0,871 p=0,024	-0,917 p=0,010	-0,746 p=0,089	0,895 p=0,016	0,868 p=0,025	0,973 p=0,001	0,661 p=0,153
Tvrdoća	0,754 p=0,083	-0,824 p=0,044	-0,956 p=0,003	0,912 p=0,011	-0,793 p=0,060	0,703 p=0,119	-0,745 p=0,089	-0,788 p=0,063	0,877 p=0,022	0,876 p=0,022	0,907 p=0,013	0,799 p=0,057
Gustina	0,312 p=0,548	-0,317 p=0,540	-0,504 p=0,308	0,453 p=0,367	-0,497 p=0,316	0,535 p=0,274	-0,521 p=0,289	-0,392 p=0,442	0,194 p=0,713	0,753 p=0,084	0,385 p=0,451	0,552 p=0,256
Miris na sirovine	0,802 p=0,055	-0,823 p=0,044	-0,879 p=0,021	0,882 p=0,020	-0,841 p=0,036	0,601 p=0,207	-0,696 p=0,124	-0,494 p=0,319	0,706 p=0,117	0,744 p=0,090	0,747 p=0,088	0,416 p=0,412
Intenitet boje	-0,688 p=0,131	0,793 p=0,060	0,949 p=0,004	-0,873 p=0,023	0,759 p=0,080	-0,659 p=0,154	0,704 p=0,118	0,903 p=0,014	-0,939 p=0,005	-0,874 p=0,023	-0,913 p=0,011	-0,782 p=0,066
Strani miris	-0,361 p=0,482	0,468 p=0,349	0,728 p=0,101	-0,610 p=0,199	0,433 p=0,391	-0,421 p=0,406	0,421 p=0,406	0,837 p=0,038	-0,682 p=0,136	-0,818 p=0,047	-0,661 p=0,153	-0,911 p=0,011
Sladak ukus	-0,741 p=0,092	0,837 p=0,038	0,929 p=0,007	-0,875 p=0,022	0,828 p=0,042	-0,787 p=0,063	0,819 p=0,046	0,881 p=0,020	-0,948 p=0,004	-0,826 p=0,043	-0,957 p=0,003	-0,702 p=0,120
Strani ukus	0,633 p=0,178	-0,743 p=0,091	-0,793 p=0,060	0,738 p=0,094	-0,697 p=0,124	0,438 p=0,385	-0,542 p=0,266	-0,728 p=0,101	0,892 p=0,017	0,577 p=0,230	0,750 p=0,086	0,281 p=0,590
Oblaganje zuba	0,345 p=0,503	-0,493 p=0,321	-0,710 p=0,114	0,574 p=0,234	-0,456 p=0,363	0,188 p=0,721	-0,280 p=0,591	-0,832 p=0,040	0,771 p=0,073	0,669 p=0,146	0,578 p=0,230	0,453 p=0,367
Kohezivnost	0,302 p=0,561	-0,427 p=0,399	-0,716 p=0,110	0,570 p=0,238	-0,461 p=0,358	0,269 p=0,606	-0,329 p=0,524	-0,815 p=0,048	0,632 p=0,179	0,828 p=0,042	0,542 p=0,267	0,632 p=0,179
Hrskavost	-0,847 p=0,033	0,909 p=0,012	0,989 p=0,000	-0,964 p=0,002	0,917 p=0,010	-0,844 p=0,035	0,887 p=0,018	0,783 p=0,066	-0,907 p=0,013	-0,884 p=0,019	-0,972 p=0,001	-0,711 p=0,113

Vrednosti označene crvenom bojom ukazuju na jaku korelaciju, dok vrednosti koje su bodovane ukazuju na umerenu korelaciju

	Površinska hrapavost	Uočljivost mekinja	Lomljivost/krtost	Tvrdoća	Gustina	Miris na sirovine	Intenitet boje	Strani miris	Sladak ukus	Strani ukus	Oblaganje zuba	Kohezivnost	Hrskavost
Površinska hrapavost	1	0,374 p=0,466	-0,086 p=0,871	0,009 p=0,986	0,394 p=0,439	0,300 p=0,563	0,256 p=0,624	0,090 p=0,865	0,422 p=0,405	-0,517 p=0,294	-0,430 p=0,395	-0,123 p=0,817	0,099 p=0,852
Uočljivost mekinja		1	0,480 p=0,335	0,282 p=0,589	0,033 p=0,950	0,527 p=0,282	-0,176 p=0,739	0,192 p=0,716	-0,283 p=0,587	0,311 p=0,548	-0,103 p=0,846	-0,192 p=0,716	-0,420 p=0,407
Lomljivost/krtost			1	0,938 p=0,006	0,556 p=0,252	0,852 p=0,031	-0,916 p=0,010	-0,689 p=0,130	-0,928 p=0,008	0,723 p=0,105	0,602 p=0,206	0,640 p=0,171	-0,996 p=0,000
Tvrdoća				1	0,617 p=0,192	0,858 p=0,029	-0,961 p=0,002	-0,879 p=0,021	-0,870 p=0,024	0,650 p=0,162	0,699 p=0,122	0,802 p=0,055	-0,961 p=0,002
Gustina					1	0,672 p=0,144	-0,453 p=0,367	-0,595 p=0,213	-0,318 p=0,539	-0,020 p=0,970	0,183 p=0,729	0,597 p=0,211	-0,563 p=0,244
Miris na sirovine						1	-0,753 p=0,084	-0,603 p=0,206	-0,643 p=0,169	0,580 p=0,227	0,577 p=0,231	0,709 p=0,115	-0,846 p=0,034
Intenitet boje							1	0,873 p=0,023	0,946 p=0,004	-0,791 p=0,061	-0,822 p=0,045	-0,819 p=0,046	0,944 p=0,005
Strani miris								1	0,707 p=0,116	-0,453 p=0,367	-0,723 p=0,104	-0,884 p=0,019	0,747 p=0,088
Sladak ukus									1	-0,834 p=0,039	-0,713 p=0,112	-0,628 p=0,182	0,938 p=0,006
Strani ukus										1	0,852 p=0,031	0,587 p=0,221	-0,724 p=0,104
Oblaganje zuba											1	0,880 p=0,021	-0,640 p=0,171
Kohezivnost												1	-0,686 p=0,133
Hrskavost													1

Vrednosti označene crvenom bojom ukazuju na jaku korelaciju, dok vrednosti koje su bodovane ukazuju na umerenu korelaciju