

ODREĐIVANJE SADRŽAJA UKUPNIH POLIFENOLA I ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI BEZGLUTENSKIH KREKERA NA BAZI KISELOG TIJESTA

Hurija Alibašić¹, Halid Junuzović¹, Amel Selimović¹, Amra Selimović¹, Milica
Vilušić¹, Tijana Brčina¹, Martina Tanović¹

Originalni naučni rad – *Original scientific paper*

Rezime

Cilj ovog rada je bio ispitati sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativnu aktivnost bezglutenskog kiselog heljdinog tijesta i krekeri na bazi kiselog heljdinog tijesta. Za pripremu bezglutenskih krekeri na bazi kiselog heljdinog tijesta, tijesto je pripremljeno dodatkom liofilizirane starter kulture. Receptura bezglutenskih krekeri na bazi kiselog heljdinog tijesta je pripremljena miješanjem pšeničnog bezglutenskog brašna sa dodatkom 10% i 20% heljdinog kiselog tijesta, kao i pšeničnog bezglutenskog brašna sa 20% heljdinog brašna. Kao kontrolni uzorak pripremljeno je tijesto i krekeri od pšeničnog bezglutenskog brašna. Ukupni polifenoli u vodenom ekstraktu tijesta za krekeri i krekerima određeni su modificiranom metodom po Folin–Ciocalteu. Za određivanje antioksidativne aktivnosti korištene su dvije različite metode, FRAP i DPPH. FRAP metodom utvrđena je antioksidativna aktivnost u tijestu za krekeri i krekerima dok je DPPH metodom praćen uticaj vremena na antioksidativnu aktivnost krekeri. Rezultati ispitivanja su pokazali veći sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativnu aktivnost kod tijesta i krekeri proizvedenih sa dodatkom heljdinog kiselog tijesta kao rezultat djelovanja bakterija mliječne kiseline koje svojim metabolizmom potiču stvaranje novih količina polifenolnih spojeva.

Ključne riječi: *bezglutenski krekeri, heljдино kiselo tijesto, ukupni fenoli, antioksidativna aktivnost*

UVOD

Celijakija je bolest probavnog sistema pri kojoj dolazi do oštećenja tankog crijeva uslijed autoimune reakcije na gluten (Vučinić, 2018). Gluten je glavna bjelančevina u zrnju pšenice, a najčešće se spominje kao patološki supstrat za razvoj celijakije (Maletić, 2014). Gluten se sastoji od gluteninske i glijadinske frakcije. Smatra se da je glutenin odgovoran za davanje čvrstoće i elastičnosti tijestu, dok je glijadin čimbenik koji provocira glutensku osjetljivost (Čičak, 2016). Bezglutenska prehrana predstavlja prehranu iz koje se izostavlja protein gluten, odnosno namirnice koje sadrže pšenicu, ječam i raž, dok je pitanje konzumiranja zobi još uvijek kontroverzno

¹ Tehnološki fakultet Tuzla, Univerzitet u Tuzli/ Faculty of Technology, University of Tuzla
Corresponding author: hurija.alibasic@untz.ba

(Šarić, 2017). Istraživanja pokazuju da 1 % svjetske populacije boluje od celijakije (Catassi i Fasano, 2008). Nedavno je otkriveno da žitarice i pseudožitarice mogu isto predstavljati dobar izvor polifenola. Flavonoidi se također nalaze i u omotaču sjemenke pigmentiranih vrsta ječma, kukuruza, riže, raži i pšenice (Rogar, 2018). Redovna konzumacija proizvoda koji sadrže prirodne antioksidanse može pomoći u suzbijanju raznih degenerativnih i hroničnih bolesti kojima je današnja svjetska populacija sve više podložna, a posljedica su užurbanog načina života te velike razine stresa. Ovo sve pogoduje nastajanju slobodnih radikala, odnosno molekula koje izazivaju specifične imunološke reakcije u našem organizmu, dok su antioksidansi jedine molekule koje mogu suzbiti njihovo štetno djelovanje (Pinčar, 2017).

Cilj rada bio je dokazati učinkovitost djelovanja bakterija mliječne kiseline na sadržaj polifenola i antioksidativne aktivnosti. Eksperimentalni dio je sproveden kroz dvije faze.

Prva faza bila je priprema bezglutenskih krepera na bazi kiselog heljdinog tijesta. Prirodno kiselo tijesto pripremljeno je od brašna, vode i mikroorganizama u aktivnom stanju, odnosno bakterija mliječne kiseline (BMK) (Rora, 2017). Najčešće se koriste BMK iz rodova *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus Weisella* i *Leuconostoc* (De Vuyst i Neysens, 2005). Druga faza bila je odrediti sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativne aktivnosti (FRAP i DPPH metodom) heljdinog kiselog tijesta, kao i krepera.

MATERIJAL I METODE RADA

Sirovine

Osnovne sirovine koje su korištene za pripremu krepera su komercijalno dostupni proizvodi: bezglutensko pšenično brašno („Schar“ Austrija), kukuruzno brašno („KLAS“ Sarajevo), heljdino brašno („Heljdaeko“ Sarajevo), prašak za pecivo („VISPAK“ Visoko), šećer u prahu („MASTER“ AS Jelah), kuhinjska so („SOLANA“ Tuzla), biljna mast („VITAL“ Republika Srbija), sjeme lana („GAMUS“ Tuzla).

Starter kultura

Za pripremu kiselog heljdinog tijesta korištena je bakterija mliječne kiseline *Lactobacillus plantarum* 299v. (AbelaPharm Republika Srbija).

Hemikalije i reagensi

U ovom radu korištene su sljedeće hemikalije i reagensi: Folin-Ciocalteu (Semikem, Sarajevo), 7,5%-tni rastvor Na_2CO_3 (w/v), galna kiselina (Semikem, Sarajevo), 36,5% rastvor HCl (Centrohema, Republika Srbija), TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-S-triazin) (Fluka, Švicarska), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, min. 99% (Kemika, Zagreb), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, min. 99,5% (Kemika, Zagreb), $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, min. 99,5% (Centrohema, Republika Srbija), CH_3COOH , (Semikem, Sarajevo) DPPH (1,1 – Diphenyl-2-picrylhydrazyl), (Sigma-Aldrich, Chemie GmbH, Njemačka), metanol (Zorka, Pharma, Šabac, Srbija).

Metode

U radu je ispitivan uticaj liofilizirane starter kulture (*L. plantarum*) na sadržaj ukupnih polifenola, antioksidativnu aktivnost (FRAP metoda) i antioksidativnu aktivnost ekstrakta na DPPH radikale.

Priprema kiselog tijesta s *L. plantarum*

Kiselo tijesto pripremljeno je dodatkom 0,01% liofilizirane starter kulture na količinu brašna (Koceva, 2007). Starter kultura je dodavana u jednakim dijelovima vode i brašna (brašno:voda = 1:1), kako bi se dobio prinos kiselog tijesta (PKT) od 200%. Liofilizirana starter kultura dispergirana je u malo vode, oduzete od ukupne količine potrebne vode, te dodana u brašno s preostalim vodom uz miješanje. Posuda s tako pripremljenim tijestom stavljena je na fermentaciju pri 30°C tokom 24 sata. Za pripremu kiselog tijesta upotrebjeno je heljdino brašno. U uzorcima kiselog tijesta, poslije fermentacije (24 sata), određen je sadržaj ukupnih fenola i antioksidativna aktivnost.

Proizvodnja krekeri

Recepture za pripremu zamjesa za probe pečenja krekeri prikazane su u Tabeli 1.

Tabela 1. Sirovinski sastav krekeri

Table 1. Crackers formulations

Sirovine (g) <i>Ingredients</i>	P	P+ 20% HB	P+10% HKT	P+20% HKT
Bezglutensko brašno <i>Gluten-free flour</i>	70	50	60	50
Integralno heljdino brašno <i>Integral buckwheat flour</i>	0	20	0	0
Kiselo tijesto <i>Sourdough</i>	0	0	20	40
Kukuruzno brašno <i>Corn flour</i>	30	30	30	30
Prašak za pecivo <i>Baking powder</i>	1	1	1	1
Šećer u prahu <i>Powdered sugar</i>	3	3	3	3
So <i>Salt</i>	3	3	3	3
Biljna mast <i>Vegetable fat</i>	30	30	30	30
Sjeme lana <i>Seeds of flax</i>	10	10	10	10
Voda <i>Water</i>	50	50	40	30

(P-pšenični bezglutenski krekeri; P+20%HB- pšenični bezglutenski krekeri sa dodatkom 20% heljedinog brašna
P+10% HKT- krekeri od bezglutenskog brašna sa dodatkom 10% kiselog heljedinog tijesta, P+20% HKT - krekeri
od bezglutenskog brašna sa dodatkom 20% kiselog heljedinog tijesta)

Za pripremu tijesta za proizvodnju krekeri korišten je direktni zamjes. Sastojci su dodavani prema formulaciji datoj u Tabeli 1. Prethodno fermentirano kiselo tijesto je odvagano u količini datoj u Tabeli 1. Nakon toga, svi sastojci su ručno miješani. Tijesta su ostavljena da odleže jedan sat na sobnoj temperaturi, a nakon toga su ručno razvijana i sječena na pravougaonike. Pečenje je provedeno na temperaturi od 200°C, u trajanju od 15 minuta. Nakon što je pečenje krekeri završeno, krekeri su ostavljeni na plehu u kome su se pekli da se ohlade, zatim pakovani u aluminijske folije, a potom u plastične zdjelice sa poklopcem. Uzorci su prije svakog ispitivanja, usitnjeni pomoću tarionika i tučka.

Priprema vodenog ekstrakta uzoraka

U svim uzorcima tijesta i krekeri izvršena je ekstrakcija sa destilovanom vodom. Za pripremu vodenog ekstrakta uzeto je 2 g usitnjenog uzorka i rastvoreno u 20 mL destilovane vode. Sadržaj je miješan tokom 30 minuta na laboratorijskoj treskalici, 400 rpm, nakon čega je profiltriran kroz filter papir (plava traka, Whatman® kvantitativan filter papir dijametra 125 mm). Vodeni ekstrakt korišten je za određivanje ukupnih polifenola, antioksidativnu aktivnost (FRAP metoda) i antioksidativnu aktivnost ekstrakta na DPPH radikale.

Određivanje ukupnih rastvorljivih polifenola u uzorcima

Ukupni polifenoli u vodenom ekstraktu uzoraka određeni su spektrofotometrijski modificiranom metodom po Folin-Ciocalteu. Radni rastvor Folin-Ciocalteu je pripremljen razblaživanjem osnovnog rastvora Folin-Ciocalteu u odnosu 1:10 sa destilovanom vodom. Za izradu standardne krive korištena je galna kiselina. Iz radnog rastvora galne kiseline, koncentracije 2 g/L otpipetirano je u šest volumetrijskih tikvica volumena 100 mL unaprijed definisan volumen galne kiseline kako bi se dobile sljedeće koncentracije: 2,5 mg GA/L; 5 mg GA/L; 10 mg GA/L; 20 mg GA/L; 40 mg GA/L i 50 mg GA/L. Za rastvore navedenih koncentracija izmjerene su apsorbance na spektrofotometru model (CECIL CE 2021, Velika Britanija) pri talasnoj dužini 765 nm, na osnovu kojih je konstruisana standardna kriva ovisnosti apsorbance o koncentraciji galne kiseline. Koncentracija ukupnih polifenola u vodenom ekstraktu uzoraka određena je tako što je u 200 µL ekstrakta dodano 2 mL radnog rastvora Folin-Ciocalteu. Smjesa je ostavljena da stoji 10 minuta da izreaguje, a zatim je dodato 1,8 mL rastvora Na₂CO₃. Nakon dva sata izmjerena je apsorbance uz slijepu probu (200 µL destilovane vode i 2 mL radnog rastvora Folin-Ciocalteu, nakon 10 minuta je dodato 1,8 mL rastvora Na₂CO₃). Pod identičnim uslovima izmjerene su apsorbance za uzorke.

Određivanje antioksidativne aktivnosti (FRAP metoda)

Antioksidativna aktivnost u vodenim ekstraktima uzoraka određena je FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) metodom (Benzie i Strain, 1996). Na dan određivanja antioksidativne aktivnosti pripremljeni su svi rastvori.

Rastvor FRAP reagensa pripremljen je miješanjem 10 mM TPTZ, 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i acetatnog pufera (pH = 3,6) u odnosu 1:1:10. FRAP reagens je termostatiran na 37°C. Za izradu standardne krive pripremljena je serija standardnih rastvora $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ u koncentracijama od 50 - 1000 $\mu\text{mol/L}$. U 200 μL svakog rastvora dodano je po 1,8 mL FRAP reagensa. Nakon 15 minuta inkubacije na 37°C, apsorbance su mjerene spektrofotometrijski na talasnoj dužini 593 nm uz slijepu probu (3,9 mL FRAP reagensa i 0,1 mL destilovane vode). Antioksidativna aktivnost u uzorcima je određena tako što je na 0,1 mL vodenog ekstrakta dodano 3,9 mL radnog rastvora FRAP reagensa. Pod identičnim uslovima izmjerena je apsorbance za uzorke. Antioksidativna aktivnost, izražena u $\text{mmolFe}^{3+}/\text{g}_{\text{suhe t.}} \text{ ekstrakta}$, izračunata je na osnovu standardne krive.

Analiza antioksidativne aktivnosti ekstrakta na DPPH radikale

Hung i sar. (2009) su opisali metodu za određivanje antioksidativne aktivnosti ekstrakta krepera na DPPH radikale. DPPH rastvor je pripremljen rastvaranjem unaprijed definisane mase DPPH reagensa u volumetrijskoj tikvici od 100 mL sa 0,06 mM rastvorom metanola pri čemu se dobila koncentracija $6 \cdot 10^{-5}$ mol/L.

U epruvete sa 0,1 mL vodenih ekstrakta uzoraka dodano je 3,9 mL DPPH reagensa. Kinetika reakcije praćena je na osnovu apsorbanci ($A_{\text{uzorak}(t)}$) koje su očitane na 515 nm nakon 15, 30 i 60 minuta inkubacije na zatamnjenom mjestu na sobnoj temperaturi. Kontrolni uzorak pripremljen je miješanjem 3,9 mL DPPH reagensa i 0,1 mL metanola i njegova apsorbance je očitana za $t = 0$ minuta (UV mini 1240, Shimadzu).

Apsorbance očitane nakon određenog vremena korištene su za izračunavanje % inhibicije slobodnih DPPH radikala na osnovu izraza:

$$\% \text{ inhibicije DPPH radikala} = \left(1 - \frac{A_{\text{uzorak}(t)}}{A_{\text{kontrola}(t=0)}} \right) \cdot 100$$

gdje je: $A_{\text{uzorak}(t)}$ - apsorbance uzorka nakon vremena „t“ (15, 30 i 60 minuta), $A_{\text{kontrola}(t=0)}$ - apsorbance kontrolnog uzorka nakon vremena „t = 0 minuta“.

Statistička obrada rezultata

Svi eksperimenti su izvedeni u triplikatu, izuzev ako nije drugačije naglašeno. Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija (SD). Podaci su obrađeni primjenom Microsoft Excel 2010 for Windows. Također je odrađena i jednofaktorijalna analiza varijanse i post-hoc test (Tukey test).

REZULTATI RADA I DISKUSIJA

Tabela 2. Srednja vrijednost i standardna devijacija sadržaja ukupnih fenola u tijestu za krekere i krekerima (Tukey test)

Table 2. Mean value and standard deviation of total phenols content in cracker dough and crackers (Tukey test)

Uzorci/ Samples	Ukupni fenoli (mg GA/ g _{suhe tvari} uzorka)/ Total polyphenols	
	Tijesto za krekere/ Dough for crackers	Krekeri/ Crackers
P	0,51 (±0,06) ¹	0,19 (±0,01) ¹
P+20% HB	1,03 (±0,01) ²	0,42 (±0,02) ⁴
P+10% HKT	1,07 (±0,08) ²	0,22 (±0,01) ²
P+20% HKT	1,49 (±0,06) ³	0,37 (±0,02) ³

^{1,2,3,4} – Srednje vrijednosti u istoj koloni, sa različitim eksponentom su signifikantno različite ($p < 0,05$)

^{1,2,3,4} - Mean values in the same column, with different exponent are significantly different ($p < 0.05$)

Dokazano je da postoji statistički značajna razlika između rezultata sadržaja polifenola u tijestu i u krekerima ($p < 0,05$). Da bi se utvrdilo koji uzorci su različiti urađen je Tukey test (Tabela 2). Kod krekerima sadržaj polifenola se kretao u opsegu od 0,19 mg GA/g_{suhe t.} kod kontrolnog uzorka do 0,42 mg GA/g_{suhe t.} kod uzorka sa 20% heljedinog brašna. Sa druge strane, kod tijesta za krekere vrijednosti su se kretale od 0,51 mg GA/g_{suhe t.} kod kontrolnog uzorka do 1,49 mg GA/g_{suhe t.} kod uzorka sa 20% heljedinog kiselog tijesta. Određivanje ukupnih rastvorljivih polifenola u tijestu za pečenje krekerima pokazalo je da dodatkom heljedinog brašna raste i sadržaj ukupnih polifenola, tako da uzorak sa heljedinim brašnom ima gotovo 2 puta veći sadržaj polifenolnih spojeva nego kontrolni uzorak od bezglutenskog pšeničnog brašna. Ukoliko se uporedi sadržaj ukupnih polifenola kod tijesta bez starter kulture i sa starter kulturom uočava se veliki porast sadržaja ukupnih polifenola kod tijesta sa starter kulturom. Taj sadržaj je veći od uzorka sa heljedinim brašnom, odnosno 2-3 veći nego kod kontrolnog uzorka od bezglutenskog pšeničnog brašna. Ovakav odnos sadržaja polifenola posljedica je djelovanja bakterija mliječne kiseline koje svojim metabolizmom potiču stvaranje novih količina polifenolnih spojeva. Kod svih krekerima sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola se čak dvostruko smanjuje. Moguće je da je pečenjem došlo do gubitka određenih polifenolnih spojeva koji nisu stabilni na visokim temperaturama, ali isto tako moguće je da je došlo i do formiranja nekih novih spojeva, kao što su produkti Maillard-ove reakcije. Ti produkti, također, mogu redukovati Folin-Ciocalteu reagens i time doprinijeti sadržaju ukupnih polifenola određenih u krekerima. Sadržaj polifenola je najveći u uzorku sa 20% heljedinog brašna, kao i u uzorku sa 20% heljedinog kiselog tijesta, a najmanji je u kontrolnom uzorku.

Tabela 3. Srednja vrijednost i standardna devijacija antioksidativne aktivnosti (FRAP vrijednost) tijesta za krekeri i krekeri
Table 3. Mean value and standard deviation of antioxidant activity (FRAP value) of dough for crackers and crackers

Uzorci/ <i>Samples</i>	FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}_{\text{suhe tvari}}$ uzorka)	
	Tijesto za krekeri/ <i>The dough for crackers</i>	Krekeri/ <i>Crackers</i>
P	23,38 ($\pm 0,06$)	3,241 ($\pm 0,60$) ¹
P+20% HB	61,23 ($\pm 0,01$)	5,132 ($\pm 0,12$) ³
P+10% HKT	45,86 ($\pm 0,14$)	3,143 ($\pm 0,18$) ¹
P+20% HKT	79,73 ($\pm 0,16$)	4,329 ($\pm 0,04$) ²

^{1,2,3,4} – Srednje vrijednosti u istoj koloni, sa različitim eksponentom su značajno različite ($p < 0,05$)

^{1,2,3,4} - Mean values in the same column, with different exponent are significantly different ($p < 0.05$)

Antioksidativna aktivnost je izražena je koncentracijom Fe^{3+} i % FRAP antioksidativne aktivnosti. Analiza je pokazala da je antioksidativna aktivnost znatno manja kod krekeri nego kod tijesta, što je posljedica procesa pečenja. Antioksidativna aktivnost krekeri je do 10 puta manja od antioksidativne aktivnosti tijesta za pečenje. Međutim, antioksidativna aktivnost krekeri je veća u odnosu na brašno što pokazuju i literaturni podaci. Faktori za koje se smatra da doprinose povećanoj antioksidativnoj aktivnosti proizvoda uključuju proizvode Maillard-ove reakcije, nastale tokom pečenja koji ispoljavaju antioksidativnu aktivnost (Michalska i sur., 2008) i oslobađanje vezanih fenolnih kiselina iz čelijskih zidova tokom pečenja (Dewanto i sur., 2002). Poređenjem pojedinačnih uzoraka krekeri uočljiva je povećana antioksidativna aktivnost uzorka sa 20% heljedinog brašna kao i uzorka sa 20% heljedinog kiselog tijesta. Krekeri od heljedinog brašna bez dodatka starter kultura također imaju veću antioksidativnu aktivnost u odnosu na krekeri od bezglutenskog pšeničnog brašna.

Tabela 4. Srednja vrijednost i standardna devijacija antioksidativne aktivnosti krekeri izražena kao % inhibicije DPPH radikala

Table 4. Mean value and standard deviation of antioxidant activity of crackers expressed as % inhibition of DPPH radicals

Uzorci/ <i>Samples</i>	% inhibicije DPPH / % inhibition DPPH		
	Nakon 15 minuta <i>After 15 minutes</i>	Nakon 30 minuta <i>After 30 minutes</i>	Nakon 60 minuta <i>After 60 minutes</i>
P	4,99 (\pm 1,28) ¹	6,68 (\pm 1,60) ¹	9,29 \pm 2,40
P+20% HB	19,71 (\pm 0,48) ³	22,37 (\pm 0,24) ³	25,65 \pm 0,24
P+10% HKT	11,44 (\pm 0,96) ²	12,80 (\pm 1,28) ²	15,18 \pm 2,09
P+20% HKT	18,29 (\pm 1,36) ³	20,10 (\pm 1,84) ³	23,61 \pm 1,68

^{1,2,3,4} – Srednje vrijednosti u istoj koloni, sa različitim eksponentom su značajno različite ($p < 0,05$)

^{1,2,3,4} - Mean values in the same column, with different exponent are significantly different ($p < 0.05$)

Analiza je pokazala da postoji statistički značajna razlika između rezultata antioksidativne aktivnosti odrađene DPPH metodom ($p < 0,05$). Da bi se utvrdilo koji uzorci su različiti urađen je Tukey test (Tabela 4).

Antioksidativna aktivnost krekeri izražena kao % inhibicije DPPH radikala je praćena tokom vremena (nakon 15, 30 i 60 minuta). Iz priloženih rezultata može se vidjeti da je najveća vrijednost uočena kod uzorka P+20% HB i koja je iznosila (19,71%) nakon 15 minuta, dok je najmanja vrijednost bila kod kontrolnog uzorka P (4,99%). Daljnjim uticajem vremena na antioksidativnu aktivnost krekeri izražena kao % inhibicije DPPH radikala uočeno je značajno povećavanje vrijednosti kod svih uzoraka. Tako je nakon 60 minuta antioksidativna aktivnost iznosila za uzorak P+20% HB (25,65%), dok je za kontrolni uzorak P iznosila (9,29%). Na osnovu Tukey testa vidimo da nakon 60 minuta nije bilo značajne statističke razlike ($p > 0,05$).

ZAKLJUČAK

Rezultati istraživanja su pokazali da sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola veći u tijestu sa dodatkom heljdinog brašna, tako da uzorak sa heljdinim brašnom ima gotovo 2 puta veći sadržaj polifenolnih spojeva nego kontrolni uzorak od bezglutenskog pšeničnog brašna. Također je uočljiv veći sadržaj ukupnih polifenola kod tijesta sa liofiliziranom starter kulturom u odnosu na tijesto bez starter kulture, odnosno čak 2-3 veći nego kod kontrolnog uzorka od bezglutenskog pšeničnog brašna. Ova pojava se može objasniti kao rezultat djelovanja bakterija mliječne kiseline koje svojim metabolizmom potiču stvaranje novih količina polifenolnih spojeva. Kod svih krekeri sadržaj ukupnih rastvorljivih polifenola se čak dvostruko smanjio u odnosu na tijesto. Razlog tome je što pečenjem dolazi do gubitka određenih polifenolnih spojeva koji

nisu stabilni na visokim temperaturama, ali isto tako moguće je da je došlo i do formiranja nekih novih spojeva, kao što su produkti Maillard-ove reakcije. Kao i kod polifenolnih spojeva, uzorci tijesta su imali veću antioksidativnu vrijednost (FRAP) nego uzorci krekeri, što je rezultat procesa pečenja. Kod uzoraka krekeri uočljiva je povećana antioksidativna aktivnost kod uzorka sa 20% heljdinog brašna kao i kod uzorka sa 20% heljdinog kiselog tijesta. Antioksidativna aktivnost krekeri izražena kao % inhibicije DPPH radikala se povećavala tokom vremena kod svih uzoraka. Najveće vrijednosti pokazali su uzorci koji su pripremljeni sa 20% heljdinog kiselog tijesta kao i uzorak sa 20% heljdinog brašna.

LITERATURA

- Benzie, I., Strain, J. (1996): The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power: The FRAP Assay". *Journal of Analytical Biochemistry*, 239 (1), 70-76.
- Catassi, C., Fasano, A. (2008): Celiac Disease. *Current Opinion in Gastroenterology*, 24 (26), 687-691.
- Čičak, A. M. (2016): Poremećaji izazvani glutenom u prehrani. Magistarski rad. Sveučilište u Zagrebu, dostupno na: <https://repozitorij.mef.unizg.hr/islandora/object/mef%3A1175/datastream/PDF/view>, preuzeto 24.07.2020.
- De Vuyst, L., Neysens, P. (2005): Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 24 (2), 120-127.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., Liu, R. H. (2002): Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (10), 3010-3014.
- Hung, P. V., Maeda, T., Miyatake, K., Morita, N. (2009): Total phenolic compounds and antioxidant capacity of wheat graded flours by polishing method. *Food Rest. Int.*, 42, 185-190.
- Koceva, K. D. (2007): Ispitivanje utjecaja različitog načina zakiseljavanja i dodatka karboksimetilceluloze na parametre kakvoće svježih i zamrzanih kruhova. Doktorski rad. Sveučilište u Osijeku. dostupno na: <https://repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:910>, preuzeto 24.07.2020.
- Maletić, M. (2014): Hrana bez glutena. Diplomski rad. Sveučilište u Osijeku, dostupno na: <https://repozitorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:47>, preuzeto 24.07.2020.
- Michalska, A., Amigo-Benavent, M., Zielinski, H., Del Castillo, M. D. (2008): Effect of breadmaking on formulation of Maillard reaction products contributing to the overall antioxidant activity of rye bread. *Journal of Cereal Science*, 48 (1), 123-132.
- Pinčar, A. (2017): Određivanje antioksidativne aktivnosti bezglutenskog kiselog tijesta i kruha DPPH metodom. Završni rad. Sveučilište u Zagrebu, dostupno na:

- <https://repozitorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf%3A2561>, preuzeto 24.07.2020.
- Rogar, J. (2018): Bezglutenska prehrana. Magistarski rad. Sveučilište u Zagrebu, dostupno na: <https://repozitorij.mef.unizg.hr/islandora/object/mef%3A2008>, preuzeto 24.07.2020.
- Rora, T. (2017): Određivanje antioksidativne aktivnosti bezglutenskog kiselog tijesta i kruha FRAP metodom. Završni rad. Sveučilište u Zagrebu, dostupno na: <https://zir.nsk.hr/islandora/object/pbf:2362/preview>, preuzeto 24.07.2020.
- Šarić, N. (2017): Određivanje količine glutena u bezglutenskim proizvodima elisa metodom. Završni rad. Sveučilište u Zagrebu. dostupno na: <https://repozitorij.unizg.hr/islandora/object/pbf:2687/datastream/PDF/download>, preuzeto 24.07.2020.
- Vučinić, V. (2018): Usporedba nutritivnog statusa i kakvoće prehrane oboljelih od celijakije i bolesnika s osjetljivošću na gluten nevezanom za celijakiju (NCGS). Završni rad. Sveučilište u Zagrebu. dostupno na: <https://repozitorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf%3A3326>, preuzeto 24.07.2020.

DETERMINATION OF TOTAL POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GLUTEN-FREE CRACKERS BASED ON SOURDOUGH

Summary

The aim of this study was to examine the content of total polyphenols and antioxidant activity of gluten - free buckwheat dough and crackers based on sour buckwheat dough. For the preparation of gluten-free crackers based on sour buckwheat dough, the dough is prepared by adding lyophilized starter culture. The recipe for gluten-free crackers based on sour buckwheat dough was prepared by mixing wheat gluten-free flour with the addition of 10% and 20% buckwheat sourdough, as well as wheat gluten-free flour with 20% buckwheat flour. Gluten-free wheat dough and crackers were prepared as a control sample. The total polyphenols in the aqueous extract of crackers and crackers were determined by a modified Folin – Ciocalte method. Two different methods, FRAP and DPPH, were used to determine antioxidant activity. The antioxidant activity in crackers and crackers was determined by the FRAP method, while the influence of time on the antioxidant activity of crackers was monitored by the DPPH method. The test results showed a higher content of total polyphenols and antioxidant activity in doughs and crackers produced with the addition of buckwheat sourdough as a result of the action of lactic acid bacteria whose metabolism stimulates the formation of new amounts of polyphenolic compounds.

Key words: gluten-free crackers, buckwheat sourdough, total phenols, antioxidant activity