

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Marjana KOPAČ

**FORMULACIJA IN PRIPRAVA FUNKCIONALNEGA
ŽIVILA – KRUHA, OBOGATENEGA Z MINERALNO
OBOGATENO KVASNO BIOMASO**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2006

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Marjana KOPAČ

**FORMULACIJA IN PRIPRAVA FUNKCIONALNEGA ŽIVILA –
KRUHA, OBOGATENEGA Z MINERALNO OBOGATENO KVASNO
BIOMASO**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**FORMULATION AND PREPARATION OF FUNCTIONAL FOOD –
BREAD, ENRICHED WITH MINERAL ENRICHED YEAST BIOMASS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2006

POPRAVKI

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani. Opravljeno je bilo na Katedri za rastlinska živila, Oddelku za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija dodiplomskega študija živilske tehnologije je za mentorja diplomskega dela imenovala doc. dr. Andreja Plestenjaka in za recenzenta doc. dr. Martina Batiča.

Mentor: doc. dr. Andrej Plestenjak

Recenzent: doc. dr. Martin Batič

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Marjana Kopač

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 664.661: 641.1: 546.23: 546.47: 546.56 (043) = 863
KG	kruh/funkcionalna živila/mineralno obogatena kvasna biomasa/minerali/selen/baker/cink/ <i>Kluyveromyces marxianus</i> /funkcionalni dodatki/prehranska vrednost
AV	KOPAČ, Marjana
SA	PLESTENJAK, Andrej (mentor)/ BATIČ, Martin (recenzent)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2006
IN	FORMULACIJA IN PRIPRAVA FUNKCIONALNEGA ŽIVILA – KRUHA, OBOGATENEGA Z MINERALNO OBOGATENO KVASNO BIOMASO
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XI,58 str.,23 pregl.,10 sl.,10 pril.,47 vir.
IJ	sl
Jl	sl/en
AI	V diplomskem delu smo formulirali in pripravili nov žitni izdelek – kruh, z lastnostmi funkcionalnega živila, s katerim je možno pokriti med 25 % in 50 % dnevnih potreb po esencialnih elementih cinku, bakru in selenu, glede na vrednosti, ki jih priporočajo referenčne vrednosti (Referenčne vrednosti...,2004) in ima odlične senzorične lastnosti. Priprava kruha je obsegala njegovo formulacijo, tehnološko pripravo in karakterizacijo. Pri formulaciji kruha smo se oprli na piramido zdrave prehrane, ob upoštevanju porabe kruha na Slovenca na leto, referenčnih vrednosti za vnos hranil in prehranskih tablic. Za tehnološko pripravo kruha smo uporabili tehnološki proces direktnega zamesa testa in peke v modelih. Pripravljenim surovinam za zames testa smo zatehtali funkcionalni dodatek s cinkom, bakrom in selenom obogateno kvasno biomaso. Količino funkcionalnega dodatka smo izračunali v procesu formulacije glede na vse omenjene kriterije. Končni izdelek – kruh, obogaten s funkcionalnim dodatkom, smo ovrednotili s senzorično analizo, izmerili smo koncentracije esencialnih elementov in določili porazdelitev esencialnih elementov. Na osnovi senzorične analize lahko zaključimo, da kruh, ki je bil obogaten z esencialnimi elementi selenom, bakrom in cinkom in njihovo kombinacijo, senzorično ne odstopa od kontrolnega vzorca – kruha brez obogatitve. Iz koncentracij esencialnih elementov cinka, bakra in selena v obogatenem kruhu vidimo, da pri zaužitju 9 rezin obogatenga kruha najnižje referenčne vrednosti presežemo pri bakru in selenu, pri zaužitju 6,7 rezin obogatenga kruha najnižje referenčne vrednosti presežemo le pri selenu, pri zaužitju 4 rezin obogatenga kruha pa v nobenem primeru ne presežemo najnižjih in najvišjih referenčnih vrednosti. Najbolj optimalno, željeno dnevno kvoto po mineralih izpolnimo, z zaužitjem štirih rezin obogatenga kruha s posameznim elementom. Uravnavanje želenih potreb po selenu, bakru in cinku v območju ciljnih koncentracij lahko dosežemo z uživanjem kruha obogatenga s kombinacijo vseh treh biomas, vendar je potrebno koncentracijo teh elementov dodatno uravnati. Tu se pojavljajo odprte možnosti za dodatno formulacijo izdelka, ki bi jih bilo potrebno še preučiti.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
 DC UDC 664.661: 641.1: 546.23: 546.47: 546.56 (043) = 863
 CX bread/functional foods/mineral enriched yeast biomass/minerals/selenium/cooper/zinc/
Kluyveromyces marxianus/functional additives/nutritional values
 AU KOPAČ, Marjana
 AA PLESTENJAK, Andrej (supervisor)/ BATIČ, Martin (reviewer)
 PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
 PY 2006
 TI FORMULATION AND PREPARATION OF FUNCTIONAL FOOD – BREAD, ENRICHED WITH MINERAL ENRICHED YEAST BIOMASS
 DT Graduation Thesis (University studies)
 NO XI,58 p.,24 tab.,10 fig.,10 ann.,47 ref.
 LA sl
 AL sl/en
 AB In this research work we prepared new grain product – bread, with functional food properties, which covers between 25 – 50 % according to reference values (Referenčne vrednosti...,2004) and has excellent sensory evaluation. The preparation of the product included designing, technological process and characterization. Our calculations are based upon European union population reference daily intake values, healthy food pyramid values, nutritional tables and daily consumption of bread per Slovenian per year. For the preparation of this grain product – bread, we used the technological process of direct dough mixing and baking in models. A functional supplement – Zinc, Copper and Selenium enriched biomass – was added to the prepared material, ready for kneading. The final quantity of functional supplement was calculated regarding all mentioned criteria. We valued our final grain product – bread, enriched with functional supplement, with sensory evaluation, concentration of essential elements in the final product and distribution of essential elements in bread. On the base of sensory evaluation we conclude that the bread enriched with Zinc, Copper and Selenium and their combination does not differ from control sample – bread without enrichment. From results with reference to essential elements concentration we conclude that in case of consumption 9 slices of enriched bread, we exceed lower values of European union population reference daily intake by Copper and Selenium. In case of consumption 6,7 slices of enriched bread, we exceed lower values of European union population reference daily intake only by Selenium. In case of consumption 4 slices of enriched bread, we don't exceed neither low nor high values of European union population reference daily intake. We fulfill the most optimal quota for minerals, if we consume 4 slices of enriched bread per day. In case we wanted to fulfill the needs for minerals with bread enriched with biomass combination, we had a little to regulate the concentration. There are many possibilities for additional formulation of product, which are opened to study.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	II
KEY WORDS DOCUMENTATION	III
KAZALO VSEBINE	IV
KAZALO PREGLEDNIC	VI
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
SLOVARČEK	XI
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 FORMULACIJA FUNKCIONALNEGA ŽIVILA	2
2.2 MINERALI V FUNKCIONALNEM PREHRANJEVANJU	6
2.3 SELEN	10
2.4 CINK	13
2.5 BAKER	16
2.6 KVASNA BIOMASA – VIR BIOAKUMULIRANIH MINERALOV	18
3 MATERIAL IN METODE	20
3.1 SHEME RAZISKOVALNEGA DELA	20
3.1.1 Priprava funkcionalnega živila	21
3.1.2 Formulacija funkcionalnega živila	22
3.1.3 Direktni zames testa – kratka fermentacija	23
3.1.4 Direktni zames testa – dolga fermentacija	24
3.2 METODE	25
3.2.1 Priprava / formulacija / »design« funkcionalnega živila – kruha	25
3.2.1.1 Referenčne vrednosti za vnos hranil	27
3.2.1.2 Prehranska piramida	28
3.2.1.3 Poraba kruha	30
3.2.2 Metoda direktnega zamesa testa	31
3.2.3 Merjenje vrednosti pH	32
3.2.4 Merjenje volumna	32
3.2.5 Senzorična analiza	32
3.2.6 Karakterizacija mineralno obogatene izdelka	33
3.2.6.1 Analiza elementov s pomočjo plamenske atomske absorpcijske spektroskopije (FAAS)	33
3.2.6.2 Analiza elementov s pomočjo hidridnih tehnik atomske fluorescenčne spektrometrije (HG-AFS)	34
3.2.6.3 Razporeditev esencialnih elementov v funkcionalnem izdelku – kruhu	35
3.3 MATERIAL	36
3.3.1 Izbira mikroorganizma	36

3.3.2 Sestavine kruha	37
3.3.3 Oprema za izvedbo raziskave	37
4 REZULTATI	38
4.1 KRUH Z DODATKOM SELENA	38
4.1.1 Senzorična ocena kruha z dodatkom selena.....	38
4.1.2 Razporeditev esencialnih elementov v kruhu, obogatenem s selenom.....	38
4.2 KRUH Z DODATKOM BAKRA	39
4.2.1 Senzorična ocena kruha z dodatkom bakra	39
4.2.2 Razporeditev esencialnih elementov v kruhu, obogatenem z bakrom.....	39
4.3 KRUH Z DODATKOM CINKA.....	40
4.3.1 Senzorična ocena kruha z dodatkom cinka.....	40
4.3.2 Razporeditev esencialnih elementov v kruhu, obogatenem s cinkom.....	40
4.4 KRUH Z DODATKOM MEŠANICE SELENA, BAKRA IN CINKA.....	41
4.4.1 Senzorična ocena kruha z dodatkom mešanice selena, bakra in cinka	41
4.4.2 Razporeditev esencialnih elementov v kruhu, obogatenem z mešanico selena, bakra in cinka	41
4.5 NEOBOGATEN KRUH.....	42
4.5.1 Senzorična ocena neobogatenega kruha.....	42
4.5.2 Razporeditev esencialnih elementov v neobogatenem kruhu	42
4.6 KONCENTRACIJE SELENA, BAKRA IN CINKA V KRUHU	45
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	48
5.1 RAZPRAVA.....	48
5.1.1 Senzorična ocena.....	48
5.1.2 Koncentracije esencialnih elementov v kruhu	49
5.2 SKLEPI.....	51
6 POVZETEK.....	53
7 VIRI.....	55
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Primeri funkcionalnih snovi v živilih in njihov potencialni ugoden vpliv na človeka (Batič, 2000).	5
Preglednica 2: Pregled mikroelementov – fiziološka funkcija, posledice pomanjkanja in posledice presežka (Paš, 2001; Elmadfa in Leitzmann, 1998).	8
Preglednica 3: Priporočeni vnosi selena na dan (Referenčne vrednosti..., 2004).	10
Preglednica 4: Vsebnost selena v nekaterih živilih (Elmadfa in Leitzmann, 1998).	12
Preglednica 5: Priporočeni vnosi cinka na dan (Referenčne vrednosti..., 2004).	13
Preglednica 6: Vsebnost cinka v nekaterih živilih (Elmadfa in Leitzmann, 1998).	15
Preglednica 7: Priporočeni vnosi bakra, mangana, kroma in molibdena na dan (Referenčne vrednosti..., 2004).	16
Preglednica 8: Mineralna in energijska sestava pšenične moke in belega kruha (Souci s sod., 2000; Kulier, 1996; Holland in Bridie, 1992; Kaić-Rak in Antonić, 1990).	26
Preglednica 9: Mineralna sestava kvasne biomase.	26
Preglednica 10: Referenčne vrednosti za selen baker in cink (Referenčne vrednosti..., 2004).	27
Preglednica 11: Prehranska piramida – količine živil v enotah (Pokorn, 2004).	28
Preglednica 12: Zatehta funkcionalnega dodatka, meritve nekaterih parametrov kruha obogatene s selenom in senzorična ocena.	38
Preglednica 13: Zatehta funkcionalnega dodatka, meritve nekaterih parametrov kruha obogatene z bakrom in senzorična ocena.	39
Preglednica 14: Zatehta funkcionalnega dodatka, meritve nekaterih parametrov kruha obogatene s cinkom in senzorična ocena.	40
Preglednica 15: Zatehta funkcionalnega dodatka, meritve nekaterih parametrov kruha obogatene z mešanico selena, bakra in cinka in senzorična ocena.	41
Preglednica 16: Meritve nekaterih parametrov ne-obogatene kruha in senzorična ocena.	42
Preglednica 17: Koncentracije selena, bakra in cinka, ki jih dnevno vnesemo v telo z zaužitjem vseh devetih obrokov neobogatene kruha ali kruha, obogatene s funkcionalnim dodatkom (Batič, 2003).	45

Preglednica 18: Koncentracije selena, bakra in cinka, ki jih vnesemo v telo z zaužitjem ene rezine neobogatenega kruha ali ene rezine kruha, obogatena s funkcionalnim dodatkom.	45
Preglednica 19: Koncentracije selena, bakra in cinka, ki jih dnevno vnesemo v telo z zaužitjem 6,7 rezin neobogatenega kruha ali 6,7 rezin kruha obogatena s funkcionalnim dodatkom.	46
Preglednica 20: Koncentracije selena, bakra in cinka, ki jih dnevno vnesemo v telo z zaužitjem 4 rezin neobogatenega kruha ali 4 rezin kruha obogatena s funkcionalnim dodatkom.	46
Preglednica 21: Odstotek pokritja potreb po mineralih, ki ga pokrijemo kruhom obogatenim s cinkom, z ozirom na podatke referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).	47
Preglednica 22: Odstotek pokritja potreb po mineralih, ki ga pokrijemo kruhom obogatenim z bakrom, z ozirom na podatke referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).	47
Preglednica 23: Odstotek pokritja potreb po mineralih, ki ga pokrijemo kruhom obogatenim s selenom, z ozirom na podatke referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).	47

KAZALO SLIK

Slika 1: Shema priprave funkcionalnega živila.....	21
Slika 2: Formulacija funkcionalnega živila.....	22
Slika 3: Shema direktnega zamesa testa – kratka fermentacija.....	23
Slika 4: Shema direktnega zamesa testa – dolga fermentacija.....	24
Slika 5: Prehranska piramida (Pokorn, 2004).	28
Slika 6: Količinska proizvodnja kruha v Sloveniji (Statistični letopis Republike Slovenije 2000; Statistični letopis Republike Slovenije 2004)	30
Slika 7: Mreža za razrez kruha za določanje razporeditve esencialnih elementov cinka, bakra in selena v kruhu s “funkcionalnim” dodatkom – obogateno kvasno biomaso (Batič, 2003).....	35
Slika 8: Razporeditev esencialnih elementov cinka, bakra in selena v neobogatenem kruhu (Batič, 2003).....	43
Slika 9: Senzorična ocena mineralno obogatenih kruhov in kontrole.....	44
Slika 10: Graf volumnov mineralno obogatenih kruhov in kontrole.	44

KAZALO PRILOG

- Priloga A1: Bioreaktor za proizvodnjo funkcionalnega dodatka – kvasne biomase obogatena s cinkom, bakrom in selenom
- Priloga A2: Funkcionalni dodatek – obogatena kvasna biomasa z esencialnim cinkom, bakrom in selenom.
- Priloga A3: Liofiliziran funkcionalni dodatek – obogatena kvasna biomasa z esencialnim cinkom, bakrom in selenom pripravljena za dodajanje v testo za pripravo obogatene kruha.
- Priloga B1: Zames testa – za pripravo funkcionalnega izdelka – kruha.
- Priloga B2: Vzhajanje testa – za pripravo funkcionalnega izdelka – kruha.
- Priloga B3: Funkcionalni izdelek – kruh pripravljen s kvasno biomaso obogateno s cinkom, bakrom in selenom.
- Priloga C1: Prerez funkcionalnega izdelka – kruha pripravljenega s kvasno biomaso obogateno s cinkom, bakrom in selenom.
- Priloga C2: Razrez funkcionalnega izdelka – kruha pripravljenega s kvasno biomaso obogateno s cinkom, bakrom in selenom na osnovi mreže za določanje razporeditve esencialnih elementov.
- Priloga D1: Ocenjevalni list (Žitna skupnost – GIZ, Združenje pekov Ljubljana).
- Priloga E1: A test št.: 177 za moko tipa 500.

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

µg	mikrogrami
DGE	Nemško prehransko društvo
DNA	deoksiribonukleinska kislina
EU-PRDI	priporočen dnevni vnos za prebivalce evropske unije (angl. European Union Population Reference Daily Intake)
FAAS	plamenska atomska absorpcijska spektroskopija
FAO	(angl. Food and Agriculture Organization)
GRAS	splošno priznan kot varen (angl. Generally Regarded as Safe)
HG-AFS	hidridne tehnike atomske fluorescenčne spektrometrije
<i>K. marxianus</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
kcal	kilokalorije
mg	miligrami
nm	nanometri
ÖGE	Avstrijsko prehransko društvo
ppm	parts per milion; µg/g
RDA	priporočeni dnevni vnos (angl. Recommended Dietary Allowances)
RNA	ribonukleinska kislina
SGE	Švicarsko društvo za raziskovanje prehrane
SVE	Švicarsko združenje za prehrano
V4-0402-00	šifra projekta v okviru katerega je bilo opravljeno diplomsko delo
WHO	(angl. World Health Organization)
ZIM	Zbirka Industrijskih Mikroorganizmov

SLOVARČEK

Funkcionalni dodatek

Funkcionalni dodatek je z esencialnimi elementi (selenom, bakrom, cinkom ali vsemi tremi) obogatena kvasna biomasa, ki smo jo dodali pripravljenim sestavinam za zames testa iz katerega smo spekli funkcionalno živilo – žitni izdelek (kruh).

Esencialni elementi

Esencialni elementi (npr. selen, baker in cink), so elementi, ki so v majhnih koncentracijah nujno potrebni za normalno delovanje organizma. Organizem jih ne more tvoriti sam, temveč jih mora pridobiti s hrano.

Funkcionalno živilo (Raspor in Rogelj, 2001)

Funkcionalno živilo je živilo, ki mu je mogoče dokazati enega ali več ugodnih učinkov na telo, bodisi z izboljšanjem zdravstvenega stanja ali počutja ali pa z znižanjem rizika nastanka bolezni. Prav tako mora funkcionalno živilo ohranjati lastnosti živila in mora biti učinkovito v količini, ki jo zaužijemo v normalnem dnevnem obroku.

Prehranska piramida

Prehranska piramida nam pove, koliko in katera živila naj bi zaužili čez dan, da bi s hrano zadostili dnevnim potrebam po energiji in hranilni vrednosti.

Prehranske tablice

Prehranske tablice so tabele, ki v (g), (mg) ali (μ g) podajajo kemijsko in energijsko sestavo na 100 gramov jedilnega dela posameznega živila.

Referenčne vrednosti za vnos hranil (Referenčne vrednosti..., 2004)

Referenčne vrednosti vsebujejo priporočila, ocenjene vrednosti in orientacijske vrednosti za vnos hranil. Pri referenčnih vrednostih gre za vnos energije in snovi v količinah, za katere domnevamo, da pri skoraj vseh osebah konkretne navedene skupine prebivalstva ščitijo pred prehransko pogojenimi zdravstvenimi okvarami in omogočajo njihovo polno storilnost.

1 UVOD

Funkcionalno živilo lahko definiramo kot živilo naravnega izvora, ki ima poleg svoje naravne prehranske vrednosti ugoden vpliv na človekovo zdravje. Kljub dobrim prehranjevalnim navadam, ki vključujejo uživanje uravnotežene hrane in upoštevanje načela prehranjevanja v skladu s prehransko piramido, pa je mnogokrat težko zadostiti potrebam po vseh esencielnih makro- in mikro-hranilih. V sodobnem svetu so namreč prisotni številni vzroki, ki lahko vodijo do pomanjkanja hranilnih snovi, predvsem mineralov in vitaminov, ne glede na to, kako dobro jemo. Številne bolezni današnjega časa, kot so npr. bolezni srca in ožilja, rak, starostni diabetes, povezujemo z nepravilnim prehranjevanjem. Ena izmed skupin hranilnih snovi, ki so esencielne za normalno delovanje človeškega telesa in zagotavljanje optimalnega zdravja organizma, so minerali. Rešitev problema pomanjkanja mineralov niso umetni mineralni pripravki in dodatki, ampak povečanje količine naravno prisotnih mineralov v hrani. Kvasna biomasa predstavlja vir bioakumuliranih mineralov, saj lahko z optimiziranjem kultivacijskih parametrov dosežemo akumulacijo večjih količin določenega minerala v organski obliki v kvasnih celicah (Paš, 2001).

Zaradi nešteti slabosti, ki jih v naše življenje prinaša moderen način življenja in s tem prehranjevanja, smo živilci naravnost izzvani, da prispevamo svoja znanja, k izboljšanju le tega. Eno od trenutno najbolj uporabnih orodij, ki jih lahko ponudimo, so funkcionalna živila. Predvsem njihova formulacija zajema številna področja in vključuje številne možnosti. Pri tem segmentu živilstva je nujno uporabiti in združiti znanja iz področij živilske tehnologije, dietetike, biotehnologije in drugih tehnologij.

Pekarski izdelki predstavljajo živila, ki so najbolj pogosto uvrščeni med osnovna živila. So osnovni sestavni del prehrane slehernega Evropejca (Batič, 2000). Lahko rečemo, da so žita že sama po sebi bogastvo naravnih funkcionalnih snovi (Plestenjak in Požrl, 2001).

1.1 NAMEN DELA

Namen raziskovalnega dela je na osnovi referenčnih vrednosti za vnos hranil, prehranske piramide, prehranskih tablic in količinske porabe kruha na Slovence na leto pripraviti žitni izdelek – kruh, z dobrimi senzoričnimi lastnostmi, s katerim bo možno pokriti med 25 – 50 % dnevnih potreb po esencielnih elementih selenu, bakru in cinku.

Žitni izdelek – kruh, želimo pripraviti kot funkcionalno živilo, ki bo zadoščalo potrebam zdravega, varovalnega in uravnoteženega načina prehranjevanja. Priprava funkcionalnega živila obsega njegovo formulacijo oziroma »design«, tehnološko pripravo in karakterizacijo. Z uporabo referenčnih vrednosti za vnos hranil, lahko oblikujemo izdelek na osnovi priporočenih dnevnih vnosov za posamezna hranila. prehranska piramida je tista, ki nam pove kakšna naj bi bila zastopanost posameznih skupin živil v prehrani. Iz prehranskih tablic razberemo kemijsko in energijsko sestavo posameznih sestavin. Poraba kruha oziroma žitnih izdelkov na Slovence na leto, pa nam da podatek o tem, koliko tega živila dejansko zaužijemo.

2 PREGLED OBJAV

2.1 FORMULACIJA FUNKCIONALNEGA ŽIVILA

Funkcionalno živilo je živilo, ki mu je mogoče dokazati enega ali več ugodnih učinkov na telo, bodisi z izboljšanjem zdravstvenega stanja ali počutja ali pa z znižanjem rizika nastanka bolezni. Prav tako mora funkcionalno živilo ohranjati lastnosti živila in mora biti učinkovito v količini, ki jo zaužijemo v normalnem dnevnem obroku (Raspor in Rogelj, 2001).

Funkcionalno živilo ni pilula, kapsula ali tableta. To je sestavina živila, živilo, ali celo skupina živil, ki sestavljajo obrok, ugoden za ohranitev dobrega zdravja (Marić in Zechner-Krpan, 2001).

Funkcionalno živilo pogosto vsebuje višje koncentracije biološko aktivnih sestavin, ki v primerjavi z enakim osnovnim živilom povečuje ugodno delovanje ali nadomesti pomanjkljivi/manjkajoči fiziološki vpliv na zdravje človeka (Batič, 2000).

Formulacija, kreiranje oziroma »design« funkcionalnega živila je postopek, pri katerem izdelamo recepturo in tehnologijo novega živilskega izdelka, ki mora imeti določen namen ali učinek in mora zadostiti tudi zahtevam po funkcionalnosti.

Od živil in funkcionalnih živil se zahteva: da je živilo privlačno na pogled in nudi užitke ob njegovem uživanju; da nam nudi občutek ugodnosti; da vzdržuje zahtevan nivo hranilnih snovi med našimi telesnimi aktivnostmi (delo, šport) in tudi po njih; da ima ugoden vpliv na naše zdravje in da deluje preventivno (Batič, 2000). Prav tako naj bi se pri kreiranju funkcionalnega živila držali A+ pristopa. To pomeni, da naj bi bilo funkcionalno živilo dosegljivo – na policah trgovin, kjer se običajno kupuje (Attainability), dostopno – da si ga lahko večina privošči z viri, ki so jim na razpolago (Accessibility), razpoložljivo – z namenom koristiti celotni populaciji (Availability) in sprejemljivo – ne glede kaj znanost poudarja, če živila potrošnik ne sprejme, ne bo zaživel v prehrani ljudi (Acceptability) (Raspor in Rogelj, 2001).

Da postane živilo funkcionalno, je lahko na eni strani obogateno z določenimi učinkovinami (npr. minerali, vitamini, omega-3 maščobnimi kislinami, poli-nenasičenimi maščobnimi kislinami, probiotiki, prebiotiki, prehranskimi vlakninami, antioksidanti, fitokemikalijami,...), na drugi strani pa lahko določene sestavine iz živila umaknemo (npr. holesterol, fitinsko kislino) z modernimi tehnološkimi postopki. Sem spadajo tudi živila, v katerih je ena ali več naravnih sestavin spremenjenih ali pa je spremenjena njihova biološka vrednost (tradicionalni in sodobni biotehnološki postopki) (Raspor in Rogelj, 2001; Plestenjak in Požrl, 2001; Batič, 2000).

Razvoj funkcionalnih živil mora biti osnovan na znanstveno potrjenih ciljnih funkcijah v organizmu, ki so pomembne za izboljšanje zdravstvenega stanja in počutja in/ali zmanjšanju tveganja za pojav bolezni. Postavljeni morajo biti validirani markerji, s katerimi lahko ugotavljamo ciljne funkcije in pridobljeni znanstveni dokazi v humanih študijah. Potrošniki morajo biti o učinkih in koristih funkcionalnih živil jasno informirani. Funkcionalna živila morajo biti varna v skladu z vsemi standardi za običajno zdravo in varno hrano (Raspor in Rogelj, 2001).

Formulacija novega živilskega izdelka je eno izmed zelo obsežnih področij živilstva, ki nam dopušča ogromno različnih možnosti. Eden od segmentov razvoja novih živil so funkcionalna živila. Za doseg dosegljivosti, dostopnosti, razpoložljivosti, sprejemljivosti in hkrati funkcionalnosti živila, je potrebno v njegov razvoj vključiti tudi nova znanja iz področja živilstva in biotehnologije.

Pomembna veja formulacije funkcionalnih živil je priprava živila obogatenga z minerali. Selen, baker in cink so minerali, ki ponovno pridobivajo na pomenu, zaradi novih spoznanj o njihovi esencialnosti. Na drugi strani vse več pozornosti namenjamo mineralom, zaradi njihovega pomanjkanja, ki ga povzroča sodobni način prehranjevanja.

Poznano je, da je najmanj 16 mineralov esencialnih za življenje in jih je potrebno vsakodnevno vnašati v telo. Zelo pogosto je pomanjkanje selena, ki je prisoten v nekaterih encimih in je pomemben za aktivnost vitamina E. Baker je sestavni del številnih encimskih sistemov in je zelo pomemben za nastajanje hemoglobina. Cink pa je pomemben za aktivnost več kot 200 encimov in je vpleten v pridobivanje energije in sintezo proteinov (Batič, 2003).

Zelo pomembno je, da za formulacijo funkcionalnega izdelka izberemo živilo, ki ga dnevno vnašamo v telo in, ki je med potrošniki priljubljeno. Kruh in izdelki iz žit so tisti, ki naj bi jih po prehranski piramidi zaužili največ. Ravno zato so ti izdelki primerni nosilci vnosa funkcionalnih lastnosti. Primernost kruha kot nosilca funkcionalnosti predstavlja tudi njegova poraba na prebivalca, ki v Sloveniji znaša približno 70 kg (Batič, 2000).

Kruh kot nosilec mikro mineralnih komponent, zato potrebuje samo dodatno uravnavanje esencialnega elementa, s katerim želimo obogatiti izdelek. Pri obogatitvi z minerali je pomembno tudi, da je element, ki se dodaja organsko vezan, ker je v tem primeru njegova izkoristljivost v našem prebavnem traktu in bioaktivnost večja, v primerjavi z uporabo anorganskih soli esencialnih elementov (Batič in Raspor, 2000).

V naši diplomski nalogi, smo skušali združiti navedena dejstva ter formulirati in pripraviti funkcionalno živilo – kruh, obogaten z mineralno obogateno kvasno biomaso. Pri formulaciji novega žitnega izdelka smo se oprli na piramido zdrave prehrane, ob upoštevanju referenčnih vrednosti za vnos hranil in prehranskih tablic.

V Piramidi zdrave prehrane je zastopanost izdelkov iz žit na prvem mestu. Če bi vse potrebe iz spodnjega dela prehranske piramide pokrili s kruhom, bi na leto zaužili 93 kg kruha na prebivalca. V Sloveniji znaša letna poraba kruha na prebivalca 70 kg, vendar ta vključuje tudi porabo pekarskih izdelkov. Če bi želeli upoštevati le porabo svežega kruha, znaša ta po statističnih podatkih 42 kg na prebivalca na leto (Batič 2000, Sedej 1997, Statistični letopis RS 2000, Statistični letopis RS 2004).

Referenčne vrednosti za vnos hranil je potrebno upoštevati zato, da lahko določimo primeren dnevni vnos posameznih mineralov v telo z obogatenim kruhom. RV natančno predpisujejo vnose za selen, baker in cink, oziroma njihovo spodnjo in zgornjo mejo. Za izhodišče smo izbrali vrednosti, ki jih navajajo referenčne vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) in jih primerjali z vrednostmi, ki jih navajata EU-PRDI in RDA. Za formulacijo živila je potrebno upoštevati, da je poraba kruha na prebivalca lahko zelo različna, kar zahteva načrtovanje

deleža mineralov Se, Cu in Zn, da ne pride do presežka vnosa v telo. Presežek vnosa ima lahko za posledico neželene učinke, zato smo za cilj izbrali 25 do 50 % pokritje po RV.

Prehranske tablice so tiste, ki nam dajo natančen pregled nad vsebnostjo mineralov v neobogatenih surovinah. Z njihovo pomočjo lažje izberemo primerne surovine za pripravo funkcionalnega izdelka. Če bi želeli zelo natančno formulirati izdelek, bi morali na minerale analizirati vse sestavine, ki jih želimo dodati. Največ mineralov v naš izdelek prinese moka in kvas. Kvas je tudi tisti, s katerim povečamo količino mineralov v funkcionalnem izdelku. Na ta način dobimo organsko vezane minerale, ki so lažje izkoristljivi. Če bi želeli povečati količino mineralov z moko, bi morali izbrati drug tip ali drugo vrsto moke. Z uporabo moke tip 1050, bi imeli v izhodnih surovinah kar 2-krat več cinka in 1,4-krat več bakra kot v moki tip 500. Z uporabo ržene moke, bi se vsebnost cinka povečala za 2,5-krat in vsebnost bakra za 1,4-krat. Če bi uporabili črno moko z otrobi, bi se vsebnost cinka povečala za 2,6-krat, vsebnost bakra za 1,5-krat in vsebnost selena za 2,8-krat.

V pripravi proizvodov iz mešanic različnih žit je potrebno posvetiti pozornost predvsem senzoričnim lastnostim takega izdelka (Batič, 1999). Če želimo, da bo izdelek zaživel v prehrani ljudi, je pri njegovi formulaciji izredno pomembno upoštevati zahtevo po sprejemljivosti. Največkrat se to nanaša na senzorične lastnosti. Funkcionalen izdelek mora potrošnikom ustrezati tako po videzu in teksturi, kot tudi aromi. Ker imamo Slovenci še vedno najraje bel kruh, smo zato naš izdelek pripravili iz moke tip 500. Zelo občutljivi smo tudi glede oblike kruha. Slovenci pojemo največ hlebcev in štruc, zato bi bilo pri formulaciji videza novega izdelka nesmiselno izbrati drugačno obliko. Pomanjkljivost, ki jo imajo hlebci in štruce je le v tem, da se težje razrežejo na enakomerne rezine, s čimer je otežen enakomeren vnos kruha in s tem mineralov.

Predelava poljščin, posebno žit, pekarstvo, testeninarstvo in konditorska proizvodnja je naravnost izzvana, da na osnovi svojih značilnosti prispeva svoj, nemajhen delež na področje proizvodnje funkcionalnih živil. Brez pretiravanja lahko rečemo, da že izbira in kombinacije posameznih vrst žit, ki vsebujejo beljakovine različne sestave aminokislin, vlaknin, sladkorjev, fitinske kisline, maščobne sestave, mineralov, vitaminov, lahko pripravimo funkcionalna živila. Živila pripravljena iz različnih mlevskih frakcij pa so tudi idealna osnova za najrazličnejše funkcionalne dodatke, ne da bi bistveno spremenili reološke in senzorične lastnosti gotovih živil (Plestenjak in Požrl, 2001).

Preglednica 1: Primeri funkcionalnih snovi v živilih in njihov potencialni ugoden vpliv na človeka (Batič, 2000).

SESTAVINA	VIR	POTENCIALNI UGODEN VPLIV
KAROTENOIDI		
alfa-karoten	korenje	nevtralizacija prostih radikalov, ki lahko povzročajo poškodbo celic
beta-karoten	različno sadje, zelenjava	nevtralizacija prostih radikalov
lutein	zelenjava	preventivno vzdrževanje zdravega vida
likopen	paradižnik in njegovi proizvodi	zmanjšuje nevarnost rakastih obolenj na prostati
zeaksantin	jajca, citrusi, koruza	preventivno vzdrževanje zdravega vida
HIDROLIZATI KOLAGENA		
	želatina	izboljšujejo nekatere simptome povezane z osteoartritisom
PREHRANSKE VLAKNINE		
netopne	pšenični otrobi	zmanjšujejo nevarnost nastanka rakastih obolenj na dojkah ali črevesju
beta glukan	oves	zmanjšujejo nevarnost obolenj srca in ožilja (oso)
topne	leča	zmanjšujejo nevarnost (oso)
polnoznatna žita	žitarice	zmanjšujejo nevarnost (oso)
MAŠČOBNE KISLINE		
ω-3 maščobne kisline (DHA/EPA)	tune, ribe in ribje olje	zmanjšujejo nevarnost (oso) in izboljšujejo mentalne in vizualne funkcije
konjugirana linolna kislina (KLK)	mleko, sir, mesni proizvodi	izboljšujejo telesno sestavo, zmanjšujejo nevarnost nastanka rakastih obolenj
FLAVONOIDI		
antocijanidini	sadje	nevtralizacija prostih radikalov, zmanjšujejo nevarnost nastanka rakastih obolenj
katehini	čaj	nevtralizacija prostih radikalov, zmanjšujejo nevarnost nastanka rakastih obolenj
flavononi	citrusi	nevtralizacija prostih radikalov, zmanjšujejo nevarnost nastanka rakastih obolenj
flavoni	sadje, zelenjava	nevtralizacija prostih radikalov, zmanjšujejo nevarnost nastanka rakastih obolenj
GLUKOZINOLATI		
sulforafen	brokoli, ohrovt, hren	nevtralizacija prostih radikalov, zmanjšujejo nevarnost nastanka rakastih obolenj
FENOLI		
kafeinska kislina	sadje, zelenjava, citrusi	antioksidativna aktivnost, zmanjšujejo nastanek degenerativnih obolenj, obolenj srca in oči
ferulna kislina	sadje, zelenjava, citrusi	antioksidativna aktivnost, zmanjšujejo nastanek degenerativnih obolenj, obolenj srca in oči
RASTLINSKI STEROLI		
stanol ester	koruza, soja, pšenica	znižujejo nivo holesterola v krvi z inhibicijo absorpcije holesterola
PREBIOTIKI/PROBIOTIKI		
fruktooligosaharidi (FOS)	laštica, šalotka, čebula v prahu	izboljšujejo gastrointestinalno stanje
laktobacili	jogurt, mlečni izdelki	izboljšujejo gastrointestinalno stanje
SAPONINI		
	sojini izdelki, živila ki vsebujejo proteine	znižujejo LDL holesterol, prisotnost encimov, ki znižujejo možnost rakastih obolenj
FITOESTROGENI		
daidzein	soja in živila na osnovi soje	zmanjšujejo nevarnost simptomov menopavze npr. vročice
genistein	soja in živila na osnovi soje	delujejo zaščitno proti obolenjem srca in nekaterih rakastih obolenj, znižujejo LDL holesterol, celokupni holesterol in trigliceride
SULFIDI		
alil sulfidi	čebula, česen, por, šalotka	znižujejo LDL holesterol, vzdrževanje imunskega sistema
Alil-metil trisulfid	brokoli, ohrovt	znižujejo LDL holesterol, vzdrževanje imunskega sistema

2.2 MINERALI V FUNKCIONALNEM PREHRANJEVANJU

Različne optimalne količine in specifična vloga posameznih mineralov v telesu nas navajajo na dejstvo, da so minerali zelo kompleksna skupina hranilnih snovi (Paš, 2001). Minerali so vključeni v najosnovnejše življenjske procese (Batič s sod., 1996) in izpolnjujejo pomembne metabolične funkcije.

Prehrana in prehranjevanje ter z njima povezan vnos mineralov, sta tesno povezana z zdravjem. Med bolezni, ki so povezane z neustrezno prehrano spadajo predvsem civilizacijske bolezni (bolezni srca in ožilja, sladkorna bolezen, rak, debelost, ciroza jeter, bolezni kosti in sklepov, osteoporoza, bolezni zob,...), klasične deficitarne bolezni in bolezni zaradi onesnažene hrane. Pri načrtovanju pravilne in uravnotežene prehrane in s tem tudi pravilnega in uravnoteženega vnosa mineralov, je nujna uporaba »referenčnih vrednosti za vnos hranljivih snovi.« Cilj prehranskih referenčnih vrednosti je ohranjanje in izboljševanje zdravja in s tem kakovosti življenja. V smislu WHO in FAO naj pri skoraj vseh zdravih osebah med prebivalstvom zagotovijo življenjsko pomembne metabolične, fizične in psihične funkcije. Vnos referenčnih vrednosti hranil naj bi preprečeval s hrano pogojene deficitarne bolezni (npr. rahitis, skorbut, palegra) in simptome pomanjkanja (npr. dermatitis, očesne in možganske okvare), pa tudi prekomerne vnose nekaterih hranljivih snovi, kot sta maščoba in alkohol. Raziskave v zadnjih letih kažejo, da imajo nekatere hranljive snovi preventivne učinke in niso namenjene samo preprečevanju bolezni pomanjkanja (Referenčne vrednosti..., 2004).

Kljub dobrim prehranjevalnim navadam, ki vključujejo uživanje raznovrstne hrane, upoštevanje načela prehranjevanja v skladu s prehransko piramido in upoštevanje referenčnih vrednosti za vnos hranil, pa je mnogokrat težko zadostiti potrebam po vseh esencijskih makro- in mikro-hranilih (Paš, 2001; Referenčne vrednosti..., 2004).

V splošnem velja, da z zaužitjem hrane, ki vsebuje zadostno količino želenega minerala, še nismo pokrili potreb po le-tem, saj je potrebno upoštevati mnoge faktorje, ki vplivajo na absorpcijo mineralov v prebavnem traktu in njihov prenos v telo, npr.: vir minerala, velikost delcev, vrednost pH in elektromagnetne lastnosti (Paš, 2001).

Optimiziranje količine mineralov je pomembna predpostavka pri kreiranju optimalnega živila, ki ga lahko imenujemo tudi funkcionalno živilo, če le-to opravlja predvideno vlogo v metabolizmu človeka (Paš, 2001).

Danes poznamo že 22 anorganskih elementov (mineralov), ki jih moramo zaužiti s hrano, za ohranjanje zdravja in storilnosti. Pri razporeditvi elementov med makro- ali mikroelemente se upošteva njihov potreben dnevni vnos in njihova količinska zastopanost v telesu. K makroelementom štejemo kovine: natrij, kalij, magnezij in kalcij ter nekovine: klor, fosfor in žveplo. Mikroelementi obsegajo arzen, krom, kobalt, železo, fluor, jod, baker, mangan, molibden, nikelj, selen, silicij, vanadij, kositer in cink. Z neznatno količino mikroelementov v telesu je povezan tudi skromen, vendar obvezen dnevni vnos esencijskih mikroelementov, ki je seveda veliko nižji, kot dnevni vnos makroelementov (Batič s sod.; 1996; Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Z izrazom mikroelementi označujemo anorganske sestavine hrane, katerih vsebnost v tkivu znaša manj kot 50 ppm, katerih esencialnost je pri človeku eksperimentalno in katerih funkcija je biokemično potrjena (Referenčne vrednosti..., 2004). Gre za funkcijsko heterogeno skupino elementov, pri čemer so fiziološke funkcije in metabolizem odvisne od kemijskih lastnosti posameznega elementa. Velik delež mikroelementov predstavlja kofaktorje encimov, vitaminov in drugih učinkovin. Taki primeri so: kobalamin (Co), hemoglobin (Fe), glukozni tolerančni faktor (Cr), oksidoreduktaza (Cu), ksantin –oksidaza (Mo) (Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Pojem esencialnosti se nanaša na koncentracijo posameznih elementov in njihovih potreb v bioloških vrstah. Lahko rečemo, da so esencialni vsi elementi, ki so konsistentno prisotni v določeni biološki vrsti in katerih pomanjkanje v prehrani vodi v različna obolenja, metabolne anomalije ali motnje v normalnem razvoju (Batič s sod., 1996; Elmadfa in Leitzmann, 1998). Termin »esencialnosti« je v splošnem priznan, vendar se novodobno verjame, da to ne zadovoljuje povsem evaluacijo fiziološke pomembnosti posameznih elementov. Predvsem upoštevanje velikega števila različnih sinergističnih in antagonističnih vplivov določenih elementov, ki pospešujejo ali zavirajo fiziološko aktivnost ostalih, postane celotna slika esencialnosti bolj zapletena. Zato je pri opredeljevanju esencialnosti elementa ob upoštevanju njegovih različnih interakcij potrebno uporabiti termin, ki bo vključeval njegov blagodejni učinek pri fiziološki aktivnosti. Termin za kriterij, ki se najpogosteje uporablja za ovrednotenje teh interakcij je »blagodejnost« ali »koristnost« posameznih elementov (Batič s sod., 1996). Raznovrstnost regulacijskih mehanizmov zagotavlja homeostazo vsakemu makro- in mikroelementu, od katerega smo ljudje odvisni. Le tako lahko ti elementi, tudi če oskrba z njimi v prehrani niha, svoje konkretne funkcije optimalno izpolnijo (Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Tako kot pomanjkanje vodi v motnje, številni mikroelementi pri prevelikem privzemu delujejo toksično (Elmadfa in Leitzmann, 1998). V praksi lahko toksičnost mineralnih komponent definiramo tudi na nekoliko neobičajen način in sicer: »Nobena od mineralnih spojin ni toksična in vse mineralne spojine so toksične«. Iz te preproste definicije toksičnosti izhaja jasen sklep, da je toksičnost posameznih mineralnih komponent odvisna od njihove koncentracije in kemijske oblike elementa (Hughes in Poole, 1991; Batič s sod., 1996; Paš s sod., 1996). Na toksičnost posameznih elementov lahko gledamo tudi z druge plati, ki je povezana s posameznimi interakcijami med elementi. Esencialni elementi, ki so prisotni v »pravih« koncentracijah, lahko pomenijo zaščito ali popravek toksičnosti nekaterih nevarnih elementov (težkih kovin). Na primer: pomanjkanje esencialnega elementa cinka, lahko povzroči resnejši toksični učinek kadmija. Vsak organizem ima do povečanih koncentracij mineralov v hranilu tudi določen tolerančni prag, ki zaščiti celico pred škodljivim vplivom prevelikih intracelularnih koncentracij teh elementov v celici. Za to so potrebni različni detoksifikacijski mehanizmi. Najpogostejši detoksifikacijski mehanizem pri kvasovkah je povečanje intracelularne koncentracije mineralov, organska vključitev/vezava v spojine, ki imajo afiniteto za vezavo posameznih mineralov (peptidi, proteini-še posebno tioneini, amino kisline, nukleinske kisline, polisaharidi, sulfidi, itd.)

Kvasovke lahko pod določenimi pogoji vežejo mikroelemente z oblikovanjem organskih vezi v mnogo višjih koncentracijah, kot so običajne. Z mikroelementi obogatena kvasna biomasa predstavlja nov naravni vir mikroelementov v človeški prehrani (Paš s sod., 1996; Zavašnik s sod., 1996; Batič s sod., 1996). Minerali v organski obliki se v organizmu bolje absorbirajo in so zato zanj tudi lažje izkoristljivi (Paš, 2001).

Preglednica 2: Pregled mikroelementov – fiziološka funkcija, posledice pomanjkanja in posledice presežka (Paš, 2001; Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Mineral	Fiziološka funkcija	Posledice pomanjkanja	Posledice presežka
(Cr) krom,	nahaja se v krvi, sodeluje v metabolizmu glukoze (inzulin) in maščob, povečuje HDL holesterol	arterioskleroza, glukoza netoleranca, diabetesu podobni simptomi	Cr ⁶⁺ deluje toksično predvsem na kožo in pljuča
(Co) kobalt	nahaja se v krvi, je sestavni del vitamina B ₁₂ , sodeluje pri nastanku hemoglobina, sodeluje pri nastanku ščitničnega hormona	počasna rast in razvoj	**
(F) fluor	močnejše kosti, manj zobne gnilobe	*	*
(I) jod	nahaja se v laseh, nohtih, ščitnici, možganih, koži, zobeh; nastanek ščitničnih hormonov, fizični in mentalni razvoj, presnova (preveč maščob)	suhi lasje, golšavost, intelektualna nezmožnost, zaostajanje v rasti, vzdražljivost, nervoza, debelost	ni toksičen, vendar lahko povzroči nastanek aken
(Cu) baker	nahaja se v krvi, kosteh, možganih, veznem tkivu, koži, živcih; razvoj barve las in kože, nastanek eritrocitov in hemoglobina, nastanek elastina in kolagena, sodeluje pri celjenju ran, zdravljenju	bolezni srca in ožilja, povišan LDL holesterol, anevrizem, poškodba sten arterij, splošna oslabelost, možganske motnje, znaki prezgodnjega staranja, slabokrvnost, oslavljen imunski sistem, plešavost, počasno celjenje ran, bolečine v sklepih	inhibicija absorpcije cinka
(Mn) mangan	nastanek kosti in hrustanca; možgani, ščitnica, mlečne žleze, mišice, živci, nastopa v metabolizmu glukoze, aktivacija encimov, rast in razmnoževanje, produkcija spolnih hormonov, tvorna sečnine, metabolizem proteinov, sinteza maščobnih kislin	nekoordiniranost gibov (ataksija), omotica, šumenje v ušesih, oglušitev	industrijski manganov prah, možnost pojava blaznosti
(Mo) molibden	nahaja se v krvi, sestavni del encimov, ki nastopajo v oksidacijskih procesih	*	putiki podobne bolezni
(Ni) nikelj	stabilizacija strukture nukleinskih kislin, funkcionalna povezava z vitaminom B ₁₂	*	*
(Se) selen	v krvi, membranah, celicah, organih, prostati, modih, jetrih; močan antioksidant, ki ščiti celične membrane pred prostimi radikali, upočasni staranje kože in organov, nadzor delovanja ščitnice, stimulacija celularne imunosti	bolezni srca, srčna kap, znaki prezgodnjega staranja, nepravilno delovanje mišic, mišični revmatizem, težave z imunskim sistemom	toksično delovanje (primeri izgube las in nohtov)

»nadaljevanje«

nadaljevanje: Preglednica 2: Pregled mikroelementov – fiziološka funkcija, posledice pomanjkanja in posledice presežka (Paš, 2001; Elmadfa in Leitzmann, 1998).

»se nadaljuje«

(Si) silicij	v kosteh, laseh, nohtih, zobeh; pomaga pri zdravljenju, krepí imunski sistem, stabilizacija kolagena in elastina, razvoj in calcifikacija hrustanca in vezivnega tkiva	znaki staranja na koži, tanjšanje in izpadanje las, slab razvoj kosti, mehki ali lomljivi nohti	pri bolnikih z Alzheimerjevo boleznijo so odkrili povišane koncentracije silicija
(V) vanadij	nahaja se v krvi in krvnih žilah, zavira sintezo holesterola v žilah, lastnosti podobne inzulinu, stimulacija delitve in diferenciacije celic, oksidacijsko-redukcijske reakcije	visok krvni tlak, neelastičnost arterij,	krči, diareja
(Sn) kositer	pomemben pri terciarni strukturi proteinov, redoks-procesi (encimski sistem energijske transformacije)	*	*
(Zn) cink	nahaja se v krvi, možganih, srcu, prostati, vseh celicah; kofaktor v več kot 200 encimih, celjenje ran in opeklin, presnova ogljikovih hidratov, pravilno delovanje prostate, rast in dozorevanje spolnih organov, metabolizem vitamina B1, fosforja in proteinov, sodeluje pri rasti kosti	zpoznala spolna zrelost, utrujenost, izguba okusa, slab apetit, daljše celjenje ran, sterilnost, zaostajanje v rasti	**

* ni poznano

** ni podatka

2.3 SELEN

Preglednica 3: Priporočeni vnosi selena na dan (Referenčne vrednosti..., 2004).

Starost	Selen µg/dan
Dojenčki:	
0 do manj kot 4 mesece	5-15
4 do manj kot 12 mesecev	7-30
Otroci:	
1 do manj kot 4 leta	10-40
4 do manj kot 7 let	15-45
7 do manj kot 10 let	20-50
10 do manj kot 13 let	25-60
13 do manj kot 15 let	25-60
Mladostniki in odrasli:	
15 do manj kot 19 let	30-70
19 do manj kot 25 let	30-70
25 do manj kot 51 let	30-70
51 do manj kot 65	30-70
65 let in starejši	30-70
Nosečnice:	30-70
Doječe matere:	30-70

Selen je prisoten v večini bioloških tkiv v zelo nizkih koncentracijah. Skoraj vedno je povezan s proteini, ki so večinoma analogi žveplovih amino kislin (metionin, cistein) (Combs, 2003). Glavna oblika selena v žitih in drugih rastlinah je selenometionin, v živilih živalskega izvora pa se nahaja kot selenocistein, ki je tudi aktivna oblika funkcionalnega selenoproteina v telesu sesalca. Metabolizem selena je odvisen od kemijske oblike, v kateri se ta nahaja, od količine zaužitega selena in od interakcij med snovmi v živilu. Večino selena absorbiramo skozi dvanajsternik. Selenometionin in metionin prehajata po mehanizmu aktivnega transporta, manj pa je znanega o prehajanju selenocisteina. Absorbcija anorganskih oblik selena, kot sta selenit in selenat, poteka pasivno. Selen iz živil se v človeškem telesu relativno dobro absorbira (približno 80%). Organska oblika selena (selenometionin) se bolje absorbira od anorganske (selenit). Selen se bolje absorbira iz proteinsko bogate hrane. Na absorbcijo selenometionina vpliva tudi vsebnost metionina v živilu. Izkoriščanje nutrientov iz živila je povezano tudi z njihovo pretvorbo v biokemijsko aktivno obliko. Pri pretvorbi selena v tkivih sodeluje encim glutation peroksidaza. (Thomson, 2003).

Nivo selena v telesu je povezan z dnevno prehrano. Skupna vsebnost selena je povprečno 3-20 mg. Zadrževanje selena v telesu je povezana z njegovo obliko. Z vnosom selenometionina se nivo selena v krvi veliko hitreje zviša, kot z vnosom natrijevega selenita ali selenata. Vendar pa akumulirani selenometionin v tkivu nima fiziološke funkcije in ni dostopen za sintezo funkcionalnih oblik selena, dokler ga ne kataboliziramo. Selenat se najprej reducira do selenita, nato do selenida. V taki oksidacijski obliki (-2) se lahko spremeni v selenocistein, aktivno obliko selenoproteinov. (Thomson, 2003).

Življenjsko pomembne funkcije izpolnjuje selen kot sestavina glutathionperoksidaz, dejodaz, tioredoksinreduktaz in plazmaselenoproteina P ter nekaterih nadaljnjih proteinov reprodukcijskih organov, ki vsebujejo selenocistein. Štiri doslej znane glutathionperoksidaze razgrajujejo vodikov peroksid, nizkomolekularne hidroperoksidge in fosfolipid hidroperoksidge. Jodtironindejodaze so esencialne za aktiviranje prohormona tiroksina (T_4) v aktivni ščitnični hormon (T_3) in so tudi udeležene pri razgradnji tiroksina in (T_3). Encimska funkcija tioredoksinreduktaze je vezana na vgradnjo selenocisteina. Tioredoksinreduktaza neposredno ali prek tioredoksina posreduje redukcijo proteindisulfidnih mostov različnih drugih biomolekul in predvsem transkripcijskih faktorjev, s čimer vpliva na procese proliferacije in diferenciacije. Selenoproteinu P in drugim selenoproteinom pripisujejo antioksidativne lastnosti. Epidemiološke študije kažejo na direkten antikancerogeni ali zaščitni učinek selena. Prav tako so bili ugotovljeni tudi imunskomulatorični učinki selena ali selenoproteinov. Pri zaščiti lipidov pred oksidacijo obstaja sinergističen odnos selena s tokoferoli (Referenčne vrednosti..., 2004).

Popolno pomanjkanje selena je redko. Do tega lahko pride, kadar pri že tako nizki vsebnosti selena v telesu prihaja še do stresa, npr. pri izpostavljenosti kemikalijam, pri povečanemu oksidativnemu stresu in sočasnem pomanjkanju vitamina E, pri telesni aktivnosti ali pri prevelikem vnosu polinenasičenih maščobnih kislin (Thomson, 2003). Do pomanjkanja selena prihaja tudi pri uživanju proteinsko revne hrane in živil pridelanih na zemlji revni s selenom (Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Nedvoumni znaki pomanjkanja, ki so posledica nezadostnega vnosa selena, so bili opisani pri Keshanski bolezni, vrsti kardiomiopatije, ki nastopi pri uživanju selena, manjšem od 10 μg na dan (Referenčne vrednosti..., 2004). Pomanjkanje se kaže kot številne nekroze srčne mišice, ki povzročijo povečanje srca, kronično srčno popuščanje, kap in lahko tudi smrt. Bolezen je znana predvsem na Kitajskem v poljedelskih regijah, kjer je vsebnost selena v zemlji in posledično v živilih zelo majhna. Na Kitajskem in v Rusiji poznajo še eno bolezen povezano z nizko vsebnostjo selena. Gre za Kashin-Beckovo bolezen, vrsto osteoartropatije, ki se pokaže v puberteti. Posledice pomanjkanja se kažejo kot nizka rast, deformacija sklepov ter šibkost in okornost udov (Thomson, 2003). Kot vzrok za to bolezen naj bi prišlo v poštev tudi pomanjkanje joda (Referenčne vrednosti..., 2004). Simptome povezane s pomanjkanjem selena so opazili tudi pri dolgotrajnem parenteralnem hranjenju. Zaradi nizke vsebnosti selena v fluidih je prišlo do bolečine v mišicah, mišične oslabelosti in motenj mišične funkcije. Vnos selena je lahko nezadosten tudi pri totalno parenteralnem hranjenju novorojenčkov, pri specialnih dietah in pri motnjah absorpcije (mukoviscidoza, sindrom kratkega črevesa,...) (Thomson, 2003; Referenčne vrednosti..., 2004). Prve znake pomanjkanja selena opazimo kot spremembo na nohtih (bele lise) in stanjšanih, posvetlelih laseh (Elmanda in Leitzman, 1998).

Meja med esencialnostjo in toksičnostjo selena je zelo majhna. Zaradi uživanja hrane bogate s selenom, se lahko pojavijo selenoze. Običajni znaki zastrupitve s selenom so: izguba las in nohtov, poškodbe kože, živčnega sistema in zob. Indikator prevelike izpostavljenosti selenu je tudi zadah po česnu. Najvišja še varna koncentracija selena na dan je 400 μg (Thomson, 2003). Na splošno je mogoče na podlagi v Evropi ugotovljenih vrednosti in trenutnega stanja spoznanj sklepati, da se na intervalu 30-70 μg selena na dan doseže primeren vnos za odrasle (Referenčne vrednosti..., 2004).

Preglednica 4: Vsebnost selena v nekaterih živilih (Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Živilo:	Vsebnost selena v $\mu\text{g}/100\text{ g}$
meso (goveje, telečje, svinjsko)	20-35
drobovina	40-550
beljak	4-10
rumenjaki	30
ribe	13-140
ječmen, žito	do 2000
riž	40
polnozrnat pšenični kruh	55
krompir	4-20
fižol	22
soja	60
gobe	100
mleko	5-9
sir	do 11
pivo	do 19

2.4 CINK

Preglednica 5: Priporočeni vnosi cinka na dan (Referenčne vrednosti..., 2004).

Starost	Cink			
	mg/dan		mg/MJ (hranilna gostota)	
	m	ž	m	ž
Dojenčki:				
0 do manj kot 4 mesece	1,0		0,5	0,5
4 do manj kot 12 mesecev	2,0		0,7	0,7
Otroci:				
1 do manj kot 4 leta	3,0		0,6	0,7
4 do manj kot 7 let	5,0		0,8	0,9
7 do manj kot 10 let	7,0		0,9	1,0
10 do manj kot 13 let	9,0	7,0	1,0	0,8
13 do manj kot 15 let	9,5	7,0	0,8	0,7
Mladostniki in odrasli:				
15 do manj kot 19 let	10,0	7,0	0,9	0,8
19 do manj kot 25 let	10,0	7,0	0,9	0,9
25 do manj kot 51 let	10,0	7,0	1,0	0,9
51 do manj kot 65	10,0	7,0	1,1	0,9
65 let in starejši	10,0	7,0	1,2	1,0
Nosečnice:		10,0		1,1
Doječe matere:		11,0		1,0

Cink je 23. najbolj zastopan element na zemeljski obli. Med prehodnimi elementi je cink drugi najbolj zastopan element v evkariontski celici (Ruz, 2003). Fond cinka pri človeku znaša okoli 2 g, pri čemer je vsebnost cinka v posameznih organih zelo različna. Okoli 70% cinka se nahaja v kosteh, koži in laseh. Njegovo presnavljanje v tkivih je počasno. Telo ne vsebuje nobenih velikih zalog cinka, ki bi jih lahko mobiliziralo ob premajhni preskrbi, zato je potreben stalen vnos (Referenčne vrednosti..., 2004). Cink je relativno majhen ion, z visoko koncentriranim nabojem in majhno sposobnostjo povezovanja z anioni, kot so karbohidrati in fosfati. Kakor drugi ioni, ima tudi cink visoko afiniteto do elektronov. Z nekaterimi molekulami tvori stabilne komplekse. Največkrat tvori komplekse z amino kislinami, peptidi, proteini in nukleotidi. Izjemna sposobnost cinka, da tvori močne, a lahko zamenljive vezi z ligandi, prilagodljivost njegove koordinacijske geometrije in stabilnost oksidacijskega stanja, so lastnosti, ki so izjemno uporabne v bioloških sistemih. Cink ima pomembno vlogo tudi zaradi svoje ubikvitarnosti in mnogostranskosti (Ruz, 2003).

Biološke funkcije cinka lahko v grobem razdelimo v tri kategorije; katalitično, strukturno in regulatorno. Cink v presnovi izpolnjuje katalitične funkcije kot sestavina ali aktivator več kot 200 encimov. Metaloenzyme odvisne od cinka najdemo v vseh šestih skupinah encimov: oksidoreduktaze, transferaze, hidrolaze, liaze, izomeraze in ligaze. Ti encimi sodelujejo v presnovi nukleinskih kislin, proteinov, ogljikovih hidratov, maščob in vitaminov. Cink izpolnjuje strukturno funkcijo kot del celičnih in obceličnih komponent. Je sestavni del

proteinov povezanih z genskim izražanjem in pomemben del celičnih membran. Regulatorno funkcijo izpolnjuje cink kot sestavni del transkripcijskega faktorja (MT). Ostale funkcije cinka so povezane z endokrinim sistemom (sestavina hormonov), imunskim sistemom in antioksidacijskim sistemom (Referenčne vrednosti..., 2004; Ruz, 2003; Solomons, 2003; Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Cink lahko absorbiramo skozi celotno tanko črevo, pri čemer je absorpcija na področju dvanajsternika in zgornjega dela tankega črevesa hitrejša. V nekaterih primerih ga lahko absorbiramo tudi skozi debelo črevo. Oblika cinka iz živila (tekoča oblika iz pijač ali vezan v matrici živila) določa, del prebavnega trakta, skozi katerega se bo cink absorbiral. Pri nižjih koncentracijah cinka v lumnu, se ta transportira skozi mukozo s pomočjo prenašalcev. Kadar so koncentracije v lumnu visoke, cink privzemamo s pasivno difuzijo (Solomons, 2003; Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Dobri viri cinka so govedina, svinjina, perutnina, ribe, jajca, mleko in sir. Sadje in zelenjava vsebuje le manjše količine cinka. Živila z visoko vsebnostjo cinka (npr. polnozrnata pšenica) lahko s tehničnimi posegi pri predelavi in pripravi hrane utrpijo velike izgube (npr. moka glede na stopnjo mletja). S kuhanjem in skladiščenjem živil, ki vsebujejo kislino ali vode v galvanotehnično s cinkom prevlečenih posodah, pa se lahko vsebnost cinka močno poveča (Referenčne vrednosti..., 2004; Elmadfa in Leitzmann, 1998). Na splošno lahko cink iz živil živalskega izvora bolje izkoristimo, kot iz živil rastlinskega izvora. Snovi, ki vplivajo na intestinalno permeabilnost cinka so tudi mediatorji biorazpoložljivosti. Cela vrsta snovi iz živil vpliva na biorazpoložljivost cinka, tako da se z njim povežejo v komplekse, ali da z njim tekmujejo pri privzemu skozi prebavni trakt. Dve običajni sestavini polnozrnatih žit sta fitinska kislina in vlaknine. Fitinska kislina znižuje biorazpoložljivost cinka in celo povzroča reabsorpcijo endogenega cinka. Visoka koncentracija kalcija, stanje še poslabša, z vezavo cinka v kompleks Ca-Zn-fitinska kislina. Proteini iz živil živalskega izvora izboljšujejo biorazpoložljivost cinka iz živil, ki vsebujejo fitinsko kislino. Inhibitorji absorpcije cinka so še tanini (iz kave in čaja), oksalna kislina (iz zelenolistnatih zelišč) in železo. K promotorjem pri absorpciji cinka pa lahko štejemo nekatere amino kisline, sladkorje, pikolinsko kislino, citronsko kislino in prostaglandine (Solomons, 2003; Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Cink je esencialno hranilo za vse živeče organizme. Pomanjkanje cinka je bilo prvič opisano leta 1956, kot drugotna posledica pri pacientih odvisnih od alkohola. Leta 1961 so pomanjkanje cinka zaradi prehrane opazili pri podeželskih otrocih iz Irana. Danes poznamo pomanjkanje cinka pri vseh starostnih skupinah (Solomons, 2003). Hudo pomanjkanje cinka je danes redko. Pojavlja se predvsem pri pacientom z akrodermatitisom (avtosomalno-recesivno dedna dermatoza) in pri pacientih s totalno parenteralnim hranjenjem brez dodanega cinka. Pri hudem pomanjkanju cinka nastopijo zmanjšana možnost okušanja, pomanjkanje teka, dermatitis, izpadanje las, driska in nevropsihične motnje. Poleg tega se pojavljajo zaostajanja v rasti, motnje pri moškem spolnem razvoju in pri reprodukcijskih funkcijah, upočasnjeno celjenje ran in povečana občutljivost za infekcije, kot izraz oslabiljenosti imunskega sistema (Referenčne vrednosti..., 2004; Ruz, 2003).

Prag toksičnosti za cink je zelo visok. Do zastrupitev s cinkom lahko pride pri uživanju živil, ki vsebujejo kislino, ali vode iz pocinkanih posod. Akutna zastrupitev z npr. 2 g cinka povzroči želodčno-črevesne motnje in vročico, kronična z > 110 mg na dan pa hipokromno anemijo in nevropenijo, verjetno zaradi interakcije z bakrom. Celo kratkotrajen vnos okoli 50

mg cinka na dan pripelje do součinkovanj s presnovo železa in bakra, zato odsvetujejo vnos več kot 30 mg cinka na dan. Priporočen dnevni vnos cinka na dan za moške je 10 mg, za ženske pa 7 mg (Referenčne vrednosti..., 2004).

Preglednica 6: Vsebnost cinka v nekaterih živilih (Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Živilo:	Vsebnost cinka v mg/100 g
goveje meso (nemastno)	4,2
telečje meso (nemastno)	3,0
svinjsko meso (nemastno)	1,9
goveja-, svinjska jetra	1,8
telečja jetra	5,1
sir Gavda	8,4
sir Edamec	do 9
humano mleko	0,2
kokošja jajca	1,4
pšenični polnozrnat kruh	2,1
pšenični kruh	0,5
brokoli	0,9
grah	2,1
leča	2,8

2.5 BAKER

Preglednica 7: Priporočeni vnosi bakra, mangana, kroma in molibdena na dan (Referenčne vrednosti..., 2004).

Starost	Baker mg/dan	Mangan mg/dan	Krom µg/dan	Molibden µg/dan
Dojenčki:				
0 do manj kot 4 mesece	0,2-0,6	*	1-10	7
4 do manj kot 12 mesecev	0,6-0,7	0,6-1,0	20-40	20-40
Otroci:				
1 do manj kot 4 leta	0,5-1,0	1,0-1,5	20-60	25-50
4 do manj kot 7 let	0,5-1,0	1,5-2,0	20-80	30-75
7 do manj kot 10 let	1,0-1,5	2,0-3,0	20-100	40-80
10 do manj kot 15 let	1,0-1,5	2,0-5,0	20-100	50-100
Mladostniki in odrasli:				
	1,0-1,5	2,0-5,0	30-100	50-100

* ni podatka

Baker je 25. najbolj zastopan element na zemeljski obli. Najdemo ga v njegovi izvorni obliki, kot tudi sestavino sulfidov, oksidov in karbonatov (Barberá s sod., 2003). Povprečna vsebnost bakra v človeškem telesu znaša 80 do 100 mg (Referenčne vrednosti..., 2004). Največ ga je v jetrih, možganih, srcu, skeletu, laseh in nohtih. Največji odstotek bakra se zaradi njihove velikosti nahaja v mišicah. Baker v jetrih, ledvicah in prebavnem traktu je močno povezan z njegovim vnosom. Največkrat se za določanje nivoja bakra uporablja serum, vendar pa ta ni neposredno povezan z zalogami bakra v telesu. Nivo v serumu se zniža šele, ko so zaloge bakra že močno izčrpane (Johnson, 2003).

Baker je nujno potreben za imunski sistem, živčni sistem, srčno-žilni sistem, za zdravje kosti, za presnovo železa in za tvorbo rdečih krvničk. Baker je sestavina cele vrste metaloenzimov, ki večinoma spadajo v endogeni antioksidativni sistem. Citokrom oksidaza je esencialnega pomena pri produkciji energije v mitohondrijih. Večina amin- in diamin-oksidadz vsebuje baker. Lizil oksidaza katalizira navzkrižno povezavo kolagena in elastina; pri pomanjkanju bakra se tako kaže nepravilen razvoj kosti in žil. Superoksid dizmutaze so antioksidanti. Baker opravlja bistveno funkcijo kot sestavina ceruloplazmina. To je najpomembnejši transportni protein za baker in katalizira za vezavo na transferin oksidacijo dvovalentnega železa, oblike rezervnega železa, v trivalentno. Na ta način posega v presnovo železa (Johnson, 2003; Referenčne vrednosti..., 2004).

Absorpcija bakra poteka skozi celotno tanko črevo, predvsem skozi dvanajsternik. Iz običajne prehrane absorbirajo odrasli ljudje povprečno 50-75% bakra. Baker prehaja skozi mukozno membrano prebavil in ob visokih koncentracijah s pasivno difuzijo, skozi bazolateralno membrano v kri in pri nizkih koncentracijah, pa prehaja aktivno, s prenašalci. Privzem bakra v mukozne celice še ni zagotovilo za njegov nadaljnji transport v telo. V črevesju se nahajajo proteini, ki vežejo kovine in vplivajo na privzem bakra. Baker, ki se v mukoznih celicah poveže s proteinom metalotioninom je lahko izgubljen, ko te celice zapustijo črevesje. Na negativen privzem bakra vplivajo tudi: cink, železo, molibden, askorbinska kislina, fruktoza

in saharoza. Na novo absorbiran baker se najprej transportira v jetra in hitro vgradi v ceruloplazmin. Ceruloplazmin je transportni protein iz jeter v druge organe. Nekaj jetrnega bakra se poveže tudi z metalotionini, še posebno, kadar je vsebnost bakra visoka. Metalotionin pomaga pri razstrupljanju bakra, kadar je tega preveč (Johnson, 2003; Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Dobri viri bakra so žitni izdelki, še posebno iz polnozrnatih žit (ajda), drobovina (jetra), ribe, lupinarji, oreški, kakav, čokolada, kava, čaj in nekatere zelene vrste zelenjave. Biorazpoložljivost bakra v njih niha med 35-70 % (Referenčne vrednosti..., 2004; Elmadfa in Leitzmann, 1998). Slabši vir bakra je mleko in fino mleta, prečiščena moka ter izdelki iz nje (testenine). Biorazpoložljivost bakra iz živil se zniža z visokimi koncentracijami cinka, železa, molibdena, askorbinske kisline, saharoze in fruktoze. Dokazano je da visoke koncentracije cinka ovirajo absorpcijo bakra pri ljudeh in živalih. Cink inducira sintezo metalotionina v črevesju. Baker se ujame v ta protein in postane nerazpoložljiv za transport v telo. Cink ima majhen vpliv na nivo bakra, kadar je z njim v razmerju 15:1. Študije so pokazale, da na nivo bakra vplivajo tudi visoke vsebnosti železa. Pri prežvekovalcih so dobro znane interakcije med bakrom in molibdenom. Visok privzem askorbinske kisline vpliva na deficit bakra pri mnogih vrstah (Johnson, 2003; Elmadfa in Leitzmann, 1998).

Pri ljudeh redko prihaja do motenj zaradi pomanjkanja bakra. Pomanjkanje se lahko pokaže v enem mesecu, pri parenteralnem hranjenju ali pri dojenčkih, z enostransko mlečno prehrano (Elmadfa in Leitzmann, 1998). Premajhen vnos bakra povzroči hipokromno mikrocitarno anemijo ob obenem visokih koncentracijah železa v jetrih. Nadaljnji simptomi pomanjkanja so: levkocitopenija, granulocitopenija, pojavljanje zlomov kosti zaradi osteoporoze, spontane rupture žil in anevrizme zaradi motnje sinteze kolagena in elastina, zmanjšana pigmentacija las in kože in v napredovanem stadiju nevrološke motnje. Izgube krvi so vedno povezane tudi z izgubami bakra. Simptomi pomanjkanja bakra so poleg tega značilni za Menkejev sindrom, redko prirojeno motnjo presnove bakra, ki je ni mogoče izravnati z dodajanjem bakra in se že v otroških letih konča s smrtjo (Referenčne vrednosti..., 2004).

Akutne zastrupitve z bakrom pri ljudeh so redke, do njih pa običajno pride pri naključnem ali namernem zaužitju bakrovih soli. Topne bakrove soli (karbonati, sulfati in kloridi), so bolj toksični od manj topnih oblik (nitrato, acetatov in oksidov). Visok privzem cinka ščiti pred zastrupitvami z bakrom. Simptomi akutnih zastrupitev so: slinjenje, slabost, bruhanje, bolečina v želodcu in driska. Če zaužijemo več kot 100 g bakrovega sulfata, lahko pride do hemolitične anemije, odpovedi jeter, odpovedi ledvic, šoka, kome ali smrti (Johnson, 2003). Močno povečano količino bakra v pitni vodi (>10 mg/l) pri dojenčkih povezujejo z okvarami jeter, t.i. cirozami jeter v zgodnjem otroštvu. Iz zdravstvenih razlogov se bakrene cevi ne smejo uporabljati za vodo iz hišnih vodnjakov s pH-vrednostjo pod 7,3. Pri višji vsebnosti bakra kot 2 mg na liter vode vsekakor varnostna razdalja do morda zdravju škodljivih koncentracij ni dovolj velika. Ocenjene vrednosti za primeren vnos je treba po ugotovitvah raziskav, ki so na voljo, določiti na intervalu 1,0 do 1,5 mg bakra na dan (Referenčne vrednosti..., 2004).

2.6 KVASNA BIOMASA – VIR BIOAKUMULIRANIH MINERALOV

Eden najbolj razširjenih in mnogostransko uporabnih mikroorganizmov, so že stoletja kvasovke. Kvasovke so evkariontski mikroorganizmi, ki za normalno rast in razmnoževanje prav tako potrebujejo minerale, tako makro- kot mikro-elemente. V svoje celice so sposobne akumulirati veliko večje koncentracije mineralov, kot so običajne. V procesu mineralne obogatitve kvasnih celic nastajajo različne organske povezave s posameznimi mikro-elementi. Z minerali obogatena kvasna biomasa se lahko uporablja kot nov naravni vir mikro-elementov v humani ali animalni prehrani. Novo nastali vir mikro-elementov je bolj sprejemljiv in ima prednost pri vključevanju in izkoriščanju, prav zaradi svoje biotransformirane oblike mineralne komponente, ki je organsko in/ali kompleksno vezana v kvasni celici. V tej obliki imajo mikro-elementi boljši absorpcijski delež, manj so toksični, imajo boljši okus in jih je lažje dodajati, kakor tudi pakirati. Dodatna prednost je, da so kvasovke bogate z beljakovinami in z vitamini iz B-skupine (Hughes in Pole, 1991; Batič in Raspor, 1994; Volesky in May-Phillips, 1995; Paš s sod., 1996; Batič s sod., 1996; Paš, 2001).

Rešitev problema pomanjkanja mineralov torej niso umetni mineralni pripravki in dodatki, ampak povečanje količine naravno prisotnih mineralov v hrani, kar lahko dosežemo s t.i. bioakumulacijo mineralov (Paš, 2001).

Vezavo in akumulacijo mineralov v celicah kvasovke regulirajo glede na prisotnost mineralov v okolju na eni in njihove metabolne potrebe na drugi strani. Na prisotnost mineralov v njihovem okolju se kvasovke odzovejo s številnimi procesi, ki vključujejo transportne mehanizme (Blackwell s sod., 1995), biosorpcijo na/v celice, vezavo v ekstracelularne tvorbe, precipitacijo in oksidoredukcijske reakcije (Krauter s sod., 1996).

Intracelularna akumulacija mineralov je običajno sestavljena iz dveh faz: (biosorpcije) – hitre, nekaj minut trajajoče reverzibilne začetne faze vezave mineralov na celične površine, ki je neodvisna od temperature, metabolne energije, prisotnosti vira energije in metabolnih inhibitorjev in (bioakumulacije) – počasne, od metabolizma odvisnega celičnega oz. z metabolno energijo povezanega transporta skozi celično membrano v notranjost celic (Hughes in Pole, 1991; Blackwell s sod., 1995; Volesky in May-Phillips, 1995; Krauter s sod., 1996).

Priprava mineralno obogatene kvasne biomase vključuje rast kvasovk na tradicionalnih gojiščih in s tradicionalnimi kultivacijskimi tehnikami. Posamezni mikro elementi se lahko dodajajo kontinuirno ali periodično med samo kultivacijo, odvisno od soli mikro elementa. Mineralna obogatitev kvasne biomase je odvisna tudi od uporabljene kvasovke. Po končani kultivaciji se kvasna biomasa odloči, izpira, filtrira in suši. Koncentracijo mikro elementov je mogoče določiti s tehnikami atomske absorpcije (Batič s sod., 1996).

Energijsko odvisen privzem mineralov zagotavlja kvasovkam esencialne elemente, potrebne za celični metabolizem. Mineralom kot so selen, baker in cink se zaradi njihovega velikega pomena za normalno delovanje celice, v zadnjem času posveča čedalje več pozornosti. Med kvasovkami: *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis* in *Candida intermedia* izkazuje kvasovka *K. marxianus* največjo kapaciteto vezave bakra, kar 2,20 mg bakra na gram suhega kvasa. Sledi *S. cerevisiae* s 6 % ter *C. utilis* in *C. intermedia* s 35 % nižjimi vrednostmi. Kvasovka *C. intermedia* pa je tista, ki v primerjavi z omenjenimi kvasovkami izkazuje največjo kapaciteto vezave cinka (3,21 mg Zn/g suhega kvasa).

Omenjene kvasovke imajo približno enake kapacitete za vezavo selena ($0,06 \pm 0,02$ mg Se/g suhega kvasa). V procesu vezave mineralov, izbrane kvasovke iz rastnega medija torej vežejo 77 % bakra, 7% cinka in 0,6 % selena (Batič s sod., 2003a, Batič s sod., 2003b).

Prisotnost visokih koncentracij bakra in cinka v rastnem mediju je za kvasovke lahko esencialna, kakor tudi ovirajoča za njihovo rast in metabolizem. Kvasovke, izpostavljene takim pogojem, kažejo sposobnost akumulacije bakra in cinka v koncentracijah, ki so večje od potreb celic. To sposobnost, lahko uporabimo v bioprocesu obogatitve kvasne biomase z minerali. Kombinacija bakra in cinka kaže medsebojen vpliv na akumulacijo. Dodatek bakra v medij, zmanjša relativno akumulacijo cinka, medtem ko cink stimulira dodaten privzem bakra (Fujs s sod., 2001, Batič s sod., 2001).

Živost oz. aktivnost kvasne biomase v procesu mineralne obogatitve je zelo pomembna, zaradi druge faze; od metabolizma odvisnega transporta skozi celično membrano. V nizkih koncentracijah so določeni elementi za mikroorganizme nujno potrebni in morajo biti zagotovljeni v rastnem mediju. Visoke koncentracije istega elementa (npr. cinka, bakra, selena), pa lahko delujejo toksično in živost/aktivnost biomase močno zmanjšajo. Meja med esencialnostjo in toksičnostjo je majhna in odvisna od koncentracije in kemijske oblike elementa (Hughes in Poole, 1991; Blackwell s sod., 1995; Zavašnik s sod., 1996).

Celica ima zaradi raznolikosti intracelularnih organelov in biomolekul veliko potencialnih vezavnih mest za minerale. Velika količina mineralov ostane vezanih na celično steno. Kapaciteta vezave mineralov na celično steno je odvisna od njene strukture (Blackwell s sod., 1995; Volesky in Phillips, 1995). Sposobnost vezave mineralov imajo tudi nekatere citoplazemske biomolekule (Blackwell, 1995). Veliko afiniteto do posameznih kovin imajo specifični proteini iz skupine metalo-tioneinov (Batič s sod., 1996). Sinteza teh molekul je verjetno inducirana s prisotnostjo mineralov. Celični metaboliti, ki imajo prav tako sposobnost vezave, so še: nukleotidi, RNA, anorganski fosfati in sulfhidrili (Blackwell, 1995).

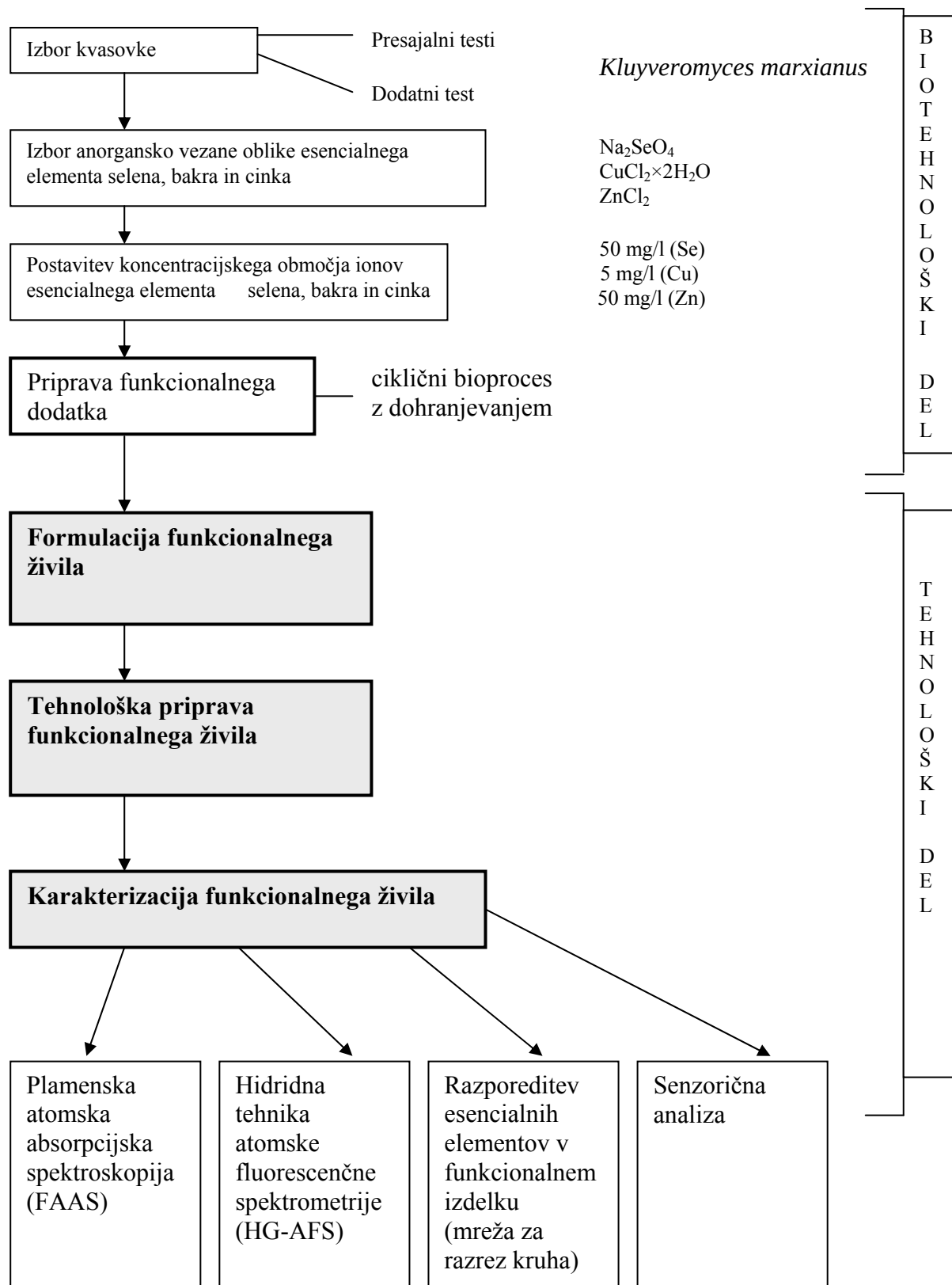
Omenjene lastnosti kvasovk lahko s pridom izkoristimo in z optimiziranjem parametrov dosežemo akumulacijo večjih količin določenega minerala v »organski obliki«. Prednost in perspektiva mineralno obogatene kvasne biomase pred anorganskimi mineralnimi pripravki je v tem, da je to naravni vir mineralov prisotnih v obliki, ki je direktno sprejemljiva za vključitev v prehransko verigo višjih organizmov. V celici organsko ali kelatno vezani minerali v kombinaciji z vitamini in visokovrednimi proteini kvasovk imajo tudi potencialno večjo »bio-aktivnost« zaradi predhodne bioaktivacije v kvasni celici med procesom akumulacije elementa. Zaradi interakcij in organske vezave se zmanjša tudi toksičnost posameznih mineralov. S kreiranjem bioloških virov mineralov se tudi približujemo metabolizmu človeka z izdelkom, ki je oblikovan za potrebe sodobnega človeka v številnih stresnih situacijah. V takih okoliščinah prihaja do hitrih izgub mineralov iz telesa in takrat je pravi vir mineralov lahko ključnega pomena za optimalno delovanje človeškega telesa in duha. Mineralno obogatena kvasna biomasa in vodotopni ekstrakt, se lahko uporablja kot aditiv na vseh področjih živilske industrije, kakor tudi pri pripravi paramedicinskih in kozmetičnih preparatov. Proces vezave kovin s kvasno biomaso odpira velike možnosti tudi na področju varstva okolja, saj lahko s pomočjo kvasovk odstranjujejo težke kovine iz odpadnih vod. Biološka detoksifikacija teh kovin pa pomeni njihovo lažje vključevanje v verigo kroženja snovi v naravi (Volesky in May-Phillips, 1995; Blackwell s sod., 1995; Batič s sod., 1996; Zavašnik s sod., 1996; Paš, 2001).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 SHEME RAZISKOVALNEGA DELA

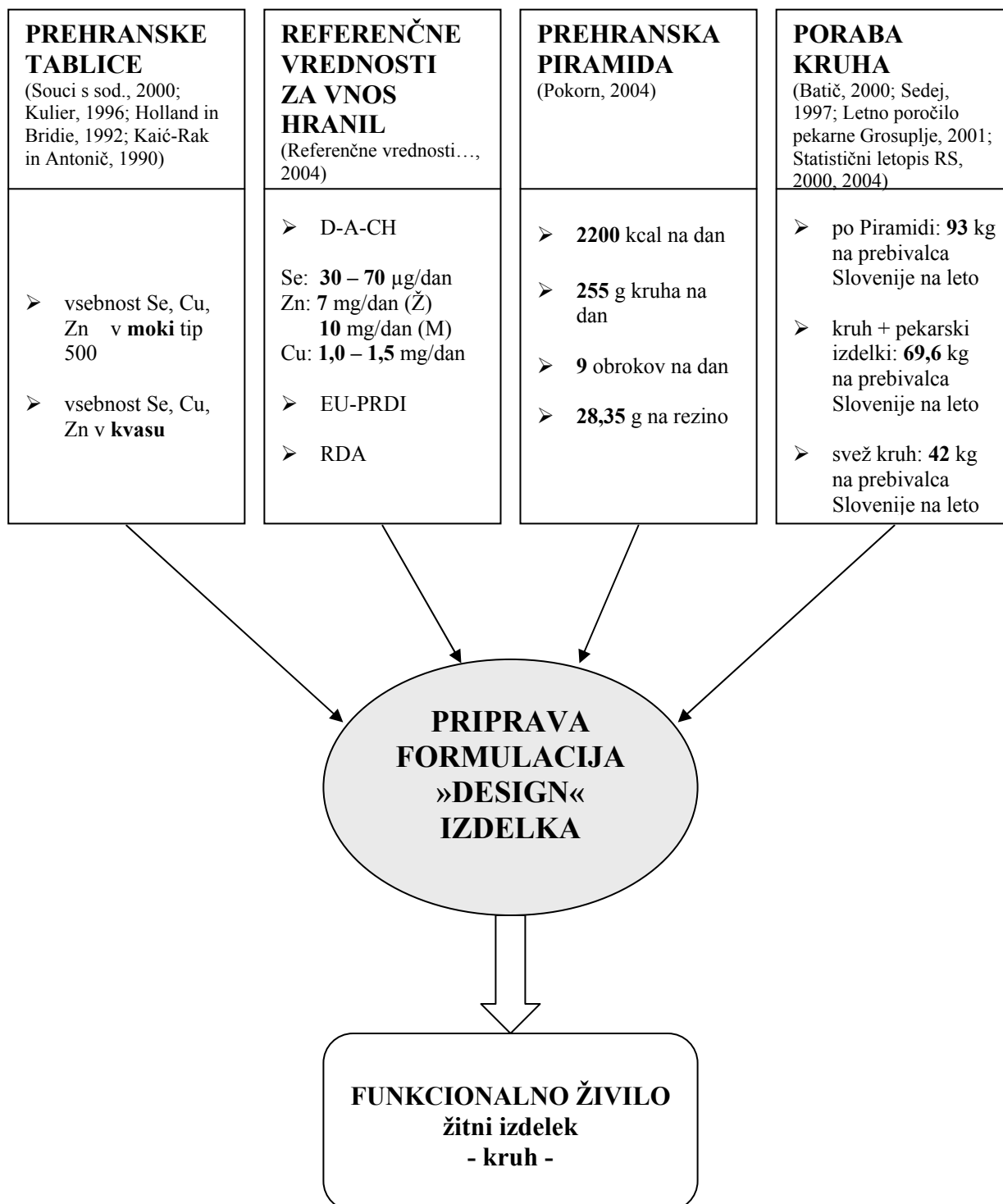
Diplomsko delo je rezultat projekta (Batič, 2003). Projekt je bil sestavljen iz biotehnološkega in tehnološkega dela. V okviru biotehnološkega dela projekta so na Katedri za biotehnologijo na osnovi postavljenih kriterijev izbrali kvasovko in postavili bioproces za pripravo s cinkom, bakrom in selenom obogatene kvasne biomase t.i. funkcionalnega dodatka. Tako pripravljen dodatek smo na Katedri za rastlinska živila, v okviru tehnološkega dela projekta uporabili za pripravo izdelka – kruha s povečano koncentracijo esencialnih elementov. Priprava izdelka je obsegala tudi njegovo formulacijo oziroma »design«.

3.1.1 Priprava funkcionalnega živila



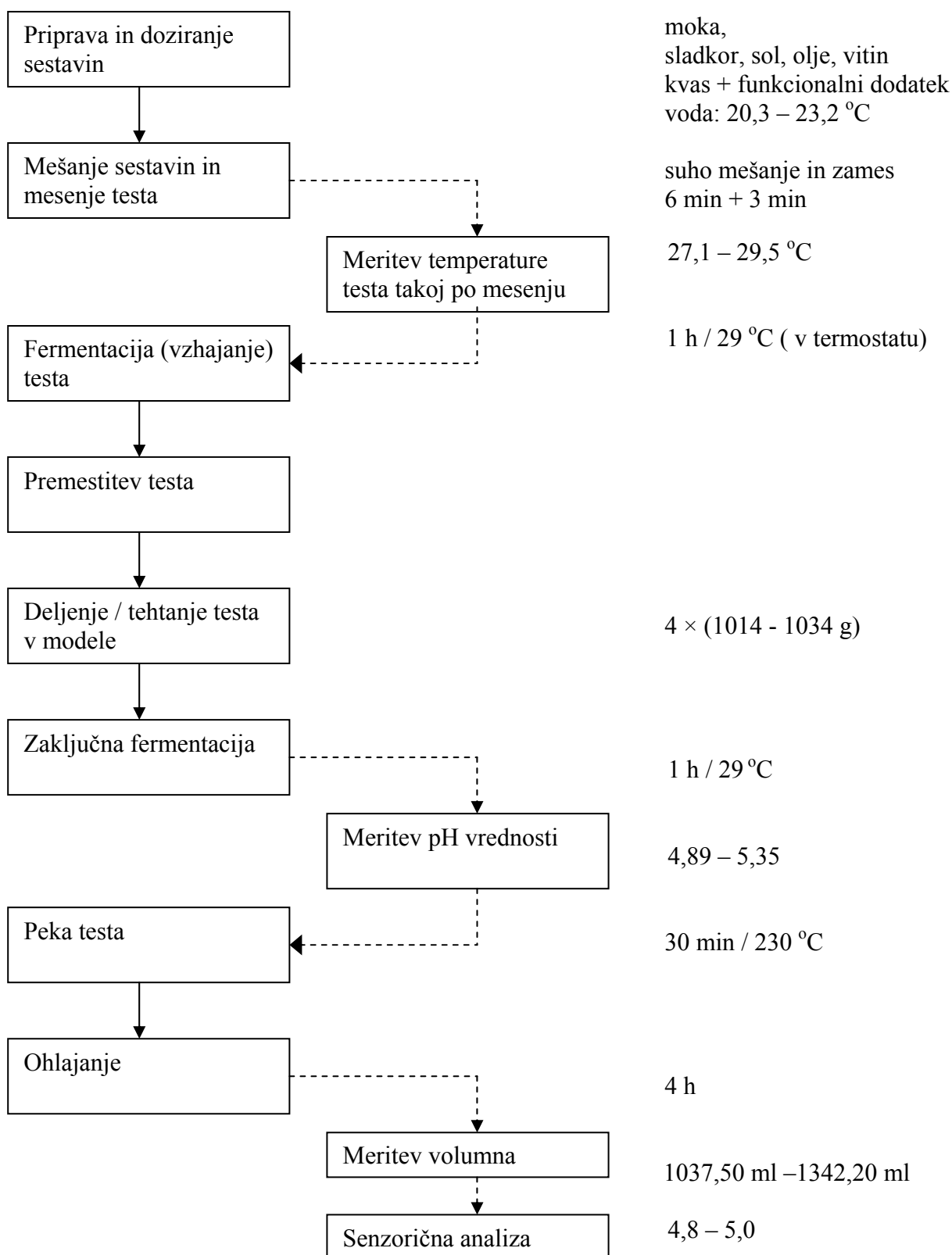
Slika 1: Shema priprave funkcionalnega živila.

3.1.2 Formulacija funkcionalnega živila.



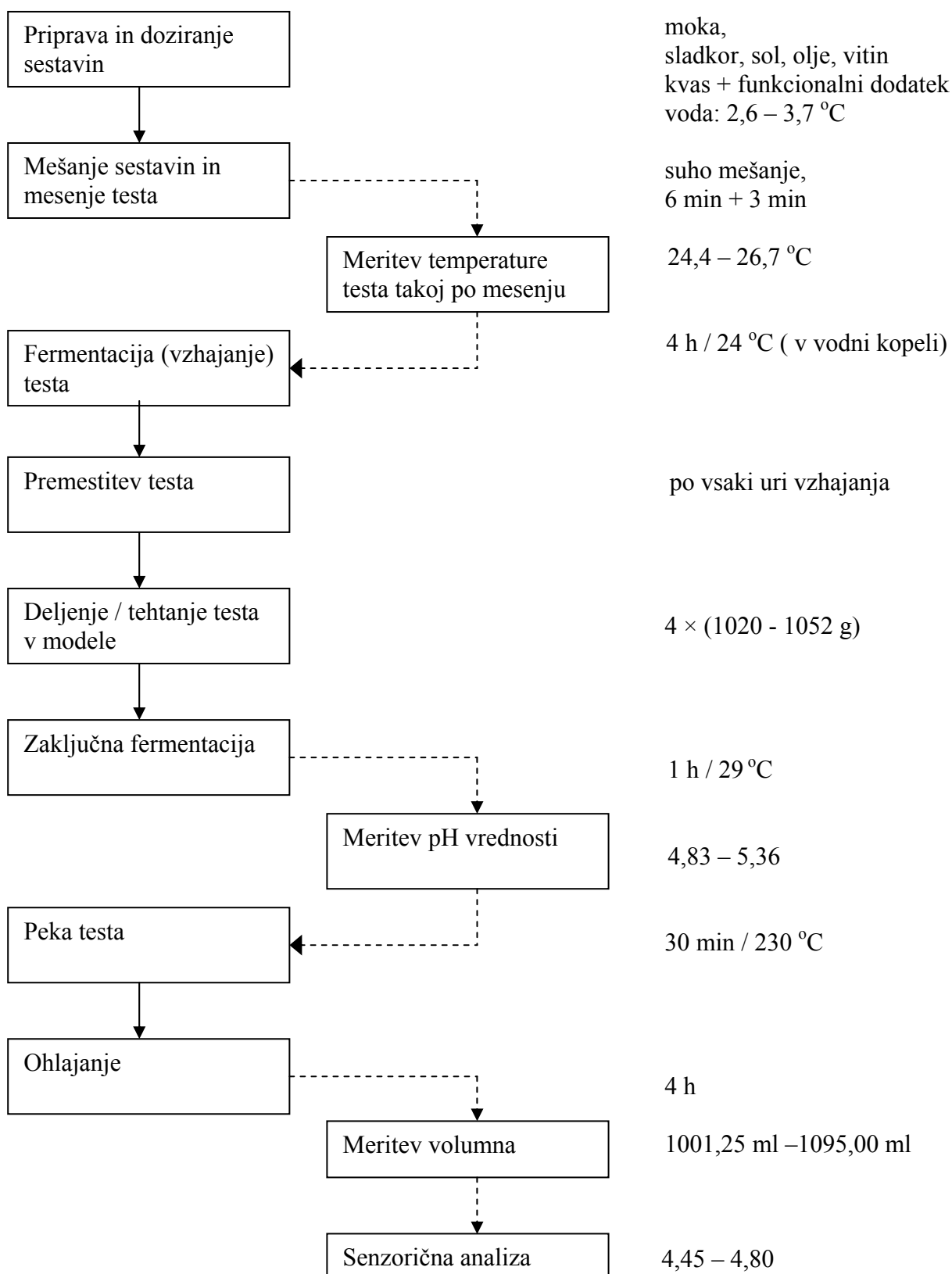
Slika 2: Formulacija funkcionalnega živila.

3.1.3 Direktni zames testa – kratka fermentacija



Slika 3: Shema direktnega zamesa testa – kratka fermentacija.

3.1.4 Direktni zames testa – dolga fermentacija



Slika 4: Shema direktnega zamesa testa – dolga fermentacija.

3.2 METODE

Metodologija dela, ki se je uporabljala pri diplomskem delu, temelji na pripravi, formulaciji oziroma »designu« žitnega izdelka – kruha. Želeli smo ga formulirati kot funkcionalno živilo. Formulacija je potekala na osnovi referenčnih vrednosti za vnos hranil, prehranske piramide in količinske porabe kruha v Sloveniji. Pri tem smo se oprli tudi na prehranske tabele in mineralno sestavo kvasne biomase. Za tehnološko pripravo kruha smo uporabili tehnološki proces direktnega zamesa testa in peke kruha v modelih. Za karakterizacijo izdelka smo izdelali mrežo za razrez kruha, po kateri smo s pomočjo atomske absorpcije določili elemente. Vzhajanemu testu smo izmerili pH vrednost, kruhu pa volumen. Izdelek smo ovrednotili tudi senzorično.

3.2.1 Priprava / formulacija / »design« funkcionalnega živila – kruha

Formulacija funkcionalnega živila je postopek, s katerim smo oblikovali recepturo za pripravo žitnega izdelka – kruha, kot funkcionalnega živila. Z izdelkom smo želeli zadostiti med 25 in 50 % dnevnim potrebam po selenu, bakru in cinku. Pri tem smo se oprli na referenčne vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za vnos hranil, na prehransko piramido in na porabo kruha v Sloveniji.

Prehranske tablice:

Pri formulaciji novega prehranskega izdelka, s katerih želimo pokriti potrebe po določenih snoveh, je potrebno upoštevati natančno kemijsko sestavo in energijsko vrednost njegovih sestavin. Podatki o zastopanosti posameznih snovi v izbranih surovinah so podani v prehranskih tablicah. Ker prehranskih tablic za slovenski prostor še nimamo, smo se v naši raziskovalni nalogi oprli na podatke iz prehranskih tablic drugih držav. V tabeli 9. so zbrani podatki iz Nemških prehranskih tablic, Švedsko-Nemško-Ameriško-Britanskih prehranskih tablic, Britanskih prehranskih tablic in Hrvaških prehranskih tablic.

V našem primeru smo potrebovali podatke o zastopanosti selena, bakra in cinka v beli pšenični moki tipa 500 in podatke o zastopanosti teh elementov v ne-obogatenem kvasu. Podatki v tablicah se med seboj razlikujejo, zato smo pri formulaciji izdelka lahko izračunali le okvirne vrednosti, ki smo jih z analizami na koncu preverili.

Vrednosti v prehranskih tablicah so podane na 100 g za surovino ki jo bomo v celoti zaužili, torej za belo moko tip 500. To pomeni, da niso upoštevane vrednosti za dele, ki se pri proizvodnji odstranijo (npr. otrobi). Če v tablicah ni bilo točnega imena surovine, smo izbrali najboljši približek (npr. pšenična moka tip 405).

V tabeli so podane tudi vrednosti za bel pšenični kruh. Iz podatkov lahko vidimo, da kruh že vsebuje določene količine selena, bakra in cinka. Ravno zato, ker je že ne-obogaten kruh primeren nosilec esencialnih mikroelementov in ker mu je potrebno mineralno zastopanost le še uravnati, smo ga izbrali za pripravo funkcionalnega živila.

Preglednica 8: Mineralna in energijska sestava pšenične moke in belega kruha (Souci s sod., 2000; Kulier, 1996; Holland in Bridie, 1992; Kaič-Rak in Antonić, 1990)

	(Souci, Fachmann, Kraut, Scherz, Senser, 2000)		(Kulier, 1996)		(Holland in Bridie 1992)		(Kaič-Rak in Antonić, 1990)
	pšenična moka tip 550	bel pšenični kruh	pšenična moka tip 405	bel pšenični kruh	bela pšenična moka	bel pšenični kruh	bela pšenična moka
energijska vrednost na 100 g	332 kcal	238 kcal	338 kcal	230 kcal	341 kcal	235 kcal	350 kcal
vsebnost mineralov na 100 g							
Zn	0,780 mg	0,661 mg	1,100 mg	0,500 mg	0,900mg	0,600 mg	0,700 mg
Cu	0,14 mg	0,22 mg	0,29 mg	0,22 mg	0,18 mg	0,19 mg	0,17 mg
Se	1,2 µg	5,0 µg	19 µg	28 µg	42 µg	28 µg	/

Preglednica 9: Mineralna sestava kvasne biomase.

	Minerali v funkcionalnem prehranjevanju (Batič, 1996)	Kvasna biomasa – vir mineralov (Paš, 2001)
<u>makro elementi</u> (mg/g)		
Natrij	0,12	/
Kalcij	0,75	/
Železo	0,02	0,08
Magnezij	1,65	/
Kalij	21,00	/
Fosfor	13,50	/
Žveplo	3,90	/
Cink	0,17	0,15
Silicij	0,03	0,03
<u>mikro elementi</u> (µg/g)		
Baker	8,00	27,00
Selen	0,10	0,04
Mangan	8,00	20,00
Krom	2,20	< 0,07
Nikel	3,00	1,00
Vanadij	0,04	0,05
Molibden	0,04	0,04
Kositer	3,00	/
Litij	0,17	< 0,01

Formulacija funkcionalnega žitnega izdelka – kruha je temeljila na uravnavanju zastopanosti mineralov v izdelku. Nekaj mineralov v izdelku dobimo z moko, nekaj s kvasom, ki je prav tako dober nosilec mineralov. Za uravnavanje zastopanosti mineralov, jih je potrebno surovinam dodati. Če z minerali obogatimo moko, bodo ti ostali v anorganski obliki in bodo za človeka težko izkoristljivi. Kvasna biomasa, pa je sposobna akumulacije večjih koncentracij mineralov, v organski obliki, ki so človeku lažje dostopni.

Zato smo se pri formulaciji funkcionalnega žitnega izdelka, za povečanje zastopanosti mineralov v njem odločili, za obogatitev z mineralno obogateno kvasno biomaso, ki smo jo poimenovali funkcionalni dodatek.

3.2.1.1 Referenčne vrednosti za vnos hranil

Preglednica 10: Referenčne vrednosti za selen baker in cink (Referenčne vrednosti..., 2004).

element	Referenčne vrednosti (RV)		25 % RV		50 % RV	
	ž	m	ž	m	ž	m
cink (Zn)	7 mg/dan	10 mg/dan	1,75 mg/dan	2,50 mg/dan	3,5 mg/dan	5,0 mg/dan
baker (Cu)	1,0 - 1,5 mg/dan		0,250 – 0,375 mg/dan		0,50 – 0,75 mg/dan	
selen (Se)	30 – 70 µg/dan		7,50 – 17,5 µg/dan		15,0 – 35,0 µg/dan	

* m - moški

* ž - ženske

Za formulacijo funkcionalnega živila, smo se oprli tudi na referenčne vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za vnos hranil. Vrednosti, ki smo jih uporabili za izračun, so oblikovale družbe za prehrano v Nemčiji (DGE), Avstriji (ÖGE) in Švici (SGE/SVE) in veljajo za Evropejce.

Pri referenčnih vrednostih gre za količine, za katere domnevamo, da pri skoraj vseh osebah konkretne navedene skupine prebivalstva ščitijo pred prehransko pogojenimi zdravstvenimi okvarami in omogočajo njihovo polno storilnost. Poleg tega naj bi omogočale nastanek nekakšne telesne rezerve, ki je ob nenadnih povečanjih potreb na voljo takoj in brez ogrožanja zdravja (Referenčne vrednosti..., 2004).

Funkcionalni izdelek smo formulirali tako, da naj bi ta pokrila med 25 in 50 % dnevnih potreb po selenu bakru in cinku. Kruh in žitni izdelki zavzemajo precejšnji delež v naši prehrani. Presežek v vnosu posameznih mineralov ima lahko negativne učinke, zato je potrebno izdelek kot je kruh načrtovati tako, da ta nima neželenih učinkov tudi pri uživanju večjih količin od predpisanih.

3.2.1.2 Prehranska piramida

Preglednica 11: Prehranska piramida – količine živil v enotah (Pokorn, 2004)

Skupine živil	1600 kcal*	2200 kcal**	2800 kcal***
Kruh, žita	6 (25g kruha, 80g krompirja)	9 (50g riža, 60g testenin, žgancev)	11 (20g keksov, prepečenca)
Zelenjava	3 (200g zelene solate, špinače)	4 (100g zelja, korenja, pora)	5 (150g paprike, paradižnika)
Sadje	2 (150g hrušk, sliv, jabolok, češenj, kivija)	3 (80g banan, 160g breskev, 300g lubenic)	4 (100g borovnic, jagod, grozdja)
Mleko in izdelki	2 ali 3****	2 ali 3****	2 ali 3****
Meso in zamenjave	5*****	6*****	7*****

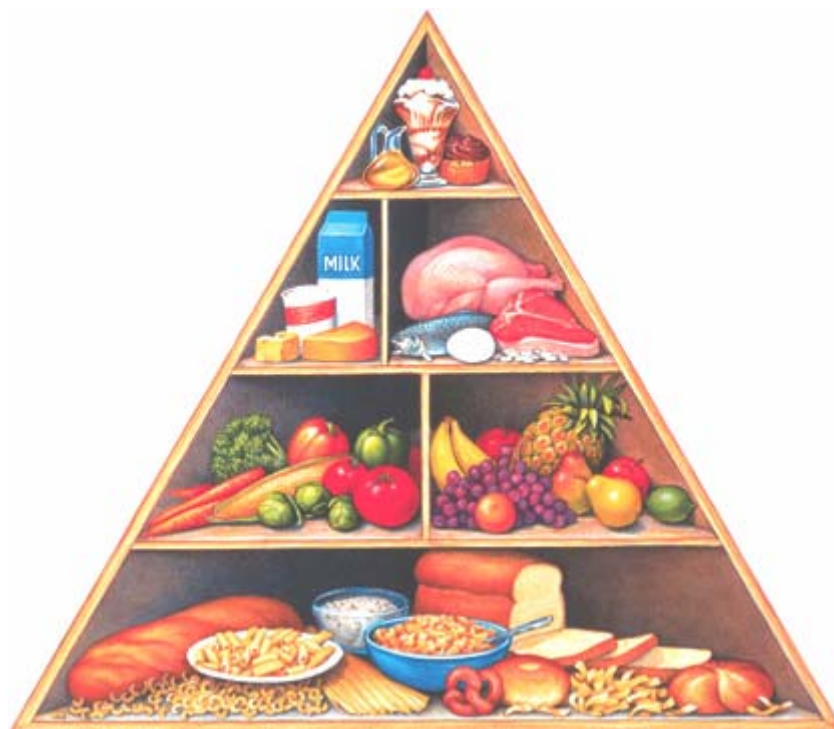
* sedeče ženske in nekateri starostniki

** aktivne ženske, večina sedečih moških

*** aktivni moški in zelo aktivne ženske

**** odrasli nad 50 let potrebujejo 3 enote mleka, drugi le 2 enoti (enota je 2 do 2,5 dl)

***** 30g pustega mesa, 4 žlice kuhanih stročnic, 3 žlice puste skute
(25g mastnega sira, 1 jajce – vsebuje več maščob)



Slika 5: Prehranska piramida (Pokorn, 2004).

Osnova pravilnega prehranjevanja so pestri in uravnoteženi obroki, v katerih so zastopana živila iz različnih skupin v pravih razmerjih. Glavna priporočila za tako prehranjevanje so povzeta v obliki piramide zdrave prehrane. Prehranska piramida nam pove koliko in katera živila naj bi zaužili čez dan, da bi s hrano zadostili dnevnim potrebam po energiji in hranilni vrednosti. Potrebna količina hrane in njena energetska vrednost je pri ljudeh različna, njeno potrebo pa določajo: spol, starost, telesna teža in telesna dejavnost.

Zaradi vseh teh različnih dejavnikov mora vsak posameznik izbrati svojo prehransko piramido. V grobem lahko izpostavimo tri glavne skupine, glede na potreben dnevni vnos kalorij s prehrano:

- Vnos 1600 kcal na dan povprečno ustreza večini žensk, ki pri svojem delu pretežno sedijo, ter starejšim fizično manj aktivnim moškim in ženskam.
- Vnos 2200 kcal povprečno ustreza večini otrok, odrasčajočim dekletom, aktivnim ženskam in moškim, ki pri svojem delu pretežno sedijo. Noseče ženske, ki dojijo, potrebujejo na dan približno 500 kcal več.
- Vnos 2800 kcal povprečno ustreza odrasčajočim fantom, mnogim telesno aktivnim moškim in telesno zelo aktivnim ženskam.

Živila so razdeljena na šest skupin, ki glede na priporočeno pogostost uživanja sestavljajo piramido:

- V prvi skupini so: kruh, žita, žitni izdelki, kaše, krompir, testenine, riž.
- V drugi in tretji skupini sta zelenjava in sadje. V četrti skupini so mleko in mlečni izdelki.
- V peti skupini so meso, ribe, stročnice, jajca, lupinasto sadje.
- V šesti skupini so živila, ki vsebujejo veliko maščob in sladkorjev.

Vsaka od skupin vsebuje določene hranilne snovi, ne pa vseh, ki jih potrebujemo. Prav tako živila iz ene skupine ne morejo nadomestiti živil iz druge skupine. Za uravnoteženo prehrano potrebujemo živila iz vseh skupin, odmerjena v ustreznih predpisanih enotah.

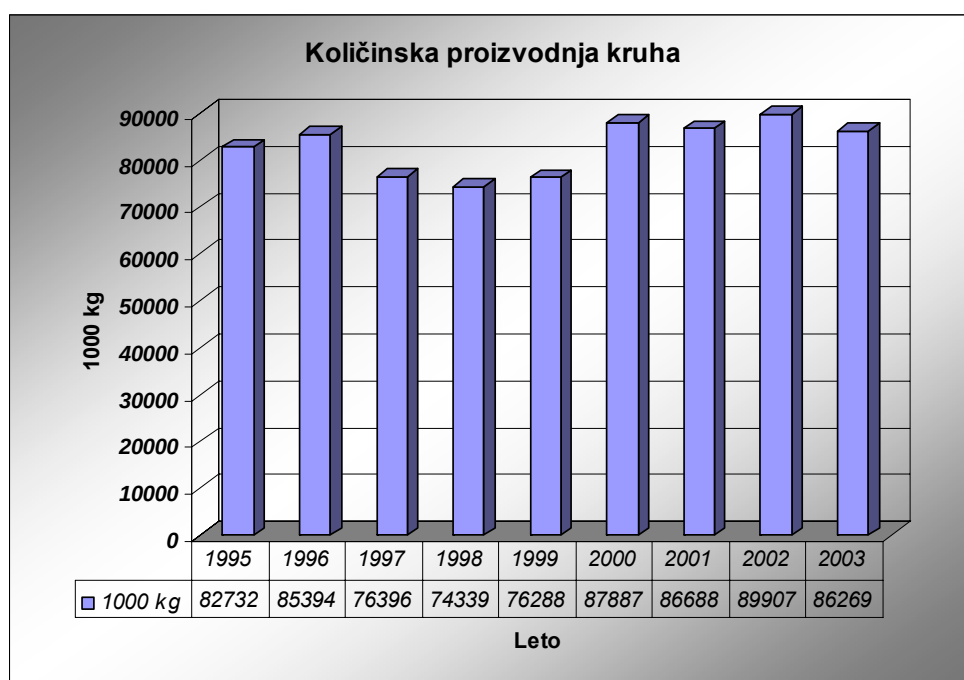
Iz prehranske piramide vidimo, da naj bi bili v prehrani v največji meri zastopani izdelki iz žit. Pri formulaciji našega žitnega izdelka smo uporabili tudi to dejstvo. Za izračun smo izbrali skupino, v kateri je priporočen vnos 2200 kcal na dan. Za to skupino je priporočen vnos devetih enot iz prve skupine prehranske piramide. Izbrana enota je ena rezina kruha, ki predstavlja 28,35 g.

3.2.1.3 Poraba kruha

Kruh in pekovski izdelki predstavljajo živila, ki so najbolj pogosto uvrščena med osnovna živila. So osrednji sestavni del prehrane slehernega Evropejca. Po podatkih iz leta 1997, porabimo Slovenci kar 70 kg kruha in pekovskih izdelkov na prebivalca letno (Batič, 2000).

Po statističnih podatkih je bilo v Sloveniji v letu 1996 registriranih okoli 400 pekarn. Po obsegu proizvodnje ocenjujejo, da navedene pekarnice izdelajo letno kar 146.000 ton pekovskih izdelkov. Če to količino razdelimo med prebivalce Slovenije, ugotovimo da je potrošnja kruha na člana gospodinjstva 69,2 kg na leto. Podatek nam pove, da Slovenci v primerjavi z drugimi državami pojemo precej kruha (Sedej, 1997).

Slovenski pekovski trg sodi med zrele, razvite trge. Kakovost slovenskih pekovskih izdelkov je večinoma visoka in v večji meri ustreza evropskim standardom. Iz letnega poročila pekarnice Grosuplje, ki je ena izmed prestižnih slovenskih pekarn, lahko preberemo, da je v letu 2001 proizvodnja kruha in pekovskega peciva v Sloveniji znašala 140.000 ton. Nadaljevala se je krepitev položaja večjih pekarn, v katerih se obseg proizvodnje po letu 1998 povečuje in je v letu 2001 že presegel 55,5 odstotka (Poročilo pekarnice Grosuplje, 2001).



Slika 6: Količinska proizvodnja kruha v Sloveniji (Statistični letopis Republike Slovenije 2000; Statistični letopis Republike Slovenije 2004)

Iz podatkov statističnega letopisa republike Slovenije, ki so prikazani v grafu (Slika 6.) lahko vidimo količinsko proizvodnjo svežega kruha med leti 1995 in 2003. Prikazani podatki vključujejo le proizvodnjo kruha, ne pa tudi pekovskih izdelkov. Povprečna proizvodnja kruha v teh letih je bila 82.878 ton. To pomeni, da Slovenci na leto porabimo okrog 42 kg kruha na prebivalca, skoraj še enkrat toliko pa porabimo ostalih pekovskih izdelkov.

3.2.2 Metoda direktnega zamesa testa

Proces priprave testa in peke ne-obogatene kruha in kruha, obogatenega z esencialnimi elementi, je potekal po standardiziranem postopku za pripravo kruha. Sestavine: moka, kvas (1.5%), sladkor (2%), sol (2%), vitin (1%), olje (2%) in voda so bile dodane v standardnih koncentracijah. V procesu formulacije smo oblikovali vrednosti za dodatek obogatene kvasne biomase. Pri pripravi obogatenih kruhov moramo dodati 16,71 g kvasne biomase obogatene s cinkom, 3,83 g kvasne biomase obogatene z bakrom in 1,02 g kvasne biomase obogatene s selenom (Batič, 2003).

Pripravili in spekli smo 12 serij kruha; 2 seriji kruha obogatene s selenom, 1 serijo kruha obogatene s cinkom, 1 serijo kruha obogatene z bakrom, 1 serijo kruha obogatene z mešanico vseh treh elementov in 1 serijo ne-obogatene kruha. Pri vsaki seriji smo izvedli kratko in dolgo fermentacijo testa.

Po metodi direktnega – neposrednega načina mesitve vse sestavine v posodo za mesenje dodamo naenkrat in v eni fazi mešanja zamesimo v testo z optimalnimi fizikalnimi lastnostmi (Collado-Fernández, 2003; Hrovat, 2000).

- Priprava in doziranje sestavin.

Na analitski tehtnici smo natančno tehtali sestavine: 588 g moke, 8.8 g kvasa, 11.8 g sladkorja, 11.7 g soli, 5.8 g vitina in z merilnim valjem odmerili: 339 ml vode in 11 ml olja. Funkcionalni dodatek – obogateno liofilizirano kvasno biomaso smo pripravili v zatehtah: 1,02 g kvasne biomase obogatene s selenom, 3,18 g kvasne biomase obogatene z bakrom, 16,71 g kvasne biomase obogatene s cinkom in 1,83 g kvasne biomase obogatene z mešanico selena, bakra in cinka. Moko smo pred mesenjem presejali. Voda, ki smo jo uporabili za serijo kruhov s dolgo fermentacijo je imela temperaturo hladilnice (med 2,6 in 3,7 °C), voda za serijo kruhov kratke fermentacije, pa je imela temperaturo med 20,3 in 23,2 °C.

- Mešanje sestavin in mesenje testa.

Sestavine smo najprej na suho premešali. Potem smo dodali vodo in mešali 6 minut pri manjših obratih spiralnega mešalnika. Testu smo dodali olje in mesili še 3 minute pri višjih obratih spiralnega mešalnika.

- Meritev temperature testa.

Takoj po mesenju smo izmerili temperaturo testa in pustili, da je testo 20 minut počivalo v posodi za mesenje.

- Fermentacija (vzhajanje) testa.

Zameseno testo je potrebno pustiti, da vzhaja. Testo, ki je vzhajalo dalj časa, smo v zaprti posodi postavili v vodno kopel, ki je imela 24 °C in pustili vzhajati 4 ure. Testo, ki je vzhajalo krajši čas, smo v odprti posodi dali v termostat, ogret na 29 °C in pustili vzhajati 1 uro.

- Premesitev testa.

Testo smo po vsaki uri vzhajanja premesili.

- Deljenje testa v modele.

Vzhajano testo smo razdelili na 4 enakomerne dele, tehtali, pregnetli in dali v modele.

- Zaključna fermentacija.

Pred pečenjem smo testo razdeljeno v modele postavili za 1 uro v termostatu na 29 °C, da je ponovno vzhajalo. Vzhajanemu testu smo pred pečenjem izmerili tudi pH vrednost.

- Peka testa.

Testo smo pekli 30 minut v pečici, ogreti na 230 °C, po ustreznem programu za peko kruha.

- Ohlajanje kruha.

Po končani peki, smo kruh v modelih vzeli iz pečice, stresli iz modelov in pustili 4 ure, da se je ohladil. Ohlajen kruh smo uporabili za nadaljnje analize.

3.2.3 Merjenje vrednosti pH

Dokončno vzhajanemu testu smo pred pečenjem izmerili pH vrednost.

3.2.4 Merjenje volumna

Ohlajenemu kruhu smo izmerili volumen po metodi izpodrinjenega prosa. V veliko posodo smo do vrha nasuli proso. Nekaj prosa smo odstranili, v posodo položili kruh in zasuli s prosom nazaj do roba. Proso, ki je padlo iz posode, smo nasuli v merilni valj in odčitali volumen kruha.

3.2.5 Senzorična analiza

Kruh smo po 24 urah ocenili po Pravilih ocenjevanja kakovosti kruha. Pravila in postopek senzoričnega ocenjevanja kruha določa Združenje pekov pri Žitni skupnosti. Kruh se ocenjuje po merilih ocenjevanja, kot so opisana v ocenjevalnem listu, ki je sestavni del Pravil ocenjevanja. Sistem ocenjevanja je pet točkovni, pri katerem se lahko doseže maksimalno število 100 točk, pri ugotovljenih posameznih napakah se točke znižujejo. Kriteriji ocenjevanja so: oblika in videz, izgled in lastnosti skorje, izgled in lastnosti sredice, struktura in prožnost sredice ter vonj in okus. Posamezen kriterij ocenjevanja pomnožimo s faktorjem pomembnosti. V tem sistemu ocenjevanja je dan največji poudarek vonju in okusu kruha, ki ima faktor pomembnosti 9. Faktor pomembnosti za izgled in lastnosti sredice ter strukturo in prožnost sredice je 4. Za izgled in lastnosti skorje je faktor pomembnosti 2, za obliko in videz pa 1. Seštevek ponderiranih točk na ocenjevalnem listu se deli z 20 in tako dobimo končno oceno kakovosti, ki jo glede na število točk ovrednotimo s kakovostnimi lastnostmi. Število točk se vrednoti s sledečimi ocenami: zelo dobro (od 4,70 do 5,00 točk) – odlična kakovost; dobro (od 4,25 do 4,69 točk) – rahel odklon od kakovosti; zadovoljivo (od 4,00 do 4,24 točk) – opazen odklon od kakovosti; potrebno izboljšave (pod 4,00 točk) – pomembne napake v kakovosti. (Mlinarstvo in pekarstvo, 2000).

3.2.6 Karakterizacija mineralno obogatenga izdelka

Kruh obogaten s funkcionalnim dodatkom – kvasno biomaso obogateno z elementi cinkom, bakrom in selenom smo v prvem delu ovrednotili glede na končno koncentracijo esencialnega elementa za primer, da smo celotno število dnevnih obrokov kruha v Piramidi zdrave prehrane nadomestili z obogatenim kruhom in s tem zapolnili 50 % Referenčnih vrednosti za vnos hranil. V drugem delu pa smo kruh vrednotili glede na porazdelitev esencialnih elementov v kruhu.

3.2.6.1 Analiza elementov s pomočjo plamenske atomske absorpcijske spektroskopije (FAAS)

Plamenska atomska absorpcijska spektroskopija je zaradi enostavnosti, učinkovitosti in relativno nizke cene med splošno najbolj uporabljanimi metodami atomske absorpcije (Lajunen, 1992). Atomska spektroskopija temelji na prehajanju elektronov zunanje lupine med različnimi energetske stanji, zaradi interakcij atomov z elektromagnetnim valovanjem. Ko se elektron vrača v svoje normalno stanje, sprošča energijo v obliki radiacije, ki je specifična za ta element. Emitirano svetlobo lahko merimo z ustreznim detektorjem. Vsak element ima specifičen niz energijskih nivojev. Na ta način lahko valovno dolžino absorbirane ali emitirane svetlobe uporabimo za identifikacijo elementa, obseg absorpcije ali emisije pa za njegovo kvantifikacijo (Gupta s sod. 2003).

Pri plamenski atomski absorpcijski spektroskopiji tekoč vzorec kot aerosol uvedemo v plamen s temperaturo med 2000 in 3000 °C. Plamen mora imeti pri valovni dolžini analita nizko samo-absorpcijo in mora predstavljati nizek izvor bele svetlobe, da lahko zagotavlja ustrezen signal. Zadrževalni čas atoma v plamenu mora biti zadosten, da lahko pride do absorpcije. Najbolj pomemben plamen za določanje je zrak/aceten. Z njim lahko določamo elemente v širokem spektru valovnih dolžin, pri temperaturi 2500 °C. Primeren je za večino analitov (Ulrich, 2003).

Atomska absorpcijska spektroskopija je najbolj običajno uporabljena tehnika za analizo bakra v živilih. Pri pripravi vzorca moramo biti zelo pazljivi, da ne pride do kontaminacije z bakrom. V ta namen za pripravo bioloških vzorcev uporabljamo plastične pripomočke. Pred analizo moramo vzorec spremeniti v raztopino. Organske snovi se morajo v raztopini razgraditi. Za njihovo razgradnjo uporabljamo koncentrirano kislino ali mešanico kislin. V našem primeru smo za razgradnjo vzorca v katerem smo določali baker uporabili koncentrirano dušikovo (V) kislino. Razgrajen vzorec pustimo, da se ohladi, potem ga razredčimo z vodo. Baker v tako pripravljenem vzorcu smo nato določali s plamensko atomsko absorpcijsko spektroskopijo (FAAS) na instrumentu Varian SpectrAA 110 v plamenu zrak-aceten. Baker smo določali pri valovni dolžini 324,7 nm. Korekcija ozadja (nespecifična absorpcija) je bila opravljena z uporabo devterijeve žarnice (Barberá s sod., 2003).

V primerjavi z drugimi toksičnimi ali esencialnimi elementi v sledovih, cink ne predstavlja velikega problema pri njegovem določanju. Lahko ga določamo v mnogih medijih, za njegovo določanje pa se uporablja veliko metod. Daleč najbolj uporabljana metoda za

določanje cinka je atomska absorpcijska spektroskopija. Vzorec v katerem smo določali cink smo najprej razkrojili s koncentrirano dušikovo (V) kislino. Nato smo ga določali s FAAS na instrumentu Varian SpectrAA 110 v plamenu zrak-acetilen. Cink smo določali pri valovni dolžini 213,9 nm. Korekcija ozadja (nespecifična absorpcija) je bila opravljena z uporabo devterijeve žarnice (Ruz, 2003).

3.2.6.2 Analiza elementov s pomočjo hidridnih tehnik atomske fluorescenčne spektrometrije (HG-AFS)

Fluorescenca je fotoluminiscenčni proces, pri katerem atome ali molekule vzbujamo z absorpcijo elektromagnetnega sevanja. Vzburjeni atomi se nato vrnejo v osnovno stanje in sproščajo nastalo energijo v obliki fotonov. Emisijo fotonov merimo pri določeni valovni dolžini. Z metodo fluorescenčne spektroskopije lahko pod kontroliranimi pogoji določamo posamezne izbrane elemente. Atomska fluorescenčna spektrometrija (AFS) je ena izmed novjših metod med optičnimi atomskimi spektroskopskimi metodami (Skoog, Douglas A., 2004).

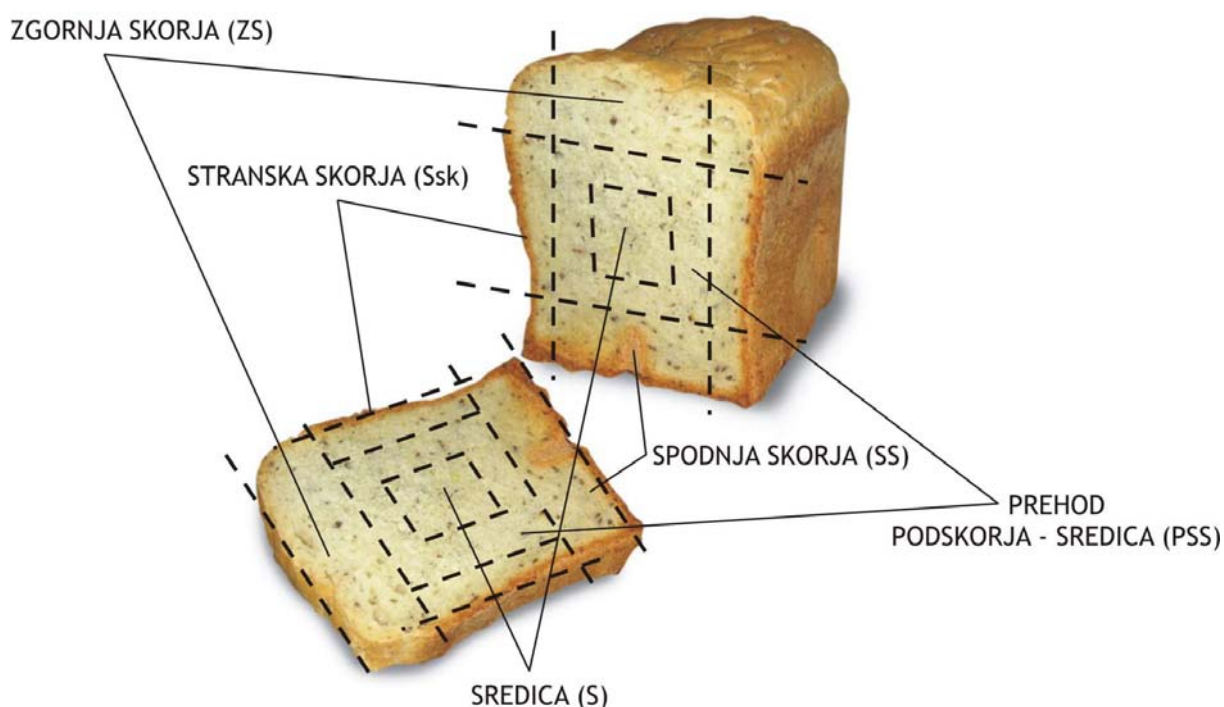
Selen lahko določamo z emisijsko spektrofotometrijo z uporabo plamena ali plazme visoke temperature, ki atomizira selen. Pri zelo občutljivih metodah atomske plamenske fluorescenčne spektrofotometrije, se uporablja tekoč vzorec, ki je bil predhodno razkrojen (Combs, 2003).

V primeru določanja selena je bil potreben nadzorovan razkroj kvasne biomase v mešanici žveplove (VI) kisline in vodikovega peroksida pri kontrolirani temperaturi. V tako pripravljenem vzorcu se je nato z atomsko fluorescenčno spektrometrijo določala vsebnost selena.

Uporabljeni metodi za določanje cinka, bakra in selena; plamenska atomska absorpcijska spektroskopija (FAAS) in hidridne tehnike atomske fluorescenčne spektrometrije (HG-AFS) sta ponovljivi in zanesljivi pri določanju teh elementov v vzorcih obogatene kvasne biomase in obogatene izdelka – kruha.

3.2.6.3 Razporeditev esencialnih elementov v funkcionalnem izdelku – kruhu

Za vrednotenje porazdelitve esencialnih elementov v ne-obogatenem kruhu in kruhu, obogatenem s funkcionalnim dodatkom, smo postavili mrežo za razrez kruha, ki nam je omogočala določitev razporeditve elementov v zgornji skorji kruha (ZS), spodnji skorji kruha (SS), stranski skorji kruha (SSk), na prehodu podskorja – sredica (PSS) in sredici kruha (S). Ugotavljanje razporeditve esencialnega elementa v kruhu je temeljilo na homogeni razporeditvi funkcionalnega dodatka v testu, kar je predpogoj tudi za homogeno porazdelitev po celotnem kruhu (Batič, 2003).



Slika 7: Mreža za razrez kruha za določanje razporeditve esencialnih elementov cinka, bakra in selen v kruhu s “funkcionalnim” dodatkom – obogateno kvasno biomaso (Batič, 2003).

3.3 MATERIAL

3.3.1 Izbira mikroorganizma

Postavitev bioprocesa proizvodnje mineralno obogatene kvasne biomase, ki se lahko uporablja kot funkcionalni dodatek ali živilo je temeljila na izboru kvasovke z GRAS statusom. Osnovna kriterija za izbor posameznih kvasovk iz Zbirke industrijskih mikroorganizmov (ZIM) na Katedri za biotehnologijo, Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete za presejalne teste sta bila: dosedanja prisotnost/zastopanost izbranih kvasovk v živilskih izdelkih in potencialna sposobnost izkoriščanja različnih odpadnih surovin živilske industrije kot virov ogljika. Na osnovi postavljenih kriterijev, so bile iz ZIM zbirke izbrane kvasovke: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Schwanomyces occidentalis* in *Candida intermedia*. Za postavitev bioprocesa obogatitve kvasne biomase z esencialnimi elementi (cinkom, bakrom in selenom) je bila na osnovi presejalnih in dodatnega testa izbrana kvasovka *Kluyveromyces marxianus* (Batič, 2003).

Kvasovka *Kluyveromyces marxianus* tvori bele do kremaste kolonije, vegetativno se razmnožuje s cepitvijo, tvori enostavne in zapletene psevdohife, v zelo majhnih askih vsebuje do 4 gladke, ovalne, okrogle ali ledvičaste askospore, konjugacije ni, poteka med celicami ali med celico in brstom, kvasovka raste na YM agarju, pa tudi na McClary agarju (Barnett s sod., 2000).

Kvasovka *Kluyveromyces marxianus* dobro akumulira baker in selen in le za 30 % slabše cink v primerjavi s kvasovkama *C. utilis* in *C. intermedia*. Na področju živilstva ima dokazano varno uporabo. V primerjavi s kvasovkama *C. utilis* in *C. intermedia* je *K. marxianus* v prednosti tudi zato, ker je sposobna asimilacije laktoze, ki ji omogoča rast na odpadni sirotki iz industrije predelave mleka, ki je v Sloveniji zastopana v večjem obsegu. To pomeni, potencialno ceneno vhodno surovino za proizvodnjo obogatene biomase s cinkom, bakrom in selenom (Batič, 2003).

3.3.2 Sestavine kruha

- moka tip 500 (Žito)
- kvas (liofiliziran)
- sladkor (kristalni – beli)
- sol (morska – fina)
- vitin – dodatek za pecivo in kruh:
(askurbinska kislina, emulgator, fungalne α -amilaze, sojina moka)
- voda
- olje
- funkcionalni dodatek:
 - kvasna biomasa obogatena s cinkom
 - kvasna biomasa obogatena z bakrom
 - kvasna biomasa obogatena s selenom
 - kvasna biomasa obogatena z mešanico cinka, bakra in selen

3.3.3 Oprema za izvedbo raziskave

- analitska tehnika
- spiralni mešalec
- cedilo
- merilni valji (1000 ml, 500 ml, 10 ml)
- vbodni termometer
- plastična posoda
- termostat
- modeli
- pH-meter
- peč
- velika posoda za meritev volumna
- proso
- nož

4 REZULTATI

4.1 KRUH Z DODATKOM SELENA

Preglednica 12: Zatehta funkcionalnega dodatka, meritve nekaterih parametrov kruha obogatenga s selenom in senzorična ocena

	kratka fermentacija		dolga fermentacija	
	prva peka (1 Se a)	druga peka (2 Se a)	prva peka (1 Se b)	druga peka (2 Se b)
funkcionalni dodatek	1,02 g	1,02 g	1,02 g	1,02 g
T vode dodane testu	20,3 °C	20,9 °C	2,8 °C	3,3 °C
T testa po mesenju	27,1 °C	27,4 °C	24,4 °C	25,4 °C
masa testa	1022 g	1020 g	1040 g	1040 g
pH vrednost	5,35	5,29	5,36	5,20
prostornina kruha	1163,75 ml	1037,50 ml	1056,25 ml	1047,50 ml
senzorična ocena (točke: 1–5)	4,80	5,00	4,45	4,80

4.1.1 Senzorična ocena kruha z dodatkom selena

Kruh obogaten s selenom, kratke fermentacije, prve peke (1 Se a) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 4,8 – odlična kakovost. Kruh je bil rahlo drobljiv pri mazanju, po okusu pa za odtenek slajši od kruha dolge fermentacije.

Kruh obogaten s selenom, dolge fermentacije, prve peke (1 Se b) smo ocenili s končno oceno dobro 4,45 – rahel odklon od kakovosti. Kruh je imel nepopolno obliko, nekoliko pretemno barvo skorje in zbita poroznost sredice. Bil je tudi nekoliko drobljiv pri mazanju.

Kruh obogaten s selenom, kratke fermentacije, druge peke (2 Se a) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 5,0 – odlična kakovost.

Kruh obogaten s selenom, dolge fermentacije, druge peke (2 Se b) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 4,8 – odlična kakovost. Kruh dolge fermentacije je imel v primerjavi s kruhom kratke fermentacije svetlejšo skorjo, rahlo izrazitejši vonj in nekoliko bolj poudarjeno aromo. Okus sredice je bil prijeten. Na prerezu kruha dolge fermentacije so bile vidne lise.

4.1.2 Razporeditev esencialnih elementov v kruhu, obogatenem s selenom

Obogatitev kruha z biomaso obogateno s selenom, opazno poveča koncentracijo bakra in selena v spodnji skorji kruha. Koncentracija bakra je v spodnji skorji, stranski skorji in v sredici približno enakomerno porazdeljena in nekoliko nižja na prehodu podskorja-sredica. Koncentracija selena v zgornji in stranski skorji je skoraj pol nižja kot v spodnji skorji in se še zmanjša na prehodu podskorja-sredica, proti sredici. Koncentracijski gradient porazdelitve cinka v kruhu je podoben kot pri ne-obogatenem kruhu. Razlika v primerjavi z razporeditvijo v ne-obogatenem kruhu nastaja pri cinku v sredici kruha, kjer so bile pri kruhu obogatenem s selenom določene enake koncentracije cinka, kot v zgornji skorji kruha (Batič, 2003).

4.2 KRUH Z DODATKOM BAKRA

Preglednica 13: Zatehta funkcionalnega dodatka, meritve nekaterih parametrov kruha obogatenga z bakrom in senzorična ocena

	kratka fermentacija	dolga fermentacija
	(1 Cu a)	(1 Cu b)
funkcionalni dodatek	3,18 g	3,18 g
T vode dodane testu	21,6 °C	3,3 °C
T testa po mesenju	27,6 °C	24,6 °C
masa testa	1016 g	1020 g
pH vrednost	5,13	5,12
prostornina kruha	1192,50 ml	1047,50 ml
senzorična ocena (točke: 1–5)	4,80	4,80

4.2.1 Senzorična ocena kruha z dodatkom bakra

Kruh obogaten z bakrom, kratke fermentacije (1 Cu a) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 4,8 – odlična kakovost. Kruh je bil enakomerne, svetle barve in lepe oblike. Skorja je bila enakomerna in lepo povezana (ni razpokala). Sredica kruha je bila nekoliko drobljiva. Luknjice sredice so bile nekoliko večje kot pri kruhu dolge fermentacije in nekoliko razpotegnjene navzgor. Kruh kratke fermentacije je bil po volumnu večji od kruha dolge fermentacije.

Kruh obogaten z bakrom, dolge fermentacije (1 Cu b) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 4,8 – odlična kakovost. Kruh je imel lepo, enakomerno, svetlo barvo in povezano, nerazpokano skorjo. Za razliko od kruha kratke fermentacije, se pri kruhu dolge fermentacije sredica ni drobila. Bila je kompaktna, z manjšimi luknjicami, a nekoliko lisasta. Aroma je bila za odtenek močnejša in nekoliko slankasta.

4.2.2 Razporeditev esencialnih elementov v kruhu, obogatenem z bakrom

Razporeditev esencialnih elementov cinka in bakra v kruhu obogatenem s funkcionalnim dodatkom – kvasno biomaso obogateno z bakrom imata elementa podoben trend padanja koncentracije kot pri ne-obogatenem kruhu.

Koncentracija cinka ostaja nespremenjena skoraj do prehoda v sredico kruha. Koncentracija bakra je opazno povečana v zgornji in stranski skorji, nekoliko nižja v spodnji skorji in pada proti sredici (Batič, 2003).

4.3 KRUH Z DODATKOM CINKA

Preglednica 14: Zatehta funkcionalnega dodatka, meritve nekaterih parametrov kruha obogatenga s cinkom in senzorična ocena

	kratka fermentacija	dolga fermentacija
	(1 Zn a)	(1 Zn b)
funkcionalni dodatek	16,71 g	16,71 g
T vode dodane testu	20,8 °C	2,6 °C
T testa po mesenju	27,6 °C	24,5 °C
masa testa	1034 g	1052 g
pH vrednost	4,89	4,83
prostornina kruha	1135,00 ml	1001,25 ml
senzorična ocena (točke: 1–5)	5,00	4,80

4.3.1 Senzorična ocena kruha z dodatkom cinka

Kruh obogaten s cinkom, kratke fermentacije (1 Zn a) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 5,0 – odlična kakovost.

Kruh obogaten s cinkom, dolge fermentacije (1 Zn b) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 4,8 – odlična kakovost. Skorja kruha je bila svetlejša od kruha kratke fermentacije in lepo povezana. Po volumnu je bil kruh nižji. Sredica kruha je bila lisasta in nekoliko bolj zbita. Kruh je imel nekoliko izrazitejšo aromo od kruha kratke fermentacije.

4.3.2 Razporeditev esencialnih elementov v kruhu, obogatenem s cinkom

Razporeditev esencialnih elementov cinka in bakra v kruhu obogatenem s funkcionalnim dodatkom – kvasno biomaso obogateno s cinkom imata elementa podoben trend padanja koncentracije kot pri ne-obogatenem kruhu in kruhu obogatenem z bakrom.

Tudi pri kruhu obogatenem s cinkom ostaja koncentracija cinka nespremenjena skoraj do prehoda v sredico kruha. Koncentracija bakra je višja v zgornji in stranski skorji, nekoliko nižja v spodnji skorji in pada proti sredici (Batič, 2003).

4.4 KRUH Z DODATKOM MEŠANICE SELENA, BAKRA IN CINKA

Preglednica 15: Zatehta funkcionalnega dodatka, meritve nekaterih parametrov kruha obogatenga z mešanico selena, bakra in cinka in senzorična ocena

	kratka fermentacija (1 Se+Cu+Zn a)	dolga fermentacija (1 Se+Cu+Zn b)
funkcionalni dodatek	1,83 g	1,83 g
T vode dodane testu	23,0 °C	3,7 °C
T testa po mesenju	28,7 °C	25,5 °C
masa testa	1014 g	1030 g
pH vrednost	5,15	5,13
prostornina kruha	1195,00 ml	1095,00 ml
senzorična ocena (točke: 1–5)	5,00	4,80

4.4.1 Senzorična ocena kruha z dodatkom mešanice selena, bakra in cinka

Kruh obogaten z mešanico selena, bakra in cinka, kratke fermentacije (1 Se+Cu+Zn a) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 5,0 – odlična kakovost. Kruh je bil po obliki enakomeren, barva skorje lepa, svetla, nerazpokana. Sredica kruha je bila enakomerno porozna in se ni drobila. Tekstura sredice je bila nežna, mehka, prijetna. Po volumnu se kruh kratke fermentacije skoraj ni razlikoval od kruha dolge fermentacije.

Kruh obogaten z mešanico selena, bakra in cinka, dolge fermentacije (1 Se+Cu+Zn b) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 4,8 – odlična kakovost. Tudi kruh dolge fermentacije je bil enakomerne oblike, z lepo, svetlo, povezano skorjo, ki ni razpokala. Sredica kruha je bila lisasta, vendar enakomerne teksture in prijetnega okusa.

4.4.2 Razporeditev esencialnih elementov v kruhu, obogatenem z mešanico selena, bakra in cinka

Esencialni elementi cink, baker in selen se v kruhu obogatenem z uporabo funkcionalnega dodatka obogatenga z vsemi tremi elementi (cink, baker, selen) razporejajo nekoliko drugače v primerjavi z razporejanjem pri obogatitvah s posameznim elementom. Iz rezultatov je razvidno, da ni izrazito padajočega gradienta elementov iz površine kruha (skorje) proti sredici. Razvidno je tudi, da dobimo v vseh treh primerih višje vrednosti esencialnih elementov v stranski skorji in ne v skorji na vrhu in spodaj kruha, kot je to pogost primer v obogatitvah kruha z enim esencialnim elementom. Koncentracijske vrednosti za cink, baker in selen v skorji na vrhu kruha in spodaj ter v sredici so primerljive. Izjema je le v primeru selena, ko je tudi v zgornji skorji kruha koncentracijsko primerljiva vrednost selena s stransko skorjo (Batič, 2003).

4.5 NEOBOGATEN KRUH

Preglednica 16: Meritve nekaterih parametrov ne-obogatenga kruha in senzorična ocena

	kratka fermentacija	dolga fermentacija
	(1 K a)	(1 K b)
T vode dodane testu	23,2 °C	3,5 °C
T testa po mesenju	29,5 °C	26,7 °C
masa testa	1016 g	1030 g
pH vrednost	5,25	5,21
prostornina kruha	1342,20 ml	1180,00 ml
senzorična ocena (točke: 1–5)	4,95	4,80

4.5.1 Senzorična ocena neobogatenga kruha

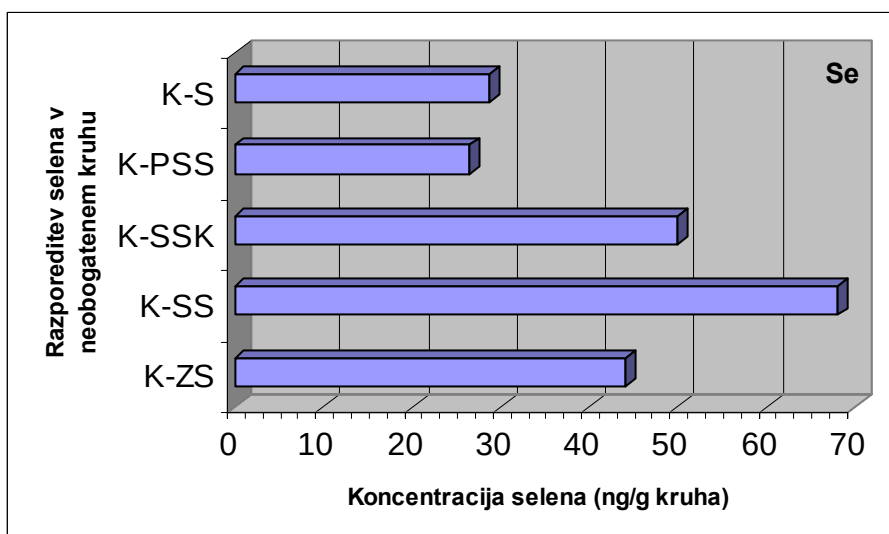
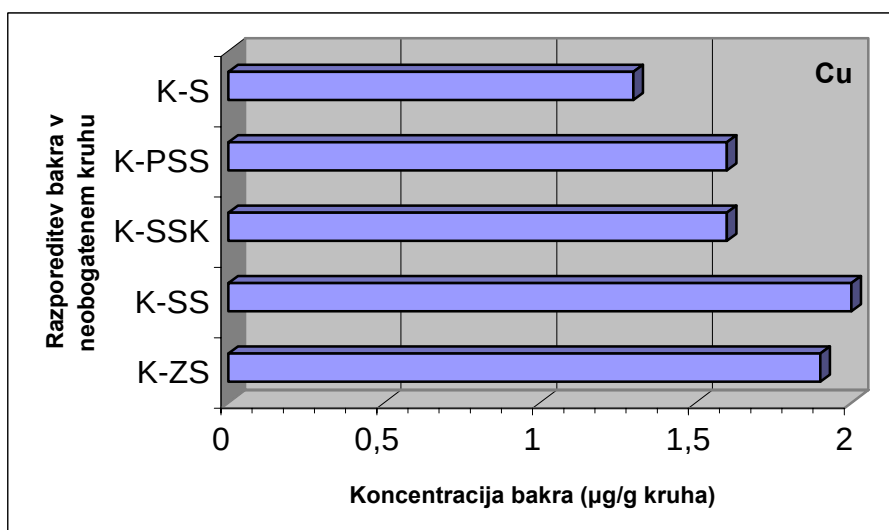
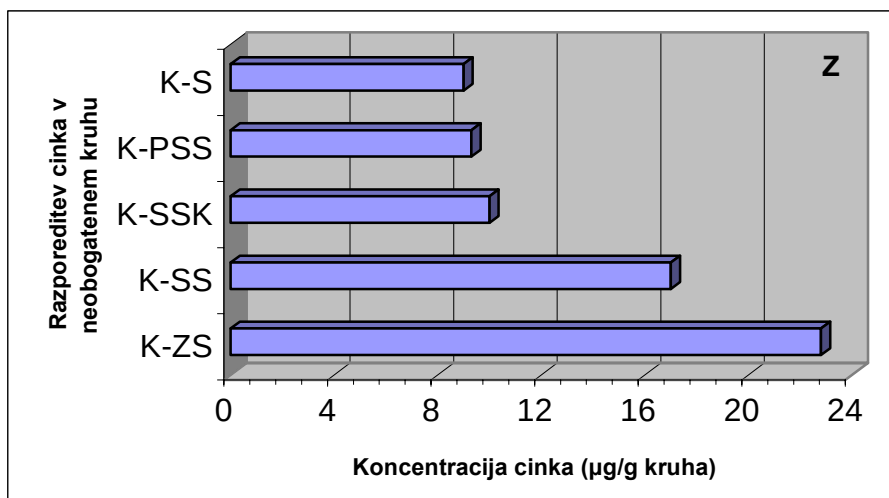
Neobogaten kruh, kratke fermentacije (1 K a) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 4,95 – odlična kakovost. Kruh je bil nekoliko temnejše barve in precej visok. Pri peki je iz modela močno silil navzgor, zato je dobil obliko podobno gobi. To se vidi tudi na prerezu, saj je imela sredica večje in navzgor potegnjene luknjice.

Neobogaten kruh, dolge fermentacije (1 K a) smo ocenili s končno oceno zelo dobro 4,8 – odlična kakovost. Kruh dolge fermentacije je bil za razliko od kruha kratke fermentacije po obliki bolj enakomeren in po barvi svetlejši.

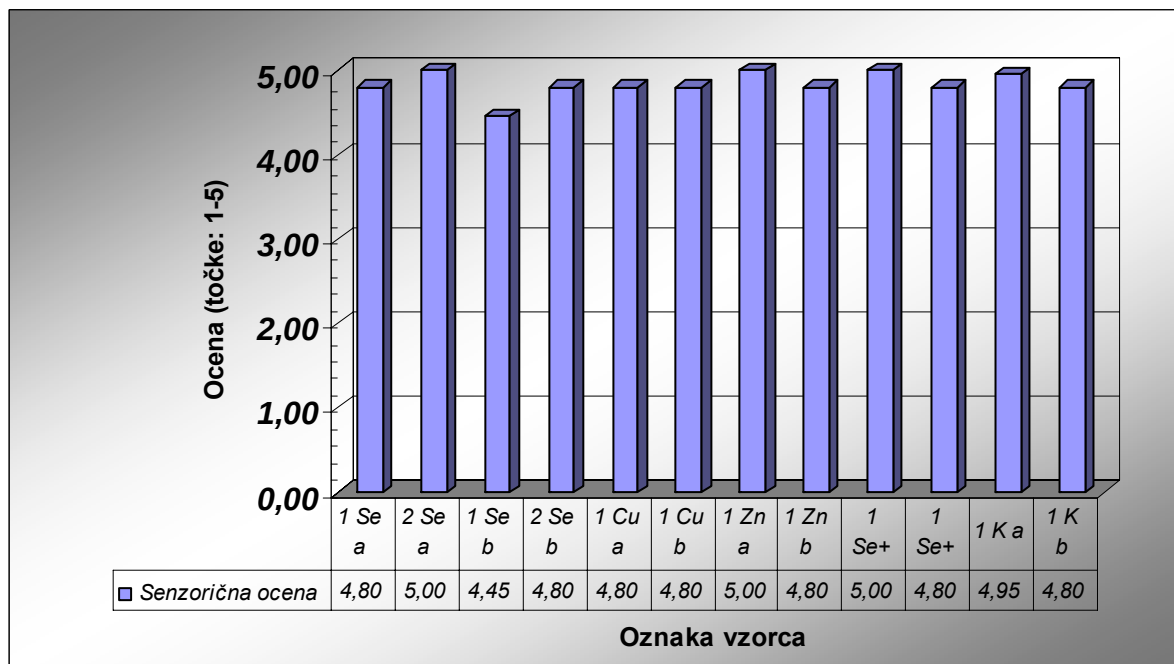
4.5.2 Razporeditev esencialnih elementov v neobogatenem kruhu

V primeru ne-obogatenga kruha se cink pojavlja v največjih koncentracijah na zgornji in spodnji površini skorje kruha. Od prehoda v sredico je njegova koncentracija enkrat manjša in se ne spreminja.

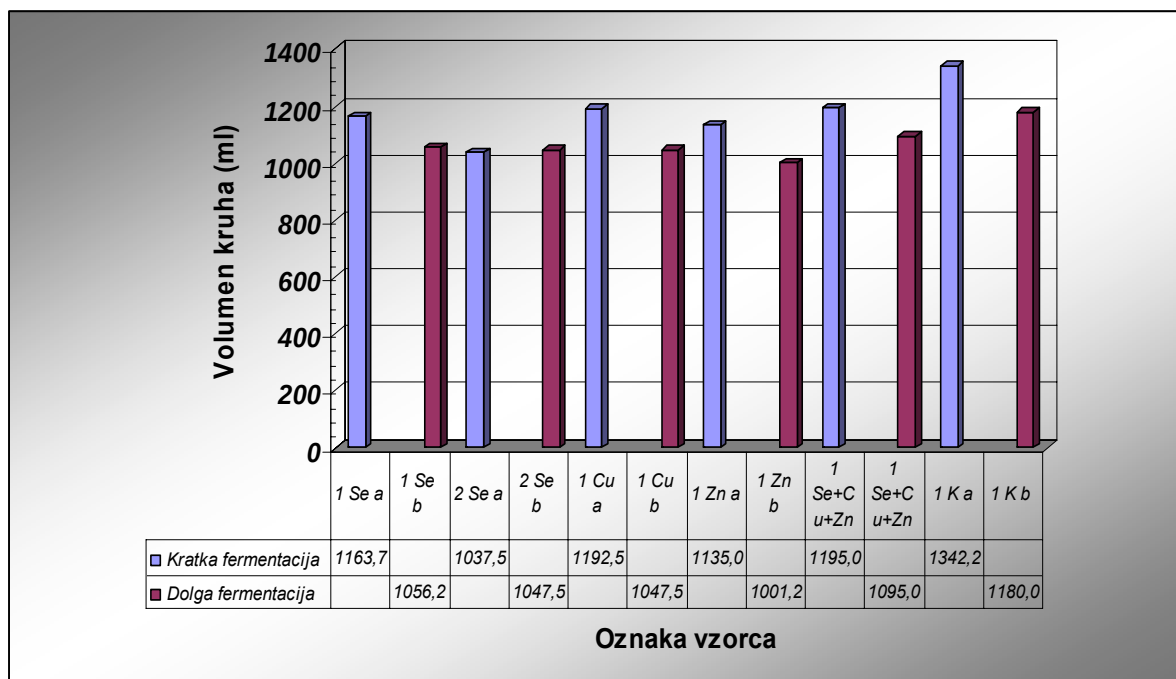
Baker in selen v ne-obogatenem kruhu sledita podobnemu trendu, vendar je opazna nekoliko večja koncentracija bakra in selena v spodnji skorji, ki nato pada proti sredici (Batič, 2003).



Slika 8: Razporeditev esencialnih elementov cinka, bakra in selena v neobogatenem kruhu (Batič, 2003).



Slika 9: Senzorična ocena mineralno obogatenih kruhov in kontrole.



Slika 10: Graf volumnov mineralno obogatenih kruhov in kontrole.

4.6 KONCENTRACIJE SELENA, BAKRA IN CINKA V KRUHU

Preglednica 17: Koncentracije selena, bakra in cinka, ki jih dnevno vnesemo v telo z zaužitjem vseh devetih obrokov neobogatenga kruha ali kruha, obogatenga s funkcionalnim dodatkom (Batič, 2003).

vrsta kruha	element obogatitve	povprečna vrednost zaužitega elementa v 9 rezinah kruha		
		Zn (mg/dan)	Cu (mg/dan)	Se (µg/dan)
brez obogatitve	/	3,5	0,4	11,1
obogaten	Se	2,4	0,5	48,4
	Cu	2,1	0,8	/
	Zn	4,1	1,1	/
	Se+Cu+Zn	3,7	0,5	69,5

Preglednica 17. podaja koncentracije selena, bakra in cinka, ki so bile izmerjene v naših vzorcih neobogatenga kruha, kruha obogatenga s posameznimi elementi in kruha z dodatkom vseh treh elementov. V takih koncentracijah so elementi zastopani, če zaužijemo 255 g kruha, pripravljenega pri našem poskusu. Piramida zdrave prehrane predpisuje 9 enot živil iz spodnjega dela piramide. V tem delu se nahajajo kruh, riž, krompir, testenine, žita in drugi žitni izdelki. Če vseh 9 enot nadomestimo s kruhom, to pomeni, da naj bi zaužili 255 g kruha na dan, kar je 93 kg kruha na leto. Ena enota v tem primeru predstavlja eno rezino, ki tehta 28,35 g. Kalorična vrednost teh devetih obrokov znaša približno 2200 kcal. V skupino, ki naj bi dosegla omenjen dnevni vnos, spadajo starejši otroci, dekleta in aktivne ženske ter moški.

Preglednica 18: Koncentracije selena, bakra in cinka, ki jih vnesemo v telo z zaužitjem ene rezine neobogatenga kruha ali ene rezine kruha, obogatenga s funkcionalnim dodatkom.

vrsta kruha	element obogatitve	povprečna vrednost zaužitega elementa v eni rezini kruha		
		Zn (mg/dan)	Cu (mg/dan)	Se (µg/dan)
brez obogatitve	/	0,389	0,044	1,23
obogaten	Se	0,627	0,056	5,38
	Cu	0,233	0,089	/
	Zn	0,455	0,122	/
	Se+Cu+Zn	0,411	0,056	7,72

V preglednici 18. so koncentracije selena, bakra in cinka v neobogatenem in v obogatenem kruhu preračunane na eno rezino. Ena rezina predstavlja 28,35 g kruha. Navadno vseh potreb iz spodnjega dela piramide ne zapolnimo le s kruhom, temveč tudi z drugimi živali iz te skupine. Tabela je podana za lažji izračun koncentracije elementov, če zaužijemo večje ali manjše število rezin kruha od devetih.

Preglednica 19: Koncentracije selena, bakra in cinka, ki jih dnevno vnesemo v telo z zaužitjem 6,7 rezin neobogatenga kruha ali 6,7 rezin kruha obogatenga s funkcionalnim dodatkom.

vrsta kruha	element obogatitve	povprečna vrednost zaužitega elementa v 6,7 rezinah kruha		
		Zn (mg/dan)	Cu (mg/dan)	Se (µg/dan)
brez obogatitve	/	2,6	0,3	8,24
obogaten	Se	1,8	0,4	36,0
	Cu	1,6	0,6	/
	Zn	3,0	0,8	/
	Se+Cu+Zn	2,7	0,4	51,7

Kruh in pekarski izdelki predstavljajo osnovna živila, ki jih dnevno vnašamo v telo. Po statističnih podatkih in podatkih poročil različnih slovenskih pekarn, porabimo Slovenci okrog 69,6 kg kruha in pekarskih izdelkov na prebivalca na leto. To je v primerjavi z drugimi evropskimi deželami razmeroma veliko. Po teh podatkih vsak Slovenec na dan zaužije približno 191 g kruha in pekarskih izdelkov. Če predstavlja ena rezina 28,35 g, zaužijemo približno 6,7 rezin kruha in pekarskih izdelkov. V preglednici 19. so podane koncentracije selena, bakra in cinka za 6,7 rezin neobogatenga kruha in za 6,7 rezin obogatenga kruha pripravljenega pri našem poskusu.

Preglednica 20: Koncentracije selena, bakra in cinka, ki jih dnevno vnesemo v telo z zaužitjem 4 rezin neobogatenga kruha ali 4 rezin kruha obogatenga s funkcionalnim dodatkom.

vrsta kruha	element obogatitve	povprečna vrednost zaužitega elementa v 4 rezinah kruha		
		Zn (mg/dan)	Cu (mg/dan)	Se (µg/dan)
brez obogatitve	/	1,56	0,17	4,92
obogaten	Se	1,07	0,20	21,52
	Cu	0,93	0,36	/
	Zn	1,82	0,49	/
	Se+Cu+Zn	1,64	0,22	30,9

V našem poskusu smo formulirali recepturo za obogatitev svežega kruha, brez pekarskih izdelkov. Po statističnih podatkih Slovenci porabimo povprečno 42 kg svežega kruha na prebivalca na leto. Ostalo predstavljajo pekarski izdelki, kot so različne žemljice, štručke, kajzerice in podobno. Teh porabimo okrog 28 kg na prebivalca na leto. Preglednica 20. podaja koncentracijo selena, bakra in cinka, če zaužijemo 4 rezine neobogatenga kruha ali obogatenga kruha, pripravljenega pri našem poskusu. Če Slovenci zaužijemo 42 kg svežega kruha na prebivalca na leto, je to približno 115 g svežega kruha na prebivalca na dan, kar predstavlja 4 rezine svežega kruha na prebivalca na dan. Ostalo količino živil iz spodnjega dela Piramide zdrave prehrane verjetno pokrijemo z drugimi živila iz te skupine in pekarskimi izdelki.

Preglednica 21: Odstotek pokritja potreb po mineralih, ki ga pokrijemo kruhom obogatenim s cinkom, z ozirom na podatke referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).

Zn (RV)	9,0 rezin		6,7 rezin		4,0 rezine	
	7 mg/dan	10 mg/dan	7 mg/dan	10 mg/dan	7 mg/dan	10 mg/dan
	ž	m	ž	m	ž	m
Kontrola	50 %	35 %	37 %	26 %	22 %	15 %
Zn	58 %	41 %	43 %	30 %	26 %	18 %
Cu	30 %	21 %	23 %	16 %	13 %	9 %
Se	34 %	24 %	26 %	18 %	15 %	11 %
Zn+Cu+Se	53 %	37 %	39 %	27 %	23 %	16 %

* ž: velja za ženske, * m: velja za moške

Preglednica 22: Odstotek pokritja potreb po mineralih, ki ga pokrijemo kruhom obogatenim z bakrom, z ozirom na podatke referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).

Cu (RV)	9,0 rezin	6,7 rezin	4,0 rezine
	1,0 – 1,5 mg/dan	1,0 – 1,5 mg/dan	1,0 – 1,5 mg/dan
Kontrola	40 – 27 %	30 – 20 %	17 – 11 %
Zn	110 – 73 %	80 – 53 %	49 – 33 %
Cu	80 – 53 %	60 – 40 %	36 – 24 %
Se	50 – 33 %	40 – 27 %	20 – 13 %
Zn+Cu+Se	50 – 33 %	40 – 27 %	20 – 13 %

Preglednica 23: Odstotek pokritja potreb po mineralih, ki ga pokrijemo kruhom obogatenim s selenom, z ozirom na podatke referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).

Se (RV)	9,0 rezin	6,7 rezin	4,0 rezine
	30-70µg/dan	30-70µg/dan	30-70µg/dan
Kontrola	37 - 16 %	27 - 12 %	16 - 7 %
Zn	/	/	/
Cu	/	/	/
Se	161 - 69 %	120 - 51 %	72 - 31 %
Zn+Cu+Se	232 - 99 %	172 - 74 %	103 - 44 %

Iz preglednic 21., 22. in 23., kjer so podatki za porabo 9 rezin kruha, je razvidno, da z uživanjem kruha brez obogatitve lahko ženske pokrijejo 50 % in moški 35 % dnevnih potreb po cinku, od 27 % - do 40 % potreb po bakru in od 16 % - do 37 % potreb po selenu. V primeru obogatitve kruha s kvasno biomaso obogateno s cinkom, lahko ženske v prehrani zadovoljijo 58 %, moški pa 41 % dnevnih potreb po cinku. Z obogatitvijo kruha s funkcionalnim dodatkom, obogatenim z bakrom, lahko zapolnimo od 53 % - do 80 % dnevnih potreb po bakru. Obogatitev s selenom pa zagotavlja od 69 % - do 161 % pokritje dnevnih potreb človeka po selenu. Uporaba obogatene kvasne biomase z vsemi tremi (selen, baker, cink) esencialnimi elementi v pripravi obogatenga kruha omogoča pokritje 53 % dnevnih potreb po cinku za ženske, 37 % dnevnih potreb po cinku za moške, od 33 % - do 50 % dnevnih potreb po bakru in od 99 % - do 232 % dnevnih potreb po selenu.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Z raziskovalnim delom smo hoteli na osnovi referenčnih vrednosti za vnos hranil, prehranske piramide, prehranskih tablic in porabe kruha na Slovence na leto, pripraviti funkcionalno živilo – kruh, z dobrimi senzoričnimi lastnostmi, s katerim bo možno pokriti med 25 – 50 % dnevnih potreb po esencialnih elementih selenu, bakru in cinku. Priprava novega žitnega izdelka je obsegala njegovo formulacijo, tehnološko pripravo in karakterizacijo.

Funkcionalno živilo – kruh, obogaten z esencialnimi elementi selenom, bakrom in cinkom, smo ovrednotili senzorično, izmerili smo koncentracijo selena, bakra in cinka v izdelku in ga ovrednotili glede na porazdelitev teh esencialnih elementov. Za boljšo karakterizacijo izdelka smo izmerili tudi pH-vrednost testa in volumen kruha.

5.1.1 Senzorična ocena

Pri senzoričnem ocenjevanju noben od kruhov ni dobil nižje ocene od 4,45, kar pomeni dobro oziroma rahel odklon od kakovosti. Večina kruhov je dobila oceno 4,8 – zelo dobro (odlična kakovost), kar trije pa so bili ocenjeni z najvišjo oceno 5,0. Povprečna ocena kruha z dodatkom selena je bila 4,76, kruha z dodatkom bakra 4,80, kruha z dodatkom cinka 4,90, kruha z dodatkom vseh treh elementov 4,90 in ne-obogatenga kruha 4,88 (Slika 9). Majhna odstopanja od odlične kakovosti so bila na račun rahle drobljivosti pri mazanju, nepopolne oblike, barve skorje, rahle zbitosti in lisavosti sredice ter razpokanosti skorje. Skorja je verjetno razpokala zato, ker se je testo prijelo na stene modela, nato pa v peči intenzivno vzhajalo. Ker se je iz modela hitro širilo in ker ni bilo dovolj elastično, je pri tem razpokalo. Na intenzivno vzhajanje kažejo tudi pore sredice, ki so večje in razpotegnjene navzgor. Lisavost sredice je verjetno nastala zato, ker smo testo med fermentacijo večkrat pregnetli (testo dolge fermentacije). Pri tem smo v testo vnesli moko, ki smo jo posuli po delovnem pultu.

Z merjenjem volumna smo ugotovili, da je imel kruh kratke fermentacije vselej večji volumen od kruha dolge fermentacije (Slika 10). Večji volumen in razpokana skorja kruha kratke fermentacije je lahko odvisna tudi od fermentacije ob začetku peke. Če izdelki pred peko slabo vzhajajo, je ponovno vzhajanje v peči premočno in skorja razpoka. Izdelki so previsoki in niso dovolj porozni. Skozi razpoke skorje izhajajo plini. Če pa je vzhajanje pred peko premočno, je ponovno vzhajanje v peči preslabo. Izdelki ostanejo nizki (Hrovat, 2000).

Pri kruhu dolge fermentacije smo opazili, da je imel v več primerih bolj poudarjeno aromo, kot kruh kratke fermentacije. Pri daljšem vzhajanju se tvori več snovi, ki vplivajo na končno aromo kruha.

Na osnovi senzorične ocene lahko zaključimo, da kruh, ki je bil obogaten z esencialnimi elementi selenom, bakrom in cinkom in njihovo kombinacijo, senzorično ne odstopa od kontrolnega vzorca – kruha brez obogatitve.

5.1.2 Koncentracije esencialnih elementov v kruhu

Referenčne vrednosti za vnos hranil priporočajo 7 mg dnevnega vnosa cinka za ženske in 10 mg cinka na dan za moške. Primeren vnos selena za odrasle dosežemo z vnosom med 30 – 70 µg na dan. Ocenjene vrednosti za primeren vnos bakra, pa so med 1,0 in 1,5 mg bakra na dan. V okviru raziskovalnega dela smo želeli z dodatkom obogatene kvasne biomase pokriti med 25 – 50 % dnevnih potreb po teh esencialnih elementih (Referenčne vrednosti..., 2004).

Vrednosti za pokritje potreb po mineralih iz preglednic 21., 22. in 23., veljajo pri zaužitju 9 rezin kruha, 6,7 rezin kruha ali 4 rezin kruha. Vrednosti za pokritje potreb po mineralih za 9 rezin kruha veljajo takrat, ko upoštevamo piramido zdrave prehrane. Vrednosti za pokritje potreb po mineralih za 6,7 rezin kruha veljajo takrat, kadar upoštevamo porabo kruha in pekarskih izdelkov. Vrednosti za pokritje potreb po mineralih za 4 rezine kruha pa veljajo takrat, kadar upoštevamo porabo svežega kruha.

Iz rezultatov v preglednicah 21., 22. in 23. za 9 rezin obogatene kruha lahko zaključimo, da smo v primeru priprave kruha, obogatene s cinkom, dosegli načrtovano 50 % vrednost referenčne vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004). V primeru bakra smo dosegli za 6 – 60 % višje vrednosti. V primeru selena, smo zastavljeni cilj presegli kar za 38 – 222 %. S kruhom, ki je bil pripravljen iz kvasne biomase obogatene z vsemi tremi elementi pokrijemo pri ženskah za 6 % več potreb po cinku, od želenih 50 % referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004), pri moških pa za 26 % premalo. V primeru bakra v celoti pokrijemo 50 % referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004), če želimo pokriti minimalne potrebe po bakru in za 33 % premalo, če želimo pokriti maksimalne potrebo po bakru. V primeru selena presegemo 50 % referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za 98 % - 363 %. Vse vrednosti se nanašajo na vnos vseh devetih rezin kruha.

Iz dobljenih rezultatov lahko zaključimo, da smo z 9 rezinami kruha na dan, zahtevo po pokritju 25 % - 50 % referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za selen, baker in cink v primeru cinka v celoti izpolnili, v primeru bakra izpolnili za pokritje minimalnih potreb in presegli za pokritje maksimalnih potreb in v primeru selena v obeh primerih močno presegli. Z uporabo kvasne biomase obogatene z vsemi tremi elementi, smo zahtevo v primeru cinka in bakra v celoti izpolnili, v primeru selena pa močno presegli.

Ker smo v primeru bakra in selena zastavljeni cilj za pokritje 50 % potreb po bakru in selenu močno presegli, lahko zaključimo, da bi bilo za pripravo funkcionalnega živila bolje uporabiti kvasno biomaso obogateno z vsemi tremi elementi. V tem primeru presegemo želeno vrednost le pri selenu. Ker priporočene vrednosti za pokritje potreb po selenu močno presegemo, bi bilo potrebno dodatek kvasne biomase obogatene s selenom v mešanici vseh treh biomas, vsaj za 3,6-krat zmanjšati. Na ta način bi lahko popolnoma zadostili zastavljenemu cilju po pokritju potreb po esencialnih elementih.

S 6,7 rezinami obogatene kruha na dan, smo zahtevo po pokritju 25 % - 50 % referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za selen, baker in cink v primeru cinka in bakra v celoti izpolnili, v primeru selena pa nekoliko presegli. Referenčne vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za vnos hranil predpisujejo med 30 in 70 µg selena na dan kot primeren. Ugotovljeno je bilo, da pri dlje trajajočem, medicinsko nadzorovanem dajanju odmerkov 200 do 400 µg selena na dan niso opazili nobenih toksičnih učinkov. Pri odraslih so opazili

znamenja kronične zastrupitve s selenom šele od dnevnega vnosa 800 µg selen naprej. To pomeni, da bi morali kar za 15-krat preseči predpisan primeren vnos selen, da bi bil ta toksičen. V našem primeru smo presegli najnižje vrednosti referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) le za 6 µg.

S 4 rezinami obogatene kruha na dan, smo zahtevo po pokritju 25 % - 50 % referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za selen, baker in cink v vseh treh primerih izpolnili.

S 4 rezinami kruha obogatene z vsemi tremi elementi, deloma zadostimo zahtevam po pokritju. V primeru cinka in bakra, so vrednosti nekoliko nižje od pričakovanih, v primeru selen, pa vrednosti minimalno presežemo.

Iz rezultatov lahko sklepam, da zastavljeni cilj najbolj izpolnimo z zaužitjem 4 rezin obogatene kruha s posameznim elementom na dan. Zadovoljivo pokrijemo potrebe po mineralih tudi s kvasno biomaso obogateno s kombinacijo vseh treh biomas, če zaužijemo 4 rezine obogatene kruha na dan. Koncentracijo elementov je potrebno le še nekoliko uravnati. Koncentraciji cinka in bakra bi bilo potrebno povečati, koncentracijo selen pa zmanjšati. Tu se pojavljajo odprte možnosti za dodatno formulacijo izdelka, ki bi jih bilo potrebno še preučiti.

5.2 SKLEPI

Senzorična ocena

Z raziskovalnim delom smo hoteli s tehnološkim procesom direktnega zamesa testa in peke kruha v modelih pripraviti žitni izdelek – kruh, ki bo hkrati predstavljal funkcionalno živilo in imel dobre senzorične lastnosti.

Na osnovi senzorične ocene lahko zaključimo, da kruh, ki je bil obogaten s kvasno biomaso z esencialnimi elementi selenom, bakrom in cinkom in njihovo kombinacijo, senzorično ne odstopa od kontrolnega vzorca – kruha brez obogatitve.

V raziskovalnem delu se je izkazalo celo, da smo na omenjen način pripravili kruh z zelo dobrimi senzoričnimi lastnostmi, kot funkcionalno živilo.

Volumen kruhov

Kruh kratke fermentacije je imel vselej večji volumen od kruha dolge fermentacije. To si lahko razložimo s hitrim vzhajanjem kruhov kratke fermentacije ob začetku peke (Slika 10).

Koncentracije esencialnih elementov v kruhu

Z raziskovalnim delom smo hoteli pripraviti žitni izdelek - kruh, s katerim bo možno pokriti od 25 % do 50 % referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) po esencialnih elementih selenu, bakru in cinku.

Na osnovi izmerjenih koncentracij selena, bakra in cinka v kruhu s pomočjo plamenske atomske absorpcijske spektroskopije in hidridne tehnike atomske fluorescenčne spektrometrije, lahko zaključimo:

• za 9 rezin obogatenga kruha (Piramida zdrave prehrane)

- V primeru priprave kruha obogatenga s cinkom, smo dosegli načrtovano 50 % vrednost referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).
- V primeru priprave kruha, obogatenga z bakrom, smo dosegli za 6 – 60 % višje vrednosti od 50 % vrednosti referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).
- V primeru priprave kruha obogatenga s selenom, smo dosegli za 38 – 222 % višje vrednosti od 50 % vrednosti referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).
- V primeru priprave kruha obogatenga z vsemi tremi elementi, smo načrtovano pokritje 50 % referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za cink za 6 % presegli, za baker v celoti izpolnili in za selen za 98 % - 363 % presegli.

• za 6,7 rezin obogatenga kruha (kruh + pekarski izdelki)

- V primeru priprave kruha obogatenga s cinkom, smo dosegli načrtovano 50 % vrednost referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).
- V primeru priprave kruha, obogatenga z bakrom, smo dosegli načrtovano 50 % vrednost referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).
- V primeru priprave kruha obogatenga s selenom, smo dosegli za 3 - 140 % višje vrednosti od 50 % vrednosti referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).

- V primeru priprave kruha obogatena z vsemi tremi elementi, smo načrtovano pokritje 50 % referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za cink in baker v celoti izpolnili, za selen za 47 % - 244 % presegli.

• **za 4 rezine obogatena kruha (svež kruh)**

- V primeru priprave kruha obogatena s cinkom, bakrom in selenom, ter v primeru priprave kruha z mešanico vseh treh elementov smo v vseh primerih izpolnili načrtovano 50 % vrednost referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004).

Iz koncentracij esencialnih elementov v obogatenem kruhu ugotavljamo, da 25 do 50 % potreb po selenu, bakru in cinku najbolj optimalno izpolnimo z zaužitjem štirih rezin obogatena kruha na dan. Ostale potrebe po esencialnih mineralih moramo pokriti z drugimi živil. Na ta način povečamo pestrost v prehrani in zagotovimo vnos tudi drugih mineralov.

Razporeditev esencialnih elementov v kruhu

Z raziskovalnim delom smo ugotovili, da so v kruhu, obogatenem s funkcionalnim dodatkom – kvasno biomaso, obogateno s selenom, bakrom in cinkom, koncentracije teh esencialnih elementov v skorji kruha v povprečju višje kot v sredici.

To pomeni, da v primeru funkcionalnega izdelka – kruha, uživanje skorje omogoča večje vnašanje esencialnega elementa s prehrano v telo, kot uživanje samo sredice kruha. Kruh v tem primeru postane funkcionalno živilo takrat, ko uživamo celega, tako skorjo, kot sredico.

6 POVZETEK

Funkcionalno živilo je živilo, ki ima poleg svoje naravne prehranske vrednosti ugoden vpliv na človekovo zdravje. Funkcionalno živilo pogosto vsebuje višje koncentracije biološko aktivnih sestavin. Ena izmed skupin hranilnih snovi, ki so esencialne za normalno delovanje človeškega telesa in zagotavljanje optimalnega zdravja organizma, so minerali. Minerale, kot so cink, baker in selen, mora človek v svoje telo vnašati dnevno z uravnoteženo prehrano. Vzdrževanje in zmanjševanje pomanjkanja esencialnega elementa je najlažje zapolniti z živilom, ki ima fiziološko dovolj velike in učinkovite koncentracije esencialnega elementa in se dovolj pogosto pojavlja v dnevnem obroku. Z našim raziskovalnim delom smo želeli pripraviti žitni izdelek – kruh, ki bo imel lastnosti funkcionalnega živila, s katerim bo možno pokriti med 25 % in 50 % dnevnih potreb po esencialnih elementih cinku, bakru in selenu in bo imel dobre senzorične lastnosti. Priprava novega žitnega izdelka je obsegala njegovo formulacijo, tehnološko pripravo in karakterizacijo. Pri formulaciji izdelka smo se oprli na referenčne vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za vnos hranil, prehransko piramido, prehranske tablice in na porabo kruha na Slovenca na leto. Z uporabo referenčnih vrednosti za vnos hranil, lahko oblikujemo izdelek na osnovi priporočenih dnevnih vnosov za posamezna hranila. Referenčne vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) za vnos hranil predpisujejo 7 mg cinka na dan za ženske in 10 mg cinka na dan za moške. Primeren vnos bakra dosežemo z 1,0 – 1,5 mg na dan, selena pa moramo zaužiti med 30 in 70 µg na dan. Prehranska piramida je tista, ki nam pove kakšna naj bi bila zastopanost posameznih skupin živil v prehrani. V Prehranski piramidi so žita in izdelki iz žit najbolj pogosto zastopani. Kruh je tisto živilo, za katerega je priporočljivo število devetih obrokov na dan. To velja za skupino, v katero so vključeni starejši otroci, dekleta in aktivne ženske ter moški. Kalorična vrednost vseh obrokov za to skupino znaša 2200 kcal. Tako znaša dnevna poraba kruha v tej skupini 255 g/dan, ob upoštevanju, da je en obrok kruha 28,35g (ena rezina). Iz prehranskih tablic razberemo kemijsko in energijsko sestavo posameznih sestavin. Za pripravo kruha je pomembna zastopanost mineralov v moki in kvasu. Tako moka kot kvas že vsebujeta nekaj selena, bakra in cinka, zato je potrebno zastopanost mineralov v teh dveh surovinah le še uravnati. Pomembno je, da smo za obogatitev z minerali izbrali kvasno biomaso, ker na ta način dobimo minerale vezane v organski obliki, ki so bolj izkoristljivi. Poraba kruha oziroma žitnih izdelkov na Slovenca na leto, nam da podatek o tem, koliko tega živila dejansko zaužijemo. Slovenci pojemo okrog 70 kg kruha in pekovskih izdelkov, kar je relativno veliko v primerjavi z drugimi evropskimi državami. Za tehnološko pripravo žitnega izdelka – kruha, smo uporabili tehnološki proces direktnega zamesa testa in peke kruha v modelih. Pripravljenim surovinam za zames testa, smo zatehtali funkcionalni dodatek - s cinkom, bakrom in selenom obogateno kvasno biomaso. Končni izdelek – kruh obogaten s funkcionalnim dodatkom, smo ovrednotili s senzorično oceno, izmerili smo koncentracijo esencialnega elementa v končnem izdelku in določili porazdelitev esencialnih elementov v kruhu. Na osnovi senzorične ocene lahko zaključimo, da kruh, ki je bil obogaten z esencialnimi elementi selenom, bakrom in cinkom in njihovo kombinacijo, senzorično ne odstopa od kontrolnega vzorca – kruha brez obogatitve. Iz koncentracij esencialnih elementov cinka, bakra in selena v obogatenem kruhu vidimo, da pri zaužitju 9 rezin obogatenga kruha najnižje vrednosti referenčnih vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) presežemo pri bakru in selenu, pri zaužitju 6,7 rezin obogatenga kruha najnižje vrednosti referenčne vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004) presežemo le pri selenu, pri zaužitju 4 rezin obogatenga kruha pa v nobenem primeru ne presežemo najnižjih in najvišjih vrednosti referenčnih

vrednosti (Referenčne vrednosti..., 2004). Najbolj optimalno, želeno kvoto po mineralih izpolnimo, z zaužitjem štirih rezin obogatene kruha na dan.

Iz rezultatov porazdelitve esencialnih elementov cinka, bakra in selena, pa je razvidno, da je splošni trend padanja koncentracije esencialnih elementov od površine kruha (skorje) proti sredici.

Pri raziskovalnem delu nam je uspelo pripraviti žitni izdelek – kruh z odličnimi senzoričnimi lastnostmi, s katerim lahko pokrijemo več kot 50 % dnevnih potreb po esencialnih elementih cinku, bakru in selenu, če zaužijemo celega (skorjo in sredico). Tako pripravljen izdelek lahko upravičeno štejemo med funkcionalna živila.

7 VIRI

- Barberá R., Farré R., Lagarda M. J. 2003. Copper: Properties and determination. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Oxford, Elsevier Science Ltd.: 1634-1639
- Barnett J.A., Payne R.W., Yarrow D. 2000. Yeasts: Characteristics and identification. 3rd ed. Cambridge, University Press: 420-421
- Batič M. 1999. Pozabljene prehranske žitarice. Mlinarstvo in pekarstvo, 3.,10: 4-8
- Batič M. 2000. Pekarski izdelki – funkcionalna živila. Mlinarstvo in pekarstvo, 4., 12: 17-22
- Batič M. 2003. Bioprosesi priprave »funkcionalnih dodatkov – živil. V: Zaključno poročilo o rezultatih opravljenega raziskovalnega dela na projektu ciljnega raziskovalnega programa (CRP V4-0402), Batič M. (nosilec projekta). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 1-20
- Batič M., Fujs Š., Milačič R., Stibilj V., Raspor P. 2003. Copper, zinc and selenium enrichment of fooder yeasts. V: Abstracts of the 14th International Congress of the Hungarian Society of Microbiology. Balatonfüred, Hungary, 9 – 11 October, 2003. Budapest, Hungarian Society of Microbiology: 1 str.
- Batič M., Fujs Š., Milačič R., Stibilj V., Raspor P. 2003. Yeast capacity for copper, zinc and selenium uptake. V: Abstract book: FEMS congress of European Microbiologists. Slovenija, Ljubljana, Cankarjev dom, 29. jun. – 3. jul. 2003. Avšič-Zupanc T. (ur.). Delft, FEMS: 363-363
- Batič M., Raspor P. 1994. Kvasna biomasa kot aditiv. V: Aditivi: dodatki-tehnologija-zdravje.16. Bitenčevi živilski dnevi in 1. simpozij živilcev, Bled, Slovenija, 9. in 10. junij 1994. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-33
- Batič M., Fujs Š., Raspor P. 2001. Accumulation of cooper and zinc in yeast biomass of *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida intermedia*. V: 10th European Congress on Biotechnology, Biotechnological Challenges in the New Millennium. Madrid, Spain, 8 – 10 July, 2001. Madrid, ECB: 1-4
- Batič M., Štupar J., Bayer K., Raspor P. 1996. Kvasna biomasa – vir mineralov. V: Tehnologija – Hrana – Zdravje: 1. slovenski kongres o hrani in prehrani z mednarodno udeležbo, Bled, 21-25 april. 1996. Raspor P., Pitako D., Hočevar I. (ur.). Ljubljana Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: 183-191
- Blackwell K.J., Singleton I., Tobin J. M. 1995. Metal cation uptake by yeast: a review. Applied Microbiology and Biotechnology, 43: 579-584

Collado-Fernández M. 2003. Bread: Breadmaking processes. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Oxford, Elsevier Science Ltd.: 627-638

Combs G. F., 2003. Selenium: Properties and determination. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Oxford, Elsevier Science Ltd.: 5111-5117

Comino A., Smole-Možina S. 1996. Specifične metode genske tehnologije pri kvasovkah. V: Biotehnologija. Osnovna znanja. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 259-273

Elmadfa I., Leitzmann C. 1998. Ernährung des Menschen. 3. Aufl. Stuttgart (Hohenheim), Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co.:201-259

Foster L.H., Sumar S. 1997. Selenium in health and disease: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 37, 3: 211-228

Fujs Š., Batič M., Milačič R., Raspor P. 2001. Uptake of zinc and cooper in yeast *Kluyveromyces marxianus* and *Candida utilis*. V: Book of abstracts: 4th Meeting of the Slovenian Biochemical Society with international participation. Kranjska Gora, 13 – 15 September, 2001. Ljubljana, Slovenian Biochemical Society : 109-109

Holland B., Welch A.A., Unwin I.D., Buss D.H., Paul A.A., Southgate D.A.T. 1992. McCance and Widdowson's the composition of foods. 5th revised and extended ed. Cambridge, The Royal Society of Chemistry : Ministry of Agriculture, Fisheries and Food: 1-39

Hrovat M. 2000. Tehnološke osnove proizvodnje kruha. 1. izdaja. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 5-32

Hughes N. M., Poole R. K. 1991. Metal speciation and microbial growth-thehard (and soft) facts. Journal of General Microbiology, 137: 725-734

Johnson M.A., 2003. Copper: Physiology. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Oxford, Elsevier Science Ltd.: 1640-1647

Kaić-Rak A., Antić K. 1990. Tablice o sastavu namirnica i pića. Zagreb, Zavod za zaštitu zdravlja SR Hrvatske: 36-41

Krauter P., Martinelli R., Williams K., Martins S. 1996. Removal of Cr (VI) from ground water by *Saccharomyces cerevisiae*. Biodegradation, 7: 277-286

Kulier I. 1996. Standardne euro tablice kemijskog sastava namirnica. Zagreb, Hrvatski farmer d.d.: 175-204

Kupta K., Jain V., Jain S., Dhawan K., Talwar G. 2003. Analysis of food V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Oxford, Elsevier Science Ltd.: 206-214

Marić V., Zechner-Krpan V. 2001. Microbial technology and functional foods. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi '01, Portorož, 8-9 nov. 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 181-191

Paš M. 2001. Minerali v funkcionalnem prehranjevanju. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi '01, Portorož, 8-9 nov. 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67-78

Paš M., Batič M., Raspor P. 1997. Vpliv cinkovih ionov na rast kvasovk *Saccharomyces cerevisiae*. V: Tehnologija – Hrana – Zdravje. 1. slovenski kongres o hrani in prehrani z mednarodno udeležbo, Bled, 21-25 april. 1996. Raspor P., Pitako D., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: 204-207

Plestenjak A., Požrl T. 2001. Funkcionalna živila iz žit. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi '01, Portorož, 8-9 nov. 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 25-36

Pokorn D. 2004. Dietna prehrana bolnika. Ljubljana, Založba Marbona: 47-61

Raspor P. 1996. Kvasovke. V: Biotehnologija. Osnovna znanja. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 70-90

Raspor P., Rogelj I. 2001. Funkcionalna hrana - definicije. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi '01, Portorož, 8-9 nov. 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 25-36

Recommended dietary allowances. 1989. 10th ed. Washington, National Academy Press: 6-225

Referenčne vrednosti za vnos hranil. 2004. 1. izdaja v slovenskem jeziku. Ljubljana, Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: 5-207

Ruz M. 2003. Zinc: Properties and determination. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Oxford, Elsevier Science Ltd.: 6267-9272

Souci S.W., Fachmann W., Kraut H., Scherz H., Senser F. 2000. Food composition and nutrition tables = Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert-Tabellen = La composition des aliments tableaux des valeurs nutritives. 6th rev. and completed ed.. Stuttgart, Medpharm Scientific Publishers: 584-613

Sedj L. 1997. 146.000 ton pekarskih izdelkov. Mlinarstvo in pekarstvo, 1, 1: 17-22

Skoog D.A., Douglas A. 2004. Fundamentals of analytical chemistry. 8th ed., Belmont, Thomson-Books: Cole: 858-864

Solomons N.W. 2003. Zinc: Physiology. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Oxford, Elsevier Science Ltd.: 6272-6283

Statistični letopis Republike Slovenije: Izbor industrijskih proizvodov po standardni klasifikacijski dejavnosti: Svež kruh. 2000. Statistični letopis - Republike Slovenije, 39: 314-314

Statistični letopis Republike Slovenije: Količinska proizvodnja izbranih industrijskih proizvodov: Svež kruh. 2004. Statistični letopis - Republike Slovenije, 43: 339

Thomson C.D., 2003. Selenium: Physiology. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Oxford, Elsevier Science Ltd.: 5117-5124

Ulrich N. 2003. Spectroscopy: Atomic emission and absorption. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Oxford, Elsevier Science Ltd.: 5444-5445

Volesky B., May-Phillips H. A, 1995. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*. Applied Microbiology and Biotechnology, 42: 797-806

Zavašnik V., Batič M., Štupar J., Raspor P. 1997. Vezava mineralov s kvasno biomaso. V: Tehnologija – Hrana – Zdravje. 1. slovenski kongres o hrani in prehrani z mednarodno udeležbo, Bled, 21-25 april. 1996. Raspor P., Pitako D., Hočevar I. (ur.). Ljubljana, Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: 119-203

Žitna skupnost – GIZ, Združenje pekov Ljubljana. 2000. Mlinarstvo in pekarstvo, 4., 14: 15-19

Poročilo pekarnе Grosuplje. 2001. Grosuplje, Pekarna grosuplje
<http://www.pekarna-grosuplje.si/Documents/Porocilo2001.pdf> (2001). (december 2005): 25 str.

ZAHVALA

Za izdatno pomoč pri diplomskem delu se zahvaljujem mentorju doc. dr. Andreju Plestenjaku, recenzentu doc. dr. Martinu Batiču, Mariji Simončič in mag. Tomažu Požrlu.

Zahvaljujem se vsem, ki so sodelovali pri projektu V4-0402.

Barbari Slemenik in Ivici Hočevar hvala, za izčrpno iskanje literature, Katji Černe pa hvala za nešteto fotokopij in moralno podporo.

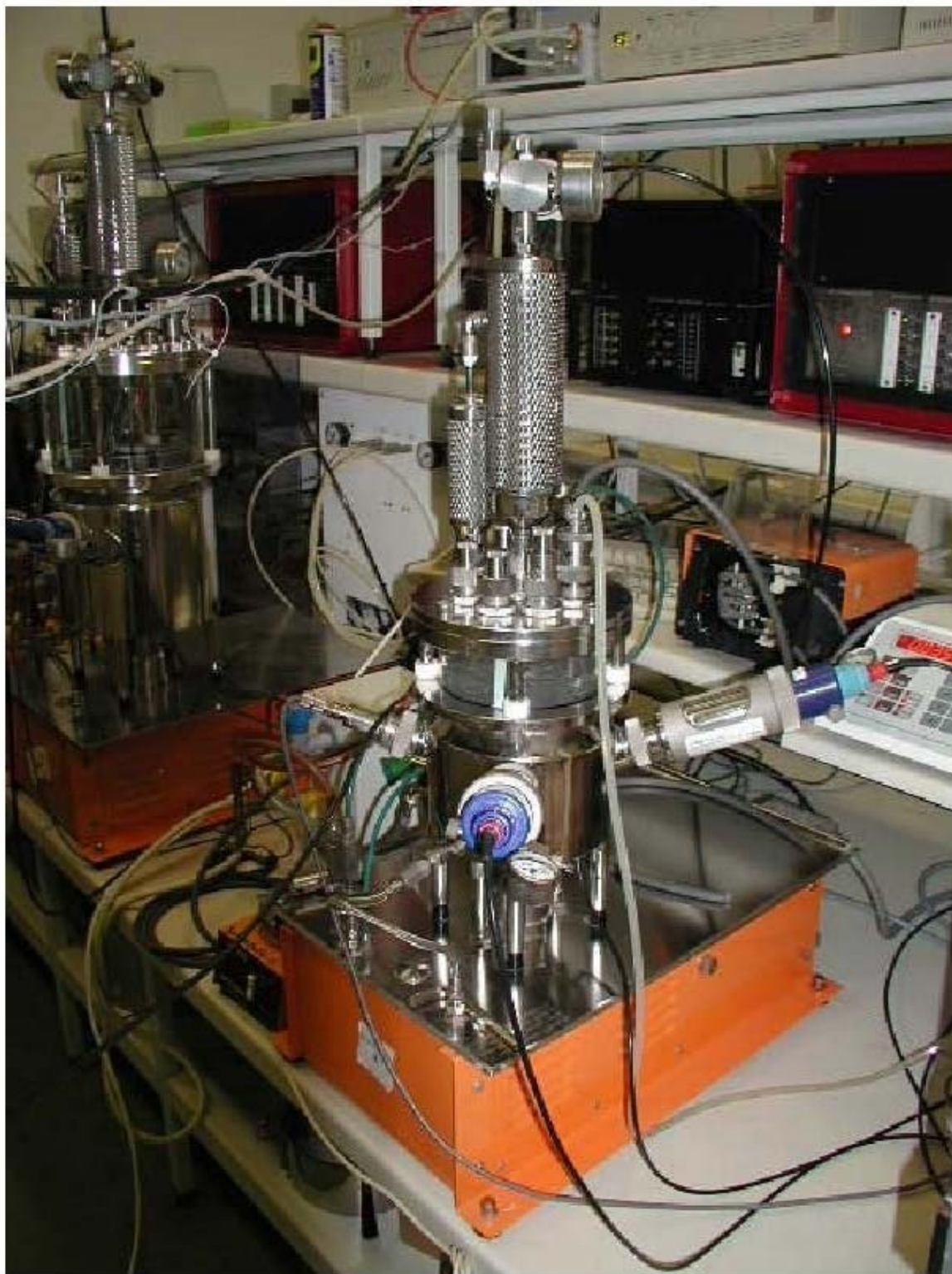
Hvala mojim staršem in sestram, za brezpogojno podporo pri študiju in za to, da še niso obupali nad mano.

Hvala tudi vsem mojim prijateljem, da so mi stali ob strani in me spodbujali.

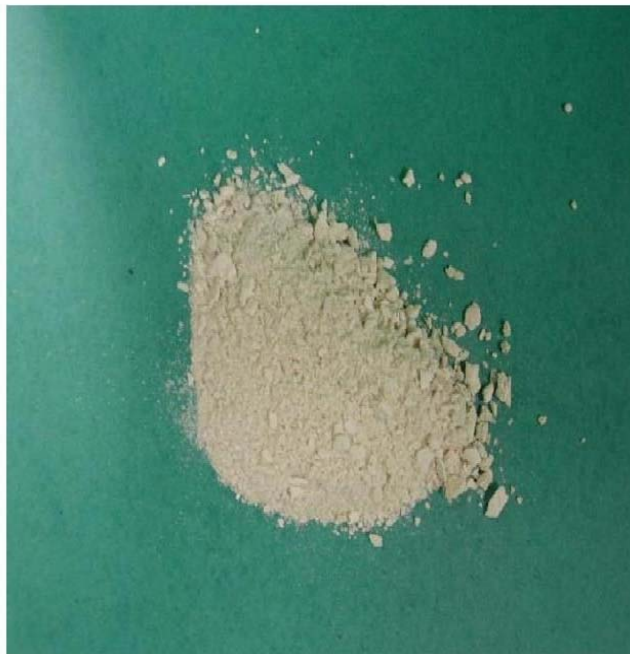
Hvala Mili !

PRILOGE

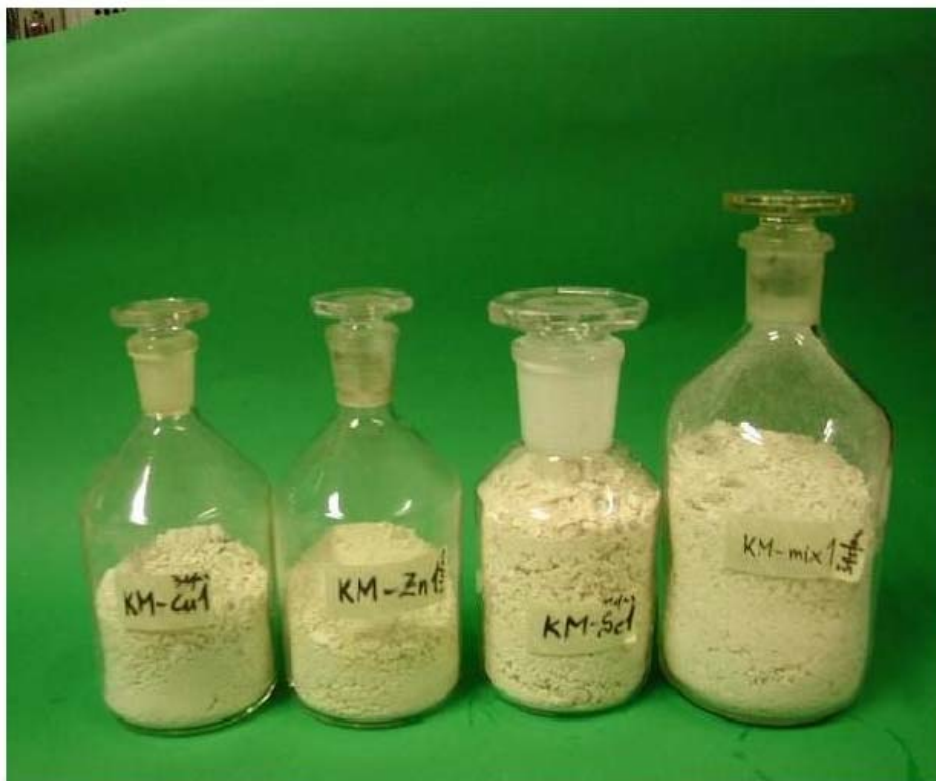
Priloga A1: Bioreaktor za proizvodnjo funkcionalnega dodatka – kvasne biomase obogatena s cinkom, bakrom in selenom



Priloga A2: Funkcionalni dodatek – obogatena kvasna biomasa z esencialnim cinkom, bakrom in selenom.



Priloga A3: Liofiliziran funkcionalni dodatek – obogatena kvasna biomasa z esencialnim cinkom, bakrom in selenom pripravljena za dodajanje v testo za pripravo obogatenga kruha.



Priloga B1: Zames testa – za pripravo funkcionalnega izdelka – kruha.



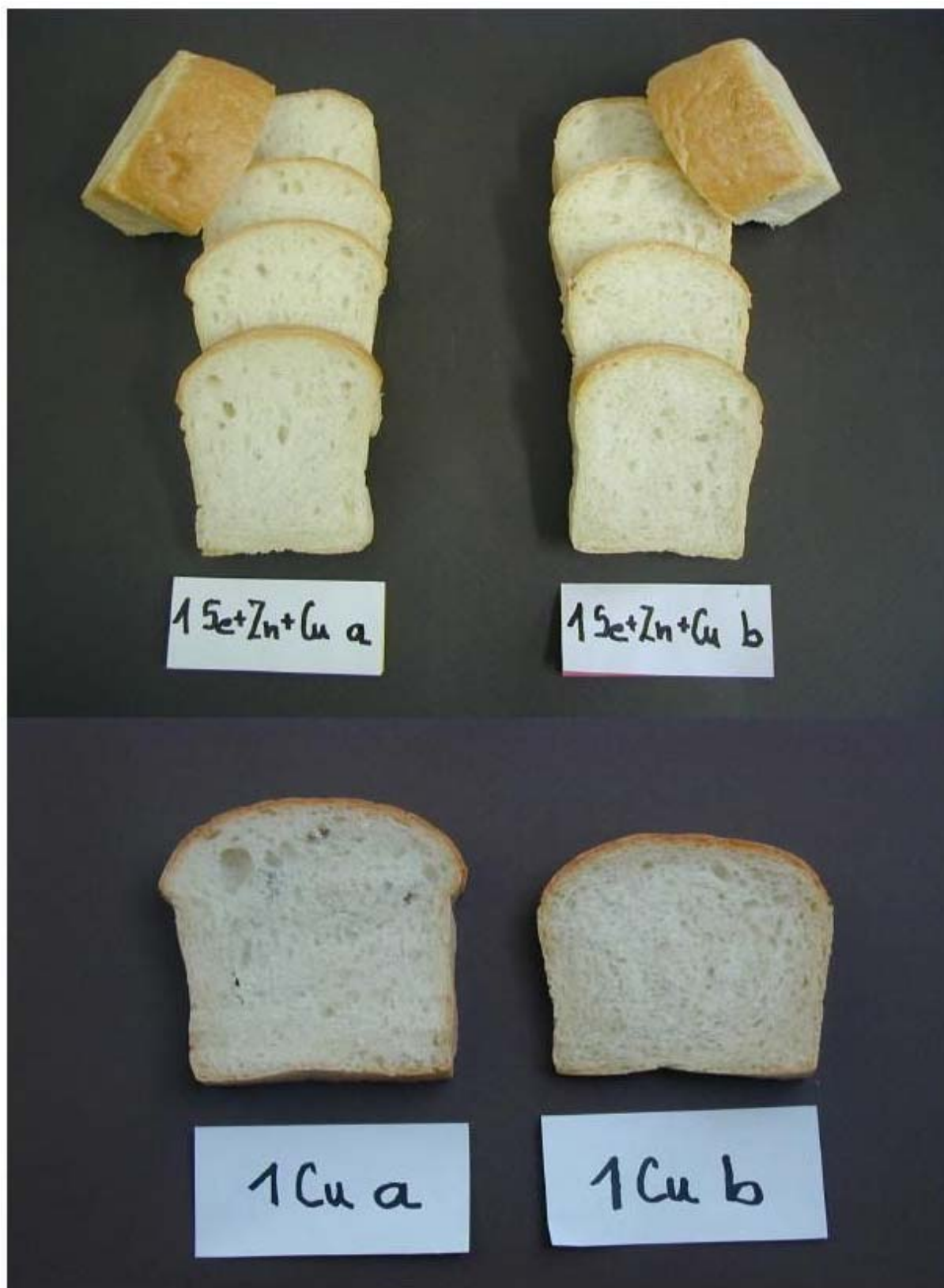
Priloga B2: Vzhajanje testa – za pripravo funkcionalnega izdelka – kruha.



Priloga B3: Funkcionalni izdelek – kruh pripravljen s kvasno biomaso obogateno s cinkom, bakrom in selenom.



Priloga C1: Prerez funkcionalnega izdelka – kruha pripravljenega s kvasno biomaso obogateno s cinkom, bakrom in selenom.



Priloga C2: Razrez funkcionalnega izdelka – kruha pripravljenega s kvasno biomaso obogateno s cinkom, bakrom in selenom na osnovi mreže za določanje razporeditve esencialnih elementov.



Priloga D1: Ocenjevalni list (Žitna skupnost – GIZ, Združenje pekov Ljubljana).

OCENJEVANJE KRUHA		ŽS Združenje pekov																						
Oznaka izdelka :		Končna ocena				Kakovostna oznaka				Splošne lastnosti		FAKTOR POMEMB- NOSTI (PONDER)		OCENA KAKOVOSTI										
		4,70-5,00 4,25-4,69 4,00-4,24 pod 4,00				zelo dobro dobro zadovoljivo potrebno izboljšave				odlična kakovost rahlal odklon od visoke kakovosti opazen odklon od kakovosti pomembne napake														
Številka izdelka :																								
Datum ocenjevanja :																								
1. OBLIKA, VIDEZ																								
101	nepravilna oblika	4	-	-	-	108	slabo ločeni krajčki	4	-	-	-	115	gudice škroba vp	4	-	-	122	nečista spodnja stran	4	3	2	1	0	
102	sploščena oblika	4	-	-	-	109	nečista površina	4	-	-	-	116	ostanki stare moke	4	-	-	-	123	zvrte rezine R	4	3	2	1	0
103	kroglasta oblika	4	-	-	-	110	neznačilni rezi	4	-	-	-	117	več napak, razpok	4	3	-	-	124	neen. velikost rezin R	4	3	2	1	0
104	nepolna oblika M	4	-	-	-	111	neenakomeren posip	4	-	-	-	118	nagub. spod. stran	4	-	-	-	125	neen. debelina rezin R	4	3	2	1	0
105	vbočena oblika M	4	-	-	-	112	preveč posipa	4	-	-	-	119	vbočena spod. stran	4	-	-	-	126	druge pomanjkljiv. **	4	3	2	1	0
106	vdrti zg. površina M	4	-	-	-	113	neenakom. pomokan	4	-	-	-	120	široka spodnja stran	4	-	-	-	127	ni za ocenitev **	4	3	2	1	0
107	slabo ločene strani	4	-	-	-	114	preveč pomokan	4	-	-	-	121	razlez. spod. stran	4	-	-	-	-	-	4	3	2	1	0
2. IZGLED IN LASTNOSTI SKORJE																								
201	neen. obarvana skorja	4	-	-	-	206	mehurji temnejši	4	-	-	-	211	počena skorja trans.	4	-	-	-	215	debel skorja	4	3	2	1	0
202	presvetla barva	4	-	-	-	207	pikasti mad. (kond.)	4	-	-	-	212	oluščena skorja	4	-	-	-	216	zažgana skorja	4	3	2	1	0
203	pretamna barva	4	-	-	-	208	zažgani deli, gube	4	-	-	-	213	neen. debela skorja	4	-	-	-	217	druge pomanjkljiv. **	4	3	2	1	0
204	zamočla barva	4	-	-	-	209	nezna. razpok. skorja	4	-	-	-	214	tanka skorja	4	-	-	-	218	ni za ocenitev **	4	3	2	1	0
205	slabo peč. str. skorja	4	-	-	-	210	nagubana skorja	4	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	4	3	2	1	0
3. IZGLED SREDICE																								
301	preveč neen. poroz.	4	-	-	-	307	vodni obroči	4	3	-	-	313	nezaklejena zna	4	-	-	-	318	semena plevla	4	3	2	1	0
302	zbita poroznost	4	3	-	-	308	vodne črte	4	3	-	-	314	surova sredica	4	-	-	-	319	neenakomerna barva	4	3	2	1	0
303	groba poroznost	4	-	-	-	309	velike luknje	4	-	-	-	315	ostanki olja od rez.	4	-	-	-	320	nepravilna barva	4	3	2	1	0
304	neznačilna poroznost	4	-	-	-	310	razpoke v sredici	4	-	-	-	316	delčki skorje pri R	4	-	-	-	321	druge pomanjkljiv. **	4	3	2	1	0
305	goste pore na robu	4	-	-	-	311	odstop skorje/sredice	4	-	-	-	317	lise	4	-	-	-	322	ni za ocenitev **	4	3	2	1	0
306	vodni obr. pod skor.	4	3	-	-	312	meh. pošk. pod skorjo	4	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	4	3	2	1	0
4. STRUKTURA IN PROŽNOST																								
401	grobiljiva sredica	4	-	-	-	405	neen. pražen toast	4	-	-	-	409	popečen trd toast	4	-	-	-	413	lepljiva sredica	4	3	2	1	0
402	slabo ločljive rezine	4	-	-	-	406	presvetlo pražen toast	4	-	-	-	410	slaba prožnost	4	3	2	-	414	slabo topljiva sredica	4	3	2	1	0
403	slaba povezanost	4	-	-	-	407	pretamno pražen toast	4	-	-	-	411	suha sredica	4	-	-	-	415	druge pomanjkljiv. **	4	3	2	1	0
404	grobiljivost pri maz.	4	-	-	-	408	žilav	4	-	-	-	412	trda čvrsta sredica	4	-	-	-	416	ni za oceno **	4	3	2	1	0
5. VONJ, OKUS																								
501	premalo izraz. aroma	4	-	-	-	507	grenko kisel	4	3	2*	-	513	pekoč	4	-	-	-	519	tuj okus **	4	3	2	1	0
502	slabo kisl. aroma	4	3	-	-	508	tuja neznačilna kislina	4	-	-	1*	514	po kvasu	4	3	-	-	520	okus po vrenju	4	3	2	1	0
503	premalo slana aroma	4	-	-	-	509	slan	4	3*	-	-	515	po starem testu	4	3	-	-	521	žarek	4	3	2	1	0
504	lepljiv, testast	4	3	2	-	510	sladek	4	-	-	-	516	stranski vonj	4	3	-	-	522	zatohel, plesniv okus	4	3	2	1	0
505	okus ni zaokrožen	4	-	-	-	511	grenak	4	3	-	-	517	tuj vonj	4	-	-	-	523	druge pomanjkljiv. **	4	3	2	1	0
506	kisel	4	3	2*	-	512	preveč začinjen	4	3	-	-	518	priokus	4	3	-	-	524	ni za ocenjevanje **	4	3	2	1	0
- pri ocenjevanju z različnim številom točk ene lastnosti se za nadaljnj izračun upošteva najnižja ocena - če pri ocenjevanju neke lastnosti ocenimo vzorec kruha večkrat z istim številom točk se za nadaljnj izračun upošteva naslednja nižja ocena - kot predpogoj za nagrado je potrebno, da nobena lastnost ni ocenjena z manj kot 3 točkami - M - kruh iz modela - R - rezine kruha * - pisna obrazložitev																								
Pisna obrazložitev:										VSOTA OCEN						KONČNA OCENA								
										20														
Podpis ocenjevalcev :																								

Priloga E1: A test št.: 177 za moko tipa 500.

ZITO Intes d.d.
Meljska 19, Maribor
DE MLIN LJUBLJANA

ATEST št.: 177 datum: **01/07/03**

proizvod: **MOKA T500**

dat.proizvodnje: **30/05/03**
Upor. najmanj do: **30/05/03**
štev.lab.izvida: **1933**

vlaga 14.56 %
pepel 0.502 %
kisl.stopnja 2.1

vlažni lepek 28.2 %
GQI 81
suhi lepek 9.2 %

FARINOGRAM

vpij. vode 55.8 %
razvoj 5.8 min
stabilnost 8.1 min
stop. zmešč. 26/ 55 FE
kvalit. št. 108

EKSTENZOGRAM

energ. razt. 75.00 cm2
raztezanje 137 mm
odpor. razt. 336 EE
O/R 2.50
max. odpor 384 EE

FN / LN

FN 474
LN 0.0

Organoleptika : USTREZA

ž i g:

podpis: