

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Irena KURENT

**VPLIV TEHNOLOŠKIH POSTOPKOV NA  
VSEBNOST FITINSKE KISLINE V RAZLIČNIH  
VRSTAH KRUHA**

MAGISTRSKO DELO

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Irena KURENT

**VPLIV TEHNOLOŠKIH POSTOPKOV NA VSEBNOST FITINSKE  
KISLINE V RAZLIČNIH VRSTAH KRUHA**

MAGISTRSKO DELO

**INFLUENCE OF PROCESSING ON PHYTIC ACID CONTENT IN  
DIFFERENT TYPES OF BREAD**

M. SC. THESIS

Ljubljana, 2016

Popravki:

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete z dne 28.09.2015 je bilo potrjeno, da kandidatka izpolnjuje pogoje za magistrski Podiplomski študij s področja živilstva ter opravljanje magisterija znanosti.

Za mentorja je bil imenovan doc. dr. Tomaž Požrl in za somentorico prof. dr. Terezija Golob.

Magistrsko delo je bilo opravljeno na Katedri za tehnologije, prehrano in vino, Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Mentor: doc. dr. Tomaž POŽRL

Somentorica: prof. dr. Terezija GOLOB

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Rajko VIDRIH  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Članica: doc. dr. Mojca KOROŠEC  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Član: prof. dr. Franc ČUŠ  
Kmetijski inštitut Slovenije

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je magistrsko delo rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Irena KURENT

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Md  
DK UDK 664.6:641.1:543.635(043)=163.6  
KG pekovski izdelki/moka/vrsta moke/tehnološki postopek/kruh/kislo testo/fitinska kislina  
AV KURENT, Irena, univ. dipl. inž. živ. tehnol.  
SA POŽRL, Tomaž (mentor) / GOLOB, Terezija (somentorica)  
KZ SI-1000 LJUBLJANA, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij živilstva  
LI 2016  
IN VPLIV TEHNOLOŠKIH POSTOPKOV NA VSEBNOST FITINSKE KISLINE V RAZLIČNIH VRSTAH KRUHA  
TD Magistrsko delo  
OP IX, 64 str., 14 pregl., 6 sl., 95 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI Prehransko pozitivne učinke pekovskih izdelkov lahko zmanjša FK, ki veže minerale v netopne komplekse in zmanjšuje njihovo razpoložljivost v prebavilih. Cilj naloge je bilo ugotoviti, kako različni tipi moke in različni tehnološki postopki izdelave kruha vplivajo na vsebnost FK v kruhu. Izdelali smo kruh iz pšenične bele moke (tip 500), pšenične črne moke (tip 1100) in pšenične polnozrnate moke s postopkom direktnega zamesa (temperatura fermentacije 20 °C in 30 °C), s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo (fermentacija 6 ur, peka kruha po 3 in 6 urah fermentacije) in s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa (5 % in 10 % dodatka kislega testa). Vzorčili smo v različnih fazah; vzorčili smo testo takoj po zamesu in po končani fermentaciji, po peki pa smo ločeno vzorčili sredico in skorjo kruha. Izmerili smo vsebnost suhe snovi, pH vrednost in vsebnost FK. Rezultate smo statistično obdelali. V mokah smo največjo vsebnost FK izmerili v polnozrnati moki (0,95 g/100 g suhe snovi) in najmanjšo v moki tip 500 (0,58 g/100 g suhe snovi). Pri vseh postopkih izdelave kruha in vseh treh vrstah moke smo najmanjšo vsebnost s.s. izmerili v testu takoj po zamesu, največjo pa v skorji kruha, medtem ko smo največjo vrednost pH in vsebnost FK izmerili v testu takoj po zamesu, najmanjšo pa v skorji kruha. Vsebnost FK se je pri vseh treh postopkih izdelave kruha statistično značilno zmanjševala v vsaki fazi izdelave kruha. Vrednost pH in vsebnost FK je bila značilno največja v vzorcih iz polnozrnate moke, najmanjšo vrednost pH in vsebnost FK pa smo izmerili v vzorcih iz bele moke, ne glede na postopek izdelave kruha. Največjo vsebnost FK (0,95 g/100 g suhe snovi) smo izmerili v testu iz polnozrnate moke takoj po zamesu. V testu iz bele moke z dodatkom 10 % kislega testa po fermentaciji, v sredici in skorji kruha iz istega testa ter sredici in skorji kruha iz črne moke z dodatkom 10 % kislega testa, pa FK nismo izmerili. Najintenzivnejšo razgradnjo FK smo izmerili pri kruhu z 10 % dodatkom kislega testa, na intenziteto zmanjševanja vsebnosti FK med procesom izdelave kruha pa je pomembno vplival tudi čas fermentacije. Pri vseh treh postopkih zamesa smo potrdili zelo podobne močne in statistično značilne pozitivne korelacije med vsebnostjo FK in pH vrednostjo. Ne glede na tehnološki postopek izdelave kruha oz. vrsto moke smo večjo vsebnost FK izmerili v sredici kot v skorji kruha.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Md  
DC UDC 664.6:641.1:543.635(043)=163.6  
CX bakery products/flour/flour types/breadmaking procedures/bread/  
sourdough/phytic acid  
AU KURENT, Irena  
AA POŽRL, Tomaž (supervisor) / GOLOB, Terezija (co-advisor)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate Study of Food  
Science and Technology  
PY 2016  
TI INFLUENCE OF PROCESSING ON PHYTIC ACID CONTENT IN  
DIFFERENT TYPES OF BREAD  
DT M. Sc. Thesis  
NO IX, 64 p., 14 tab., 6 fig., 95 ref.  
LA sl  
AL sl / en  
AI Nutritionally beneficial effects of bakery products can be reduced by phytic acid (PA) that binds minerals into insoluble complexes and reduces their availability in the digestive system. The aim of the thesis was to find how different types of flour and different technological procedures of bread preparation affect the content of PA in bread. Bread was made from white wheat flour (type 500), wheat flour (type 1100) and wholegrain wheat flour with the direct bread making procedure (fermentation temperature 20°C and 30°C), with indirect bread making procedure with prolonged fermentation (6 hour fermentation, baking after 3 and 6 hours of fermentation) and the bread making procedure with the addition of sourdough (5% and 10% of added sourdough). The samples were taken in different phases of bread preparation: immediately after kneading and after fermentation. After baking the bread crumb and crust were sampled separately. The samples' dry matter content, pH value and PA content were determined. The results obtained were statistically analysed. When processing the data with statistical model 1 we used GLM procedure (General Linear Model). When we compared the temperature of fermentation (20°C and 30°C) and various accessories of sourdough (5% and 10%) procedure T-test paired was used. The highest content of PA was determined in wholegrain flour (0.95 g/100 g dry matter), and the lowest in type 500 flour (0.58 g/100 g dry matter). Of all the procedures of bread making and of all three types of flour, the lowest content of dry matter was determined in the dough immediately after kneading and the highest in bread crust, whereas the highest pH value and PA content was determined in the dough immediately after kneading and the lowest in the crust. The content of PA was decreasing through all preparation phases in all three processes. The pH value and the content of PA was the highest in the samples from wholegrain flour, followed by the samples of flour type 1100. The lowest pH value and content of PA was determined in the white flour samples, regardless of the bread preparation process. The highest PA content (0.95 g/100 g dry matter) was determined in the wholegrain dough immediately after kneading. The most intense degradation of PA was determined in breads with the addition of 10% of sourdough. Fermentation time also importantly influenced the intensity of PA reduction. Strong and statistically significant positive correlations between the content of PA and pH value were found for all three bread making procedures. Regardless of the technological process of bread making or typ of flour, the content of PA was higher in the bread crumb than in the crust.

## KAZALO VSEBINE

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORDS DOCUMENTATION .....</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO VSEBINE .....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC .....</b>	<b>VII</b>
<b>KAZALO SLIK .....</b>	<b>VIII</b>
<b>OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....</b>	<b>IX</b>
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1 NAMEN IN HIPOTEZE .....	2
<b>2 PREGLED OBJAV .....</b>	<b>3</b>
2.1 SESTAVA ŽITNEGA ZRNA .....	3
<b>2.1.1 Beljakovine.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2 Ogljikovi hidrati .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1.3 Prehranska vlaknina .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1.4 Minerali .....</b>	<b>7</b>
2.2 LASTNOSTI MOKE .....	7
2.3 TEHNOLOŠKI POSTOPKI IZDELAVE KRUHA .....	8
<b>2.3.1 Zames testa .....</b>	<b>8</b>
2.3.1.1 Izdelava kruha s postopkom direktnega zamesa .....	8
2.3.1.2 Izdelava kruha s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo .....	8
2.3.1.3 Izdelava kruha s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa.....	9
<b>2.3.2 Deljenje testa.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.3 Okroglo oblikovanje testa.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.4 Vmesno počivanje testa.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.5 Fermentacija testa .....</b>	<b>10</b>
<b>2.3.6 Peka kruha .....</b>	<b>10</b>
<b>2.3.7 Ohlajevanje kruha .....</b>	<b>11</b>
2.4 FITINSKA KISLINA.....	11
<b>2.4.1 Fitaze .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.2 Vpliv fitinske kisline na izkoristljivost mineralov.....</b>	<b>14</b>
2.4.2.1 Izkoristljivost cinka .....	15
2.4.2.2 Izkoristljivost železa.....	15
2.4.2.3 Izkoristljivost kalcija .....	16
2.4.2.4 Izkoristljivost bakra in magnezija .....	16
<b>2.4.3 Vpliv fitinske kisline na aktivnost encimov .....</b>	<b>16</b>
<b>2.4.4 Povezave fitinske kisline s proteini .....</b>	<b>17</b>
<b>2.4.5 Količina zaužite fitinske kisline s hrano.....</b>	<b>17</b>
<b>2.4.6 Vsebnost fitinske kisline v žitih in drugih rastlinskih surovinah.....</b>	<b>18</b>
<b>2.4.7 Vpliv tehnoloških postopkov predelave na vsebnost fitinske kisline</b>	<b>20</b>
<b>2.4.8 Pozitivni vplivi fitinske kisline .....</b>	<b>21</b>
<b>2.4.9 Analizne metode za določanje fitinske kisline .....</b>	<b>22</b>
<b>3 MATERIAL IN METODE.....</b>	<b>24</b>
3.1 MATERIALI.....	24
<b>3.1.1 Pšenica .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.2 Moka.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1.3 Kvas .....</b>	<b>26</b>

<b>3.1.4</b>	<b>Kislo testo .....</b>	<b>26</b>
3.2	METODE DELA .....	26
<b>3.2.1</b>	<b>Izdelava kruha s postopkom direktnega zamesa.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Izdelava kruha s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Izdelava kruha s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa .....</b>	<b>28</b>
3.2.3.1	Priprava kislega testa.....	29
<b>3.2.4</b>	<b>Kemijske analize.....</b>	<b>29</b>
3.2.4.1	Merjenje vsebnosti suhe snovi .....	29
3.2.4.2	Merjenje pH vrednosti.....	30
3.2.4.3	Merjenje vsebnosti fitinske kisline.....	31
<b>3.2.5</b>	<b>Statistične metode.....</b>	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>REZULTATI .....</b>	<b>35</b>
4.1	VSEBNOST FITINSKE KISLINE V MOKAH.....	35
4.2	IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM DIREKTNEGA ZAMESA....	35
4.3	IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM ZAMESA S PODALJŠANO FERMENTACIJO .....	38
4.4	IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM ZAMESA Z DODATKOM .....	
	KISLEGA TESTA .....	41
4.5	PRIMERJAVA TEHNOL. POSTOPKOV IZDELAVE KRUHA .....	43
4.6	KORELACIJSKA ANALIZA .....	44
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA .....</b>	<b>45</b>
5.1	VSEBNOST FITINSKE KISLINE V MOKAH.....	45
5.2	IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM DIREKTNEGA ZAMESA....	45
5.3	IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM ZAMESA S PODALJŠANO FERMENTACIJO.....	46
5.4	IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM ZAMESA Z DODATKOM .....	
	KISLEGA TESTA .....	48
5.5	PRIMERJAVA TEHNOLOŠKIH POSTOPKOV .....	50
5.6	SKLEPI .....	53
<b>6</b>	<b>POVZETEK (SUMMARY).....</b>	<b>54</b>
6.1	POVZETEK .....	54
6.2	SUMMARY .....	56
<b>7</b>	<b>VIRI .....</b>	<b>58</b>
	<b>ZAHVALA</b>	



## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:	Sestava pšeničnega zrna (g/100 g) (Tajnšek, 1988).....	4
Preglednica 2:	Sestava izdelkov iz pšenice (Kent in Evers, 1994) .....	4
Preglednica 3:	Vpliv temperature peke na spremembe v kruhu (Rihter, 2010).....	11
Preglednica 4:	Vsebnost fitinske kisline v različnih izdelkih (Febles in sod., 2002).....	13
Preglednica 5:	Povprečne količine zaužite fitinske kisline v različnih državah (Plaami, 1997) .....	18
Preglednica 6:	Vsebnost fitinske kisline (g/100 g) v različnih morfoloških delih nekaterih žit (Lasztity in Lasztity, 1990) .....	18
Preglednica 7:	Vsebnost fitinske kisline v različnih živilih (g/100 g) (Schmadke, 2007; Ryden in Selvendran, 1993; Lasztity in Lasztity, 1990).....	19
Preglednica 8:	Izmerjene vrednosti parametrov v vzorcu pšenice (Analizni list vhodne kontrole pšenice, 2006) .....	25
Preglednica 9:	Parametri kakovosti za belo, črno in polnozrnato moko (analizni list moke, 2006) .....	25
Preglednica 10:	Vsebnost fitinske kisline v mokah (g/100 g suhe snovi).....	35
Preglednica 11:	Vsebnost suhe snovi, pH vrednosti in vsebnosti fitinske kisline ( $\bar{x} \pm so$ ) v vzorcih kruha izdelanim s postopkom direktnega zamesa .....	37
Preglednica 12:	Vsebnost suhe snovi, pH vrednosti in vsebnosti fitinske kisline ( $\bar{x} \pm so$ ) v vzorcih kruha izdelanim s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo.....	40
Preglednica 13:	Vsebnost suhe snovi, pH vrednosti in vsebnost fitinske kisline ( $\bar{x} \pm so$ ) v vzorcih kruha izdelanim s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa .....	43
Preglednica 14:	Pearsonovi korelacijski koeficient med vsebnostjo fitinske kisline in pH vrednostjo .....	44

## KAZALO SLIK

Slika 1:	Sestava žitnega zrna (Delcour in Hoseneý, 2010) .....	3
Slika 2:	Strukturna formula fitinska kislina, mio-inozitol heksafosfat (Raboy, 1990).....	12
Slika 3:	Shema poskusa .....	27
Slika 4:	Merjenje vsebnosti fitinske kisline.....	31
Slika 5:	Umeritvena krivulja za določanje fitinske kisline.....	33
Slika 6:	Primerjava vsebnosti fitinske kisline med vzorci z dodatkom 5 % oz. 10 % kislega testa.....	42

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

F1IP	testo, ki je fermentiralo 1 uro
F2IP	testo, ki je fermentiralo 2 uri
F3IP	testo, ki je fermentiralo 3 ure
F3IPPSR	sredica kruha, izdelanega iz testa, ki je fermentiralo 3 ure
F3IPPS	skorja kruha, izdelanega iz testa, ki je fermentiralo 3 ure
F4IP	testo, ki je fermentiralo 4 ure
F5IP	testo, ki je fermentiralo 5 ur
F6IP	testo, ki je fermentiralo 6 ur
F6IPPSR	sredica kruha, izdelanega iz testa, ki je fermentiralo 6 ur
F6IPPS	skorja kruha, izdelanega iz testa, ki je fermentiralo 6 ur
FE	Farinografska enota
FK	fitinska kislina
FN	padajoče število (angl. Falling number)
GQI	gluten indeks
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (angl. High performance liquid chromatography)
IUPAC	Mednarodno združenje za čisto in uporabno kemijo (angl. International union of pure and applied chemistry)
KV	koeficient variabilnosti
NMR	jedrska magnetna resonanca (angl. Nuclear magnetic resonance)
s.s.	suha snov
$T_{\text{ferm.}}$	temperatura fermentacije
TIP	testo, izdelano po postopku zamesa s podaljšano fermentacijo
T	temperatura

## 1 UVOD

Strokovnjaki za zdravo prehrano priporočajo uživanje raznolike hrane. V prehrano človeka je potrebno vključiti čim več prehranske vlaknine, manj maščob, zlasti nasičenih maščob in holesterola, manj sladkorja in manjše količine natrija. Z uživanjem povečane količine prehranske vlaknine povečamo vnos fitinske kisline, ki je sestavina živil, bogatih z vlakninami.

Fitinsko kislino obravnavamo predvsem kot nehranljivo snov, saj z minerali tvori netopne komplekse, kar slabo vpliva na črevesno absorpcijo kalcijevih, cinkovih, bakrovih in železovih ionov. Netopnost nastalih kompleksov je glavni razlog za zmanjšano izkoristljivost mineralov (Lopez in sod., 2003). Pomanjkanje mineralov v telesu pa vpliva na poslabšanje imunskega sistema (Kumar in sod., 2013).

Fitinska kislina pa ima lahko tudi pozitiven vpliv na zdravje človeka, saj je eden od naravnih antioksidantov (Ahn in sod., 2004). Že majhne količine fitinske kisline inhibirajo oksidacijo lipidov, povzročeno s strani hidroksilnih radikalov, ki jih katalizirajo železovi ioni. Fitinska kislina tvori z železovimi ioni katalitično neaktivne železove kelate, ki učinkovito blokirajo regeneracijo OH radikalov in tako močno zmanjšajo oksidacijo maščob (Lee in Hendricks, 1995). Fitinska kislina ima poleg antioksidativnih lastnosti še druge pozitivne učinke na človekovo zdravje, saj naj bi delovala antikancerogeno ter zniževala vsebnost holesterola in lipidov v krvi (Campos-Vega in sod., 2010).

Fitinsko kislino najdemo v rastlinskih živilih, predvsem v žitu, stročnicah, sadju in zelenjavi. V semenih, zrnih, gomoljih in koreninah se nahaja v obliki mešanice kalcijeve, magnezijeve in natrijeve soli, ki jih imenujemo fitati (Raboy, 2003). Fitinska kislina nastaja med zorenjem semen in zrn, v katerih predstavlja najpomembnejšo rezervno obliko fosforja in kot fitati tudi mineralov (Modestine in sod., 2012). V literaturi najdemo več imen za fitinsko kislino oz. fitate (mio-inozitol heksakis (dihidrogen fosfat), mio-inozitol 1,2,3,4,5,6,-heksakis (dihidrogen fosfat), inozitol heksakisfosfat, inozitol heksafosforna kislina, InsP6) (Raboy, 2003). V pšeničnih zrnih se fitinska kislina nahaja tako v alevronski plasti kot tudi v kalečem semenu, medtem ko se v koruznem zrnju nahaja samo v kalečem semenu. V kalečem semenu se fitat zelo hitro razgradi, kar je povezano s stalnim porastom fitazne aktivnosti in anorganskega ortofosfata (Plaami, 1997).

## 1.1 NAMEN IN HIPOTEZE

Namen magistrskega dela je bil preučiti, kako vrsta oziroma tip uporabljene moke, različni tehnološki postopki izdelave kruha in dodatek kislega testa vplivajo na vsebnost fitinske kisline v testu in različnih vrstah kruha.

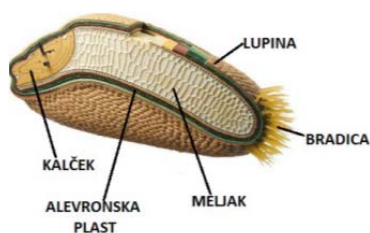
Predvidevamo:

- da bo osnovna surovina oz. tip moke vplival na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha,
- da bo vrsta tehnološkega postopka vplivala na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha,
- da bo količina dodatka kislega testa vplivala na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 SESTAVA ŽITNEGA ZRNA

Žitno zrno je sestavljeno iz lupine (plevna plast), meljaka (endosperm) in kalčka (embrio). Lupina predstavlja 15-20 % mase žitnega zrna. Sestavljena je iz povrhnjice, plodnice in osemenja. Povrhnjica ščiti zrno in preprečuje, da vlaga in različni mikroorganizmi ne morejo prodreti v notranjost zrna (Delcour in Hoseneý, 2010).



Slika 1: Sestava žitnega zrna (Delcour in Hoseneý, 2010)

Figure 1: Composition of cereal grains (Delcour and Hoseneý, 2010)

Na sliki 1 je vidno, da sta pod vrhnjim slojem (epispermom) dva glavna dela zrna: meljak (endosperm) in kalček (embrio) s pripadajočimi organi (Delcour in Hoseneý, 2010).

Zunanji del endosperma je alevronska plast s prizmatičnimi celicami. Ta je ponavadi sestavljena iz ene plasti celic, lahko pa tudi iz dveh ali treh plasti (odvisno od vrste žita), v katerih se nahaja več beljakovin in mineralov (K, Mg, Ca). Maščob je od 7-12 %, škroba pa praktično ne vsebuje (Delcour in Hoseneý, 2010).

Endosperm (meljak) zavzema večji del notranjosti zrna in predstavlja 85 % mase celotnega zrna. Bogat je s škrobom in z v vodi netopnimi beljakovinami. Meljak je sestavljen iz 78-84 % škroba, 8-14 % beljakovin in 1 % maščob. Količina škroba narašča iz obrobne delu proti sredini zrna. Meljak predstavlja rezervno hrano za kalček (Delcour in Hoseneý, 2010).

Kalček leži na spodnjem obrobem delu žitnega zrna. Predstavlja 2,5-5 % mase celotnega zrna. V kalčku je 26 % beljakovin, 26 % ogljikovih hidratov, 10 % maščob, 4,5 % mineralnih snovi in 2 % celuloze (Delcour in Hoseneý, 2010). V preglednici 1 je prikazana sestava žitnega zrna v % in vsebnosti posameznih sestavin.

Preglednica 1: Sestava pšeničnega zrna (g/100 g) (Tajnshek, 1988)  
Table 1: Wheat grain composition (g/100 g) (Tajnshek, 1988)

Deli zrna	Vsebnost sestavin (g/100 g)							
	Delež zrna (%)	Beljakovine	Maščobe	Sladkor	Škrob	Surova vlaknina	Pentozani	Pepel
Epidermis	3,5	3,6-5,2	0,8-1,2	-	-	27-28	34-38	1,4-1,5
Epikarp in endokarp	2,0	7,5	-	-	-	38	34,5	5,0
Barvna plast	0,5	14-23	0-0,2	-	-	1,2-1,4	16-18	15-24
Hialinska opna	2,0	19,5	-	-	-	-	46	2,0
Alevron	7,0	29-38	7-12	-	-	6-7	26-34	5-10
Endosperm	82,5	8,5-14,2	1,0-2,2	-	78-84	0,2-0,3	3,0-4,0	0,7
Kalček	2,5	26,0	10,0	26,0	-	2,0	6,5	4,5

### 2.1.1 Beljakovine

Genotip, okolje in pogoji rasti vplivajo na vsebnost beljakovin v žitih, ki jih je v povprečju 10-15 %. Navadna pšenica vsebuje 8-17 % beljakovin, plevnata pšenica pa 10-20 % (Kent in Evers, 1994). Razpon vsebnosti beljakovin v različnih izdelkih iz pšenice je predstavljen v preglednici 2.

Preglednica 2: Sestava izdelkov iz pšenice (Kent in Evers, 1994)  
Table 2: Wheat products composition (Kent and Evers 1994)

Izdelki	Voda (%)	Beljakovine (%)	Maščobe (%)	Ogljikovi hidrati (%)
Pšenica-celo zrno	14	12,7	2,2	63,9
Moka bela	14	11,5	1,4	75,3
Moka polbela	14	9,4	1,3	77,7
Moka črna	14	12,6	1,8	68,5
Moka polnozrnata	8,3	14,1	5,5	26,8
Kruh iz bele moke	40,4	7,6	1,3	46,8
Testenine iz moke durum	9,7	12	1,8	75,8

Delcour in Hosenej (2010) sta povzela delitev žitnih beljakovin glede na topnost na:

- v vodi topne albumine,
- v razredčeni raztopini soli topne globuline,
- v 70 % etanolu topne prolamine,
- v razredčenih kislinah in bazah topne gluteline.

Topne proteine vsebuje predvsem alevronska plast, kalček in luska in v manjši koncentraciji endosperm. Damodaran (2008) je ugotovil, da je med beljakovinami v pšenični moki okrog 20 % albuminov, globulinov in glikoproteinov. Pšenične prolamine imenujemo gliadini, gluteline pa glutenini.

Serna-Saldivar (2010) je ugotovil, da je med žitnimi beljakovinami 80 % rezervnih beljakovin, od tega največ prolaminov. V pšenični moki naj bi prolamini predstavljali 50 % glutena (Hischenhuber in sod., 2006).

Prolamini in glutelini so rezervni proteini, ki imajo v žitu pomembno vlogo predvsem v fazi kaljenja žitnega zrna. Med rastjo in razvojem žit se rezervni proteini sintetizirajo v protoplastidih (Serna-Saldivar, 2010). Gliadini so mešanica monomernih proteinov, ki predstavljajo okrog 40-50 % rezervnih proteinov v pšenici (Barak in sod., 2015).

Glutenini so heterogeni polipeptidi z relativno molekulsko maso med 12 000 in 130 000. Delcour in Hosenev (2010) sta jih delila na skupino z relativno molekulsko maso od 30 000 do 60 000 in na skupino z relativno molekulsko maso 60 000 do 90 000.

V ostalih žitih nastopajo rezervni proteini v proteinskih telesih v glavnem kot netopni proteini. Netopni proteini so poimenovani po vrsti žita. Tako prolamine rži imenujemo sekalini, prolamine ječmena hordeini in prolamine ovsava avenini (Hischenhuber in sod., 2006).

Biološka vrednost rastlinskih beljakovin je nekoliko manjša od biološke vrednosti živalskih beljakovin. Vzrok manjše biološke vrednosti je v manjši vsebnosti lizina v rastlinskih beljakovinah (Hischenhuber in sod., 2006).

### **2.1.2 Ogljikovi hidrati**

Pšenica vsebuje 69,3 % ogljikovih hidratov. Deleži so v različnih delih pšeničnega zrna različni. Največ ogljikovih hidratov je v endospermu 86 % (večina je škroba), v kalčku jih je 50,5 %, v luski pa 70 %. V meljaku in alevronski plasti vsebuje žito 55–80 % škroba glede na suho snov zrna. V manjših količinah najdemo dekstrine, maltozo in glukozo. To so sladkorji, ki nastajajo pri encimski razgradnji škroba. Škrob se razlikuje glede na velikost in obliko škrobovih zrn. Velikost škrobnih zrn se giblje 5–30  $\mu\text{m}$ . Trde pšenice imajo škrobna zrna velika od 5–10  $\mu\text{m}$ . Najmanjša škrobna zrnca imajo velikost 2–5  $\mu\text{m}$  (Shewry, 2009).

### **2.1.3 Prehranska vlaknina**

Glavne naravne vrste prehranske vlaknine so: celuloza, hemiceluloza, lignin, beta glukani, rezistentni škrob, pentozani in druge (Gray in sod., 2006). Prehranska vlaknina poveča količino blata in omogoča lažje izločanje črevesne vsebine. V blato prehaja 50-84 % lignina in celuloze (Reicks in sod., 2014).

Prehranska vlaknina veže žolčne kisline in omogoča boljšo absorpcijo maščob ter pospešuje delovanje prebavnih encimov. Prehranska vlaknina upočasni tudi praznjenje želodca in znižuje raven glukoze v krvi. Priporočljiv dnevni vnos vlaknine v telo znaša 40



g. Med prehranske vlaknine sodijo tudi produkti Maillardove reakcije in rastlinski fenoli (Reicks in sod., 2014).

Pšenična zrna vsebujejo okoli 10 % prehranske vlaknine, ki je skoncentrirana v zunanem delu zrna, v perikarpu. Vsebnost vlaknine v žitnih izdelkih močno variira, predvsem pa je odvisna od stopnje meljave. Pri mletju pšenice gre več kot dve tretjini vlaknine med otrobe (Li in sod., 2014).

Sestavine prehranske vlaknine imajo tudi velik vpliv na absorpcijo mineralov. Celuloza je glavna sestavina netopnih vlaknin. Celuloza se lahko zaradi hidroksilnih funkcionalnih skupin in tvorbe vodikovih vezi poveže s kovinskimi elementi. Raziskave so pokazale, da ima celuloza minimalno afiniteto do železovih ionov pri katerikoli vrednosti pH in veliko sposobnost vezanja kalcija (Li in sod., 2014).

Hemiceluloza, kot topna sestavina vlaknin, ima drugačne vplive na absorpcijo mineralov. Hemiceluloze so razmeroma kratki in razvejani homo- in heteropolimeri polisaharidov. Sestavljajo jih različni sladkorji (D-glukoza, D-manoza, D-galaktoza, D-ksiloza, L-arabinoza in L-ramnoza) ter uronska kislina. Monomeri so povezani z 1-3, 1-6 ali 1-4 glikozidnimi vezmi, stopnja polimerizacije je od 150 do 200 sladkornih enot (Li in sod., 2014).

Hemiceluloza se od celuloze razlikuje po tem, da ima v stranskih verigah sladkorje, sladkorne kisline in acetilne estre. Posledica teh stranskih skupin je nekristaliničnost ali nizka stopnja kristaliničnosti hemiceluloze. Značilno je, da razmeroma zlahka hidrolizira v osnovne monomere. Ugotovljeno je bilo, da hemiceluloza, v povezavi s celulozo, vpliva na organizacijo lignina (Li in sod., 2014).

Žito vsebuje zelo majhne količine pektina, ki sestavljajo topno prehransko vlaknino. Pektin kaže afiniteto do dvovalentnih kationov. Pektin sicer nima velikega vpliva na absorpcijo mineralov, vendar pa raziskave kažejo, da pektini z visoko stopnjo esterifikacije vežejo znatno manjše količine mineralov, kot tisti z nizko stopnjo esterifikacije (Torre in sod., 1991).

Beta-glukane uvrščamo med vlaknine, spadajo pa v skupino neškrobnih naravnih polisaharidov, sestavljenih iz molekul glukoze. Celotna kemijska sestava beta-glukanov je zelo pomembna s stališča njihovih fizikalnih lastnosti (npr. topnosti v vodi) in biološke vloge v telesu. Beta-glukani iz žit pomagajo pri uravnavanju holesterola (Li in sod., 2014).

Nahajajo se v trdnem zunanem ovoju žit (otrobih), predvsem ječmena in ovsu, v manjši meri pa tudi rižu in pšenice. Gre za v vodi topno vlaknino, katere kemijska struktura je večinoma linearna. V verigi se izmenjujeta beta-(1,3) ter beta-(1,4) glukan v približnem razmerju 30 % do 70 % (Li in sod., 2014).

V vodi netopni pentozani predstavljajo 2,4 % pšeničnega endosperma. Sestavljeni so predvsem iz ksiloze in arabinoze, nekateri avtorji pa navajajo tudi prisotnost galaktoze, manoze in drugih sladkorjev. Študija v vodi netopnih pentozanov je pokazala, da je okoli 60 % ksiloznih ostankov razvejanih. V vodi topni pentozani vsebujejo poleg ksiloze in

arabinoze še galaktozo in proteine in imajo pomembno vlogo pri oblikovanju volumna kruha. V vodi topni pentozani imajo pomembno vlogo tudi pri zaklejitvi škroba, v vodi netopni pentozani pa pri upočasnjevanju rekristalizacije škroba, saj z učinkovanjem na amilozno in amilopektinsko frakcijo zmanjšujejo retrogradacijo škroba (Li in sod., 2014).

#### 2.1.4 Minerali

Lupina, kalček in alevronska plast so zelo bogati z minerali. Polnozrnati izdelki vsebujejo veliko železa, magnezija, kalcija in cinka. Vendar pa se le-ti ne morejo kompletno absorbirati zaradi prisotnosti fitinske kisline. Fitinska kislina tvori netopne fitate z dvo in večvalentnimi kationi in tako zmanjša njihovo izkoristljivost. Ker se med mletjem glavčina fitinske kisline odstrani med otrobe, nekaj pa se jo odstrani še med tehnološkim postopkom, sta ta dva procesa odgovorna za zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline v izdelkih in s tem za večjo izkoristljivost mineralov (Magala in sod., 2015).

Beli moki v nekaterih državah dodajajo nekatere minerale, ki se med mletjem odstranijo. Dokazano je, da je izkoristljivost dodanih mineralov, kot so cink, kalcij in železo, večja od izkoristljivosti naravno prisotnih mineralov (Li in sod., 2014)

## 2.2 LASTNOSTI MOKE

Vsebnost pepela pšenične moke je neposredno povezana s stopnjo meljave. Moko žarimo pri 900 °C. Pri tej temperaturi organske snovi zgorijo v ogljikov dioksid in vodo. Anorganske snovi, ki ostanejo, imenujemo pepel. Pepel predstavljajo oksidi mineralov kalija, natrija, kalcija, magnezija in fosforja in številnih mikroelementov, kot so mangan, cink, baker, železo, kobalt. Mineralne snovi v zrnju niso enakomerno razporejene. V zunanjih plasteh zrna (luska in alevronska plast) se nahaja največji del mineralnih snovi, zato delež pepela iz notranjosti proti zunanosti zrna narašča. Temnejše pšenične moke, ki vsebujejo večji delež zunanjega sloja zrna, imajo več pepela kot svetlejše moke. Temnejše moke so bogate z minerali, z vitamini in s prehransko vlaknino (Liu in sod., 2015). Vsebnost pepela moke določa tip moke. V Sloveniji se pšenične moke po Pravilniku o kakovosti izdelkov iz žit (2014) razvrščajo v pšenično belo moko (tip 400, tip 500), pšenično polbelo moko tip 850, pšenično črno moko (tip 1100, tip 1600) in v pšenično polnozrnato moko.

Kakovost moke določa tudi kislinska stopnja, ki je pokazatelj svežine moke. S staranjem moke pride do encimske razgradnje maščob, fosfatov in beljakovin, kar ima za posledico dvig kislinske stopnje. Kislinska stopnja moke je odvisna od količine prisotnih maščobnih kislin, kisljih fosfatov (soli fosforne kisline), aminokislin in organskih kislin (mlečne kisline in očetne kisline). Določa se s titracijo v 67 % etanolu topnih spojin, ki dajo kislno reakcijo z NaOH ob fenoftaleinu kot indikatorju (Liu in sod., 2015). Pšenična bela moka (tip 500) ima vsebnost pepela 0,46-0,60 %, kislinsko stopnjo največ 3,2. V pšenični črni moki (tip 1100) je vsebnost pepela 1,00-1,20 %, kislinska stopnja pa največ 3,7, medtem

ko je v polnozrnatih pšeničnih moki vsebnost pepela do 2 %, kislinska stopnja pa največ 3,9 (Pravilnik o kakovosti izdelkov iz žit, 2014). Navedene vrednosti veljajo za Slovenijo.

## 2.3 TEHNOLOŠKI POSTOPKI IZDELAVE KRUHA

### 2.3.1 Zames testa

Z mešanjem surovin v kotlu, začnejo v testu, potekati fizikalni in kemijski procesi. Pri oblikovanju pšeničnega testa imajo pomembno vlogo beljakovine moke. Od njih je odvisna kvaliteta testa, predvsem njegova elastičnost in plastičnost. V vodi netopne beljakovine moke vežejo vodo in nabreknejo, kar privede do tvorbe lepka. Nabrekle beljakovine se med mešanjem zaradi mehanskega delovanja zlepljajo in tvorijo mrežasto strukturo, v katero so povezana zrnca škroba. Proteinska mreža zadržuje ogljikov dioksid, ki nastaja zaradi kvasne aktivnosti pri fermentaciji testa. Med zamesom testa večino dodane vode vežejo beljakovine in vlaknine, v vodi netopna škrobna zrnca vežejo le malo vode. Gliadin in glutenin absorbirata približno dvojno količino vode glede na maso (Sluimer, 2005).

Med mešanjem se v testu zaradi trenja razvije toplota in testo se segreje. Testo počiva v kotlu določen čas odvisno od tehnološkega postopka (Brandt, 2015).

#### 2.3.1.1 Izdelava kruha s postopkom direktnega zamesa

Testo izdelano s postopkom direktnega zamesa pripravimo tako, da istočasno zamešamo moko, kvas, sol in vodo. V tako pripravljenem testu se pod vplivom kvasovk odvija proces fermentacije. Kvasovke med postopkom proizvajajo CO<sub>2</sub>, ki vpliva na teksturo kruha, etanol in tudi manjše količine višjih alkoholov, aldehydov ter ketonov, ki oblikujejo aromo kruha (Plestenjak in sod., 2009).

Kruh, ki je izdelan po opisanem postopku, je ustrezne kakovosti, ima dober volumen, zunanji videz in strukturo sredice, vendar manj intenzivno aromo in vonj sredice in skorje (Yu-Yen in sod., 1997).

#### 2.3.1.2 Izdelava kruha s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo

Pri izdelavi kruha s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo najprej pripravimo kvasni nastavek iz dela moke, vode ter majhne količine kvasa. Ko kvasni nastavek določen čas odleži v kotlu, dodamo še ostale surovine in pripravimo končno testo. Testo v kotlu počiva 4-6 ur, pri temperaturi okrog 30 °C in se med tem časom večkrat premeša. Kruh, izdelan po postopku zamesa s podaljšano fermentacijo, ima dober volumen in bistveno boljšo aromo kot kruh, ki je izdelan po postopku direktnega zamesa. Prav tako kruhi izdelani po tem postopku dajejo boljši občutek svežine in sočnosti (Yu-Yen in sod., 1997).

### 2.3.1.3 Izdelava kruha s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa

Z izdelavo kruha s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa izboljšamo okus in aromo kruha, izboljšamo strukturo sredice kruha, metabolni produkti mlečno kislinskih bakterij pa inhibitorno delujejo na plesni in bakterije, ki povzročajo kvar kruha (Brandt, 2015). Pri tem postopku običajno vzamemo 10-20 % moke od moke za glavni zames, ji dodamo vodo ter starter kulturo in pustimo stati 12-30 ur pri temperaturi 28-35 °C. Od temperature in časa je odvisno ali se bo razvilo med fermentacijo več očetne ali mlečne kisline. Očetna kislina vpliva predvsem na aromo, mlečna kislina pa na stabilnost lepka in volumen. Z ohladitvijo testa na 5 °C proces ustavimo oziroma upočasnimo in zagotovimo, da se v naslednjih 24 urah sestava kislega testa bistveno ne spremeni. V pekarski industriji uporabljamo selekcionirane mlečno kislinske bakterije iz rodu *Lactobacillus* (*Lactobacillus brevis*). Delimo jih na homofermentativne in heterofermentativne. Homofermentativne proizvajajo primarno mlečno kislino in prekurzorje aromatičnih snovi, heterofermentativne pa poleg mlečne kisline in aromatičnih snovi še očetno kislino, etanol in ogljikov dioksid. Pri pšeničnih kruhkih običajno 10-20 % moke nadomestimo s kislim testom, pri rženih kruhkih pa tudi do 40 %. Kruh, ki ga proizvedemo po tem postopku ima boljšo aromo, vonj in strukturo. Za takšen kruh je značilna tudi daljša obstojnost (Batič, 2000).

### 2.3.2 Deljenje testa

Po počivanju v kotlu po zamesu (lahko traja nekaj minut do nekaj ur) sledi faza deljenja in tehtanja. Deljenje poteka ročno ali strojno preko delilnih strojev, prav tako tudi tehtanje. Pri fazi deljenja se glutenska mreža poškoduje (Brandt, 2015).

### 2.3.3 Okroglo oblikovanje testa

Testo okroglimo, da iz njega iztisnemo vse pline, ki so nastali med fermentacijo, ter tako omogočamo kvasovkam ponovno hitrejše in enakomernejše delovanje. Med okroglanjem postane površina testa gladka in okrogla (Brandt, 2015).

### 2.3.4 Vmesno počivanje testa

Zaradi pritiskov med deljenjem in oblikovanjem, prihaja do deformacije testa. Da se spet vzpostavi trodimenzionalna mreža beljakovin, mora testo nekaj časa počivati v intermediarni komori, kjer je temperatura 35 °C in vlaga 75 %. Ta postopek običajno traja pet minut, odvisno od intenzivnosti mesitve in načina deljenja testa (Brandt, 2015).

### 2.3.5 Fermentacija testa

Po končanem oblikovanju sledi vzhajanje kosov testa. Oblikovani kosi testa vzhajajo prosto, v modelih ali v košaricah. Med vzhajanjem potekajo v testu različni biokemijski in fizikalni procesi, kar privede do rahljanja testa in povečanja volumna. Alkoholna fermentacija je posledica delovanja kvasovk, ki ob ugodnih pogojih intenzivno spreminjajo sladkor v alkohol etanol in ogljikov dioksid. Ogljikov dioksid, ki se ujame v glutensko mrežo, povzroča rahljanje testa in povečanje volumna testenega kosa, fermentacijski metaboliti pa vplivajo na aromo kruha, ki se oblikuje v nadaljnjem procesu izdelave pekovskih izdelkov (Sluimer, 2005).

Čas vzhajanja testa je odvisen od kakovosti moke. Ko uporabljamo bolj kakovostno moko (glede na lepik in škrob), lahko testo vzhaja dlje časa. Običajno poteka fermentacija 35 minut pri temperaturi 35 °C in relativni vlagi 75 % (Brandt, 2015).

Med vzhajanjem delujejo amilolitični in proteolitični encimi, ki razgrajujejo ogljikove hidrate in beljakovine in pri tem nastajajo različne aromatske snovi. Med fermentacijo prihaja tudi do zmanjšanja vsebnosti fitinske kisline (Magala in sod., 2015).

### 2.3.6 Peka kruha

Pri peki iz nestabilnega koloidnega sistema nastane trden izdelek z značilnim okusom in aromo (Hrovat in sod., 2001). Tudi med pečenjem potekajo različne fizikalne in kemijske spremembe. S procesom pečenja dobi pekovski izdelek svojo končno obliko in karakteristične lastnosti, kot so struktura sredice, vonj, okus in topnost.

Fizikalne spremembe se odražajo v povečanju volumna. Beljakovine denaturirajo in koagulirajo ter pri tem odpuščajo vodo, ki pa jo vežejo škrobna zrnca, ki zakleji. Škrob zakleji med 62-68 °C.

Biološke spremembe se v prvi fazi peke kažejo s pospešenim delovanjem encimov oz. kvasovk, ki pozneje odmrejo zaradi previsoke temperature.

Kemijske spremembe nastajajo med celotno peko kruha. Najprej poteka razgradnja škroba zaradi delovanja amilaz, ki razgradijo škrob na dekstrine in maltozo. Alkohol in voda izparevata, voda prihaja iz sredice testa na površino in začne se oblikovanje skorje. Na površini med pečenjem nastajajo številni produkti Maillardove reakcije (Sluimer, 2005).

Trajanje peke je odvisno od časa, ki je potreben, da se sredica kruha segreje do 100 °C. Čas peke je odvisen od temperature peči, stopnje peke, velikosti kosov kruha, oblike testa, stopnje poroznosti in načina peke. V preglednici 3 so navedeni vplivi temperature peke na spremembe v kruhu.

Preglednica 3: Vpliv temperature peke na spremembe v kruhu (Rihter, 2010)  
Table 3: Effect of baking temperature on changes in bread (Rihter, 2010)

Temperatura sredice kruha	Spremembe v kruhu
30-35 °C	povečana aktivnost kvasa, alkoholna fermentacija - vzhajanje testa
40 °C	škrob pričinja vpijati vodo in nabreka
50 °C	amilolitični in proteolitični encimi so še aktivni, proces zaklejitve škroba je intenzivnejši, delovanje kvasovk postaja oteženo
do 60 °C	odmrejo skoraj vse kvasovke
60-70 °C	beljakovine koagulirajo
70 °C	alkohol prehaja v plinasto stanje
80 °C	končuje se encimska razgradnja, visoka temperatura inaktivira encime
90 °C	proces zaklejitve škroba je končan
100 °C	voda iz sredice izhlapeva v obliki vodne pare
120-140 °C	nastajanje svetlečega in temnega dekstrina
180 °C	karamelizacija sladkorja

### 2.3.7 Ohlajevanje kruha

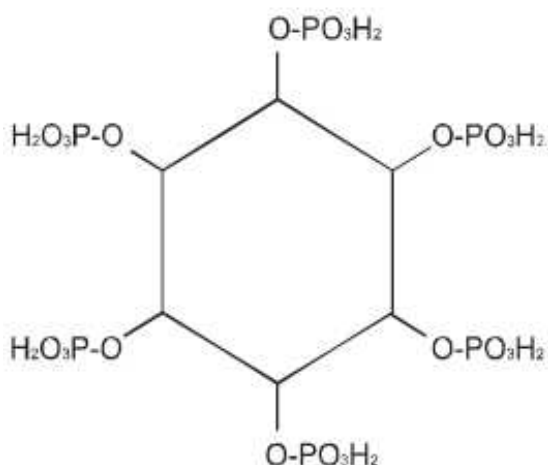
Ko kruh vzamemo iz peči, ima na površini temperaturo 130-180 °C, skorja pa je skoraj suha. V sredici je temperatura nižja, in sicer okrog 100 °C. Ko damo kruh v prostor s temperaturo 24-26 °C, se prične ohlajevati in sušiti, saj del vode iz vročega kruha izpari. Bolj ko je kruh ohlajen, počasneje izpareva voda. Skorja se navlaži na 12-14 %. Ko se kruh ohladi na temperaturo prostora, se konča tudi izravnavanje temperature in upočasnjeni prehod vlage, čeprav je med vsebnostjo vode v skorji in sredici še velika razlika (Brown, 1995).

Na sušenje, ki zmanjšuje maso končnega izdelka, vplivajo temperatura zraka, relativna vlaga v ohlajevalnici in hitrost kroženja zraka (Brown, 1995).

## 2.4 FITINSKA KISLINA

Prve objave o fitinski kislini segajo v sredino 19. stoletja, ko je Hartig (1855) iz semen različnih rastlin izoliral neznane majhne delčke, ki so se razlikovali od škrobnih zrn. Predstavljale naj bi pomemben vir zalog, ki jih seme koristi v času kaljenja in rastlina v času rasti. Fitinska kislina je po svoji kemijski strukturi inozitol heksafosfat (IP6). Na sliki 2 je prikazana struktura fitinske kisline. Osnovni skelet predstavlja inozitol, vsaka izmed njegovih šestih hidroksilnih skupin pa je zaestrena z eno molekulo fosforjeve (V) kisline (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). Gre torej za fosforiliran ogljikov hidrat, ki vsebuje energijsko bogate vezi. Lahko obstaja tudi kot fitat v obliki soli s K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> (Wu in sod., 2010).

V kateri obliki se nahaja, pa je odvisno od pH vrednosti, njene vsebnosti, temperature, agregatnega stanja, ter vrste in števila prisotnih kationov (Wu in sod., 2010).



Slika 2: Strukturna formula fitinske kisline, mio-inozitol heksafosfat (Raboy, 1990)  
Figure 2: Structural formula of phytic acid, mio-inozitol heksafosfat (Raboy, 1990)

Sinteza fitinske kisline se začne v zrnatem endoplazmatskem retikulumu med zorenjem zrn z zaporedno fosforilacijo mio-inozitola (Raboy, 2003). V pšenici je 90 % fitinske kisline skoncentrirane v alevronskih zrnih, 10 % pa v kalčku. Alevronska zrna vsebujejo dva tipa vključkov, in sicer globoide, ki vsebujejo večjo količino fitatov in protein ogljikohidratna telesca (Wu in sod., 2010). Globoidna zrnca vsebujejo veliko fitinske kisline (25-70 %) in so bogati s kalijem (2-20 %) ter magnezijem (1,5-12 %). Vsebujejo pa malo proteinov in ogljikovih hidratov (manj kot 2 %). Pri koruzi je ravno obratno, saj se največ fitinske kisline nahaja v kalčku. Celice znotraj zrna ne vsebujejo fitinske kisline (Raboy, 1990).

Največ fitinske kisline najdemo v žitih in stročnicah, manj pa v sadju in zelenjavi. Med stročnicami vsebujejo največ fitinske kisline fižol, leča, grah, soja, čičerika. Med žiti je v pšenici 60-80 % deleža fosforja iz fitinske kisline, v koruzi 83-88 %, v ječmenu 66-70 % in v ovsu 59-66 % (Lasztity in Lasztity, 1990).

Vsebnost fitinske kisline v žitih in žitnih izdelkih je odvisna od:

- pogojev rasti žita,
- zrelosti,
- sorte žita,
- stopnje meljave (otrobi vsebujejo več fitinske kisline, bela moka pa zelo malo) (Wu in sod., 2010).

Raziskave so pokazale, da pšenica, ki je zrasla v vodnem stresu vsebuje manj fitinske kisline kot pšenica.

V celih pšeničnih zrnih je prisotne 0,5-2 % fitinske kisline (Lasztity in Lasztity, 1990).

Febles je s sodelavci (2002) ugotovil, da je polnozrnata pšenična moka vsebovala 2,22 g fitinske kisline/100 g, fino mleta pšenična moka pa skoraj 10 krat manjše vsebnosti, kar je prikazano v preglednici 4. Tudi pšenični zdrob iz trde pšenice je vseboval manj fitinske kisline kot pšenični zdrob, narejen iz mehke pšenice.

Preglednica 4: Vsebnost fitinske kisline v različnih izdelkih (Febles in sod., 2002)  
Table 4: Phytic acid content in different products (Febles et al., 2002)

Vrsta izdelka	Vsebnost fitinske kisline (g/100 g)
fino mleta pšenična moka	0,297
polnozrnata pšenična moka	2,22
ovseni otrobi	1,9-2,4
bel kruh	0,148
polnozrnati kruh	0,753

### 2.4.1 Fitaze

Fitaze (mio-inozitolheksafosfat fosfohidrolaze) spadajo v družino encimov, ki katalizirajo postopno odstranjevanje anorganskih ortofosfatov iz fitinske kisline oziroma hidrolizirajo mio-inozitol 1, 2, 3, 4, 5, 6,-heksakis (dihidrogen fosfat) na mio-inozitol in anorganski fosfat.

Znani sta dve vrsti fitaz (Kumar in sod., 2010):

-3-fitaza, ki najprej hidrolizira estersko vez na mestu 3 mio-inozitola,

-6-fitaza, ki začne defosforilacijo fitinske kisline na mestu 6 in je večinoma prisotna v žitih.

Fitaze so prisotne v tistih semenih višjih rastlin, ki vsebujejo tudi fitat. V nekalečem zrnu se nahaja majhna količina endogenih fitaz, ki je zelo slabo aktivna. Fitaze žit se aktivirajo s številnimi dvovalentnimi kationi, kot so magnezijev, kalcijev in cinkov kation (Kumar in sod., 2010).

Med kaljenjem povečana aktivnost fitaz povzroči zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline oziroma njeno hidrolizo v nižje inozitol fosfate. Ni pa še do podrobnosti raziskano, ali je povečana aktivnost fitaz med kaljenjem zrna posledica delovanja že prej prisotnih fitaz ali fitaz, ki so se sintetizirale na novo.

Fitaze so najbolj aktivne pri pH = 5,0 in pri temperaturi med 55-58 °C. Pri pH = 6 so še aktivne, pri pH ≥ 7 pa fitaze niso več aktivne. Jones (2014) je pojasnil, da imajo fitaze zelo koristno uporabo. Med drugim pospešuje absorpcijo mineralov, zmanjšuje vsebnost fitinske kisline v organizmu, zmanjšuje primanjkljaj mineralov in zmanjšuje nastajanje strupov v prebavnem traktu.

Fitaze pa so lahko tudi mikrobiološkega izvora in se v posamezna živila lahko tudi dodajajo. Najpogostejši izvori fitaz so: *Buttiauxella*, *E.coli*, *Citrobacter* in *Peniophora* (Jones, 2014).

Jones (2014) je navedel pomembne lastnosti fitaze, kot so: velika aktivnost dodatka pri nizkem pH, visoka afiniteta za IP6 fitata, hitrost sproščanja in visoka termostabilnost.



## 2.4.2 Vpliv fitinske kisline na izkoristljivost mineralov

Fitinska kislina je encimsko hidrolizirana s fitazami ali pa kemijsko do nižjih inozitol fosfatov, kot so inozitol pentaosfat (IP5), inozitol tetraosfat (IP4), inozitol trifosfat (IP3), lahko pa tudi do inozitol difosfata in mono osfata (Raboy, 2003). Med njimi imata samo IP6 in IP5 negativen vpliv na bioizkoristljivost mineralov. Ostale hidrolizirane oblike imajo slabo sposobnost vezave mineralov ali so kompleksne tvorbe bolj topne (Bohm in sod., 2007).

Fitinska kislina ima zelo močno afiniteto do di- in tri- valentnih kationov. Tvorijo se slabo topni kompleksi, katerih nastanek je tesno povezan s pogoji disociacije in protonizacije fosfatnih skupin (Sakai in sod., 2015). Minerali se glede na relativno sposobnost povezovanja s fitinsko kislino med seboj zelo razlikujejo. Afiniteta fitinske kisline do ionov pada po naslednjem vrstnem redu:  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  (Sakai in sod., 2015).

Raziskave so pokazale, da na izkoristljivost mineralov iz rastlinske hrane v človeškem prebavnem traktu vplivajo številni faktorji (Sakai in sod., 2015):

- količina fitinske kisline,
- koncentracija, vrsta in valenca minerala,
- povezovanje fitinske kisline s proteini,
- toplotni postopki pri pripravi hrane,
- prisotnost drugih kovinskih ionov,
- pH vrednost.

Fitinska kislina tvori v tankem črevesju glede na pH vrednost slabo topne komplekse s kationi, kar povzroči slabšo črevesno absorpcijo  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  in  $\text{Fe}^{3+}$  ionov. Pomanjkanje mineralov zaradi vezave s fitinsko kislino povzroči veliko negativnih učinkov (Sakai in sod., 2015).

Pomanjkanje cinka je tako povezano z izgubo apetita, dermatitisom in s slabšim delovanjem imunskega sistema. Pri močnem pomanjkanju se lahko pojavi zmanjšana zmožnost okušanja, pa tudi izpadanje las, driska in nevropsihične motnje. Prihaja tudi do motenj v spolnem razvoju pri moških in zaostajanja v rasti pri otrocih (Geissler, 2005).

Znaki pomanjkanja bakra se kažejo kot anemija, izguba kostne gostote, moteno nastajanje kolagena in elastina, zmanjšana pigmentacija las in kože ter nevrološke motnje (Geissler, 2005).

Nezadosten vnos kalcija lahko upočasni rast in mineralizacijo kosti v otroštvu in puberteti in povzroča izgubo kostne gostote (osteoporozo) v obdobju odraslosti, kar privede do pogostejših zlomov kosti. Ljudje, ki imajo nizek prehranski vnos kalcija s hrano so bolj nagnjeni tudi k raku črevesja in povišanemu krvnemu pritisku. K osteoporozi so nagnjene tudi ženske v menopavzi, česar pa se ne da zdraviti le s povečanim vnosom kalcija, ampak skladiščenje kalcija lahko povečamo z dodatkom estrogena (Kohlmeier, 2003).

V primeru pomanjkanja železa lahko pride do anemije pa tudi do zmanjšanja fizične zmogljivosti, motenj termo regulacije in motenj imunskega sistema (Madan in sod., 2010).

Pri otrocih od 12. do 18. meseca starosti zmerno izražena anemija vpliva na razvoj kognitivnih in motoričnih sposobnosti. Kljub naknadnemu zdravljenju pomanjkanja železa, pa nastale spremembe mentalnega in psihomotoričnega razvoja ter vedenja otroka niso reverzibilne in se obdržijo tudi skozi kasnejša obdobja življenja (Madan in sod., 2010).

#### 2.4.2.1 Izkoristljivost cinka

Raziskave so pokazale obratno razmerje med vsebnostjo fitinske kisline in absorpcijo cinka, kar pomeni, da večja vsebnost fitinske kisline vpliva na zmanjšano biološko izkoristljivost cinka. Kompleksi začnejo nastajati okrog pH = 3. Obarjanje doseže višek pri molskem razmerju cink : fitinska kislina = 5 : 1 (Torre in sod., 1991).

Raziskave na živalih so pokazale, da zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline v hrani poveča izkoristljivost cinka in da dodatek mikrobne fitaze v prehrano, ki je bogata s fitatom, izboljša izkoristljivost cinka pri rastočih podganah in piščančkih. Dodatek fitaze v krmo poveča izkoristljivost cinka in preostalih mineralov, kar ugodno vpliva na izgled piščancev, izboljšanje konverzije krme, ter doseganje večjih povprečnih mas piščancev (Jamal in sod., 2009).

#### 2.4.2.2 Izkoristljivost železa

Okoli 40 % železa v mesu, perutnini in ribah je v obliki hemskega železa, preostalo je nehemsko. Železo v mlečnih izdelkih, jajcih in rastlinskih izdelkih je nehemsko in predstavlja več kot 80 % skupnega železa v hrani (Plaami, 1997). Na absorpcijo nehemskega železa vpliva kemijsko okolje in preostale sestavine hrane, pri čemer absorpcijo inhibirajo fitinska kislina in polifenoli, pospešuje pa jo vitamin C (Davidsson in sod., 1994).

Rossander in sodelavci (1987) so raziskovali vpliv določenih vlaknin (pektina, celuloze, hemiceluloze) in fitata na absorpcijo železa pri človeku. Raziskave so pokazale, da je fitat glavni vzrok za zmanjšanje izkoristljivosti železa, kar se ujema tudi z rezultati Hallberga (1987). Rezultati so pokazali visoko koleracijo med inhibicijo absorpcije železa in količino fitata (Nielsen in sod., 2013).

Sklepamo lahko, da se izkoristljivost železa bistveno izboljša, če hrana ne vsebuje fitinske kisline. Zato je za slabokrvne ljudi boljše, da uživajo hrano z manj fitinske kisline ali pa zaužijejo večje količine mesa in organskih kislin, ki v črevesju pospešijo absorpcijo železa (Theil in sod., 2012).

Nasprotno pa je za ljudi, ki imajo dovolj železa, potrebno uživanje hrane, ki vsebuje večje vsebnosti fitinske kisline. Tudi raziskave na živalih so pokazale, da fitinska kislina deluje inhibitorno na absorpcijo železa. Dokazano pa je tudi, da je dosežen zaviralni učinek

fitinske kisline na izkoristljivost železa, če je v prehrani dovolj vitamina C (Nielsen in sod., 2013).

#### 2.4.2.3 Izkoristljivost kalcija

Fitinska kislina zelo zmanjša biološko izkoristljivost kalcija. Kompleksi kalcija s fitinsko kislino so netopni in organizem jih ne more absorbirati iz prebavnega trakta. Poleg tega inhibirajo tudi absorpcijo železa in cinka, ki se vežeta na že obstoječe komplekse, ki postanejo še manj topni.

Na izkoristljivost kalcija močno vpliva tudi stopnja fosforilacije inozitola. Pri višjih stopnjah fosforilacije je bila absorpcija cinka in kalcija značilno inhibirana, medtem ko pri nižjih stopnjah fosforilacije absorpcija teh mineralov ni bila ovirana. Z uživanjem kuhane in fermentirane hrane, ki vsebuje precejšnje količine inozitol fosfatov z manjšim številom fosfatov, lahko bistveno povečamo absorpcijo kalcija v organizmu (Torre in sod., 1991).

#### 2.4.2.4 Izkoristljivost bakra in magnezija

Študije so pokazale, da je učinek fitata na izkoristljivost bakra manj pomemben (Plaami, 1997). Fitat inhibira absorpcijo magnezija, poveča pa izkoristljivost bakra. Povečanje izkoristljivosti lahko povežemo s povezovanjem fitinske kisline s cinkom, ki z bakrom tekmuje za specifična mesta pri črevesni absorpciji (Sakai in sod., 2015).

### 2.4.3 Vpliv fitinske kisline na aktivnost encimov

Fitinska kislina zmanjša aktivnost encimov, ki v svojih aktivnih centrih vsebujejo cinkove ali bakrove ione. Med te encime spadajo karboksipeptidaze, aminopeptidaze, amilaze in alkalne fosfataze (Ryden in Salvendran, 1993).

Yoon in sodelavci (1983) so v svojih raziskavah ugotovili, da obstaja negativna korelacija med glikemičnim indeksom in vsebnostjo fitinske kisline v hrani. Medtem ko omenjeni avtor navaja, da fitinska kislina inhibira delovanje alfa amilaze, pa Bjorck in Nymann (1987) ugotavljata, da ima fitinska kislina le malo vpliva na alfa amilazo.

Fitinska kislina vpliva na prebavljivost škroba in ovira presnovo beljakovin in maščob, saj zmanjša aktivnost proteolitičnih in lipolitičnih encimov (Denstadli in sod., 2006).

Fitat zmanjša tudi aktivnost pepsina, ki sodeluje pri razgradnji kazeina in seruma albuminov (Denstadli in sod., 2006).

#### **2.4.4 Povezave fitinske kisline s proteini**

Že med samim zorenjem žitnega zrna pride do reakcij med fitati in beljakovinami. Takrat se fitat prvič akumulira s proteini v bogati alevronski plasti žit in v proteinskih telesih stročnic. Zaloge fitata se najprej pojavijo v endoplazmatskem retikulumu. Raziskave kažejo, da večja vsebnost magnezija in kalcija prispeva k tvorbi večjih globoidnih kristalov (Hidvegi in Lasztity, 2003).

Fitat-proteinski kompleksi nastanejo zaradi elektrostatičnih interakcij, ki vključujejo terminalno alfa amino skupino, amino skupino lizina, imidazolno skupino histidina in gvanidilno skupino arginina. Pri nizkem pH, pod izoelektrično točko proteinov, so te skupine pozitivno nabite. Vsaka od teh skupin lahko tvori kompleks z negativno nabitimi anioni. Pri vmesnem pH so pozitivno nabite le amino skupina lizina in gvanidilna skupina arginina. Pri visoki pH vrednosti, reakcija med fitinsko kislino in proteini pojema. V pH območju 7-10 sta tako fitat kot protein negativno nabita. V prisotnosti kationov lahko nastane topen trojni kompleks med proteinom, kovinskim ionom in fitinsko kislino. V tem primeru kation oblikuje most med fitatnim anionom in negativno nabito skupino proteina, kar omogoča vezanje fitinske kisline s proteini pri nevtralnem ali alkalnem pH. Močnejša vez nastane pri nižji pH vrednosti, ko kationske skupine proteinov vežejo fitatne anione in je zato topnost obeh komponent slaba. Večina teh nastalih kompleksov je biološko neizkoristljivih za človeka v normalnih fizioloških pogojih. Proteini so v kompleksu težje dostopni za proteolitične encime kot pa prosti proteini (Torre in sod., 1991).

Tudi sami tehnološki postopki predelave hrane, kot so dodatek vode, peka kruha, avtoklaviranje ter druge vrste termične obdelave, vplivajo na intenzivnost povezave fitinske kisline s proteini. Intenzivnost povezave povzroči spremembe v prehranski vrednosti proteinov, izkoristljivosti mineralov in drugih lastnosti hrane (Hidvegi in Lasztity, 2003).

Posledica vezave fitata s proteinom vodi k zmanjšani topnosti proteinov, kar poslabša njihove hidrodinamične lastnosti, emulzivne lastnosti ter sposobnost dispergiranja v vodnih medijih. Sicer pa je zaenkrat mehanizem vezave fitinske kisline s proteini zelo malo poznan. Izjema je le povezava med hemoglobinom in inozitolfosfatom (Hidvegi in Lasztity, 2003).

#### **2.4.5 Količina zaužite fitinske kisline s hrano**

V zahodnih državah so žita, ki jih človek zaužije s hrano, glavni viri fitinske kisline. V državah v razvoju pa jo ljudje zaužijejo največ s stročnicami. Količina zaužite fitinske kisline je v različnih državah zelo različna. Iz preglednice 5 je razvidno, da največ fitinske kisline na dan zaužijejo v Nigeriji, in sicer 2100 mg fitinske kisline, najmanj pa na Švedskem, kjer zaužijejo komaj 180 mg fitinske kisline na dan.

Preglednica 5: Povprečne količine zaužitega fitinske kisline v različnih državah (Plaami, 1997)  
Table 5: The amount of consumed phytic acid in different countries (Plaami, 1997)

Država	Fitinska kislina (mg/dan)
ZDA	750
Italija	219
Švedska	180
Nigerija	2100
Velika Britanija	700

#### 2.4.6 Vsebnost fitinske kisline v žitih in drugih rastlinskih surovinah

Iz preglednice 6 vidimo, da je pšenici največa vsebnost fitinske kisline v alevronskih zrnih (90 %), nekaj pa tudi v kalčku (10 %). Alevronska zrna vsebujejo dva tipa vključkov, in sicer globoide, ki vsebujejo večjo količino fitatov in protein-ogljikohidratna telesca (Wu in sod., 2010).

Preglednica 6: Vsebnost fitinske kisline (g/100 g) v različnih morfoloških delih nekaterih žit (Lasztity in Lasztity, 1990)

Table 6: Phytic acid content (g/100g) in different morfogical parts of some cereals (Lasztity and Lasztity, 1990)

Vrsta žita	Morfološki del	Vsebnost fitinske kisline (g/100 g)
Pšenica	endosperm	0,001-0,01
	kalček	0,86-1,35
	aleuronska plast	0,91-1,42
Koruza	endosperm	0,01-0,03
	kalček	0,72-1,78
	perikarp	0,05-0,19
Riž	endosperm	0,004
	kalček	0,98
	perikarp	0,95

V preglednici 7 so prikazane vsebnosti fitinske kisline v različnih surovinah in živilih. Naš namen je bil primerjati podatke o vsebnosti fitinske kisline različnih avtorjev.

Preglednica 7: Vsebnost fitinske kisline v različnih živilih (g/100 g) (Schmandke, 2007; Ryden in Selvendran, 1993; Lasztity in Lasztity, 1990)

Table 7: Content of phytic acid in different types of food (g/100 g) (Schmandke, 2007; Ryden and Selvendran, 1993; Lasztity and Lasztity, 1990)

Vrsta	Fitinska kislina (g/100 g suhe snovi) (Schmandke, 2007)	Fitinska kislina (g/100 g suhe snovi) (Ryden in Selvendran, 1993)	Fitinska kislina (g/100 g suhe snovi) (Lasztity in Lasztity, 1990)
Sezamovo seme	4,71	4,7	/
Sezamova moka	5,18	/	/
Soja	/	1,0-1,5	/
Sojina semena	1,00-1,50	/	/
Sojina moka	1,40-1,60	/	/
Bob	0,40-1,10	/	/
Beli fižol	0,55-1,05	/	/
Temni fižol	/	0,7-1,6	/
Grah	1,20	1,2	/
Čičerika	0,338	/	/
Črna čičerika	/	/	/
Zelena čičerika	/	/	/
Seme bombaževca	/	2,9	/
Seme oljne repice	/	2-4	/
Laneno seme	0,73	/	/
Lešnik	/	0,7	/
Mandelj	/	1,3	/
Pšenica	0,62-1,35	0,8-1,2	/
Pšenični polnozrnati kruh	0,33-0,56	/	0,56
Pšenični beli kruh	0,02-0,03	/	0,03
Pšenični keksi	/	/	0,37-0,58
Pšenični otrobi	3,61	/	3,41
Pšenični otrobi iz mehke bele pšenice	/	/	5,03
Pšenični otrobi iz trde rdeče pšenice	/	/	6,68
Pšenični otrobi iz durum pšenice	/	/	2,80
Pšenični kalčki	1,47	/	/
Pšenični gluten	2,13	/	/
Rž	0,97	/	/
Rženi kruh	0,25-0,41	/	0,41
Rženi kruh z otrobi	0,16	/	/
Ječmen	0,97-1,16	1,0-1,2	/
Oves	0,79-1,01	/	/
Koruza	0,89-0,99	0,9-1,0	/
Koruzni kruh	/	/	1,36
Riž nebrušen	0,89	0,9	/

Legenda: / - ni podatka

#### 2.4.7 Vpliv tehnoloških postopkov predelave na vsebnost fitinske kisline

Nekateri procesi, kot so namakanje, kaljenje, kuhanje in fermentacija, imajo za posledico razgradnjo fitatov v hrani (Magala in sod., 2015). Razgradnja fitatov v hrani se zgodi pri povečanju aktivnosti naravno prisotnega encima za razgradnjo fitatov v rastlinah in mikroorganizmih. Fitati med procesom predelave niso v celoti hidrolizirani z endogenimi fosfatazami rastlin in mikroorganizmov, kar je odvisno od količine fitaz v rastlinah in mikroorganizmih in od lastnosti encimov, kot so proteinska stabilnost, pH vrednost in optimalna temperatura, ki je potrebna za degradacijo fitatov (Konietzny in Greiner, 2004).

Namakanje zrn stročnic in žitnih zrn je kot predpriprava za vse nadaljnje procese, ki trajajo različno dolgo. Proces izboljša aktivnost naravno prisotnih fitaz v žitih in stročnicah. Med procesom namakanja je hidroliza fitatov odvisna od T in pH vrednosti (Greiner in Konietzny, 2009).

Med kaljenjem žit in stročnic prihaja do opaznega povečanja razgradnje fitatov (Greiner in sod., 2013). Če pa so žitna semena zmlata in če je namakanje izvedeno pod optimalnimi pogoji, pride do popolne razgradnje fitatov, razen pri ovsu, za katerega velja, da ima nižjo fitazno aktivnost od drugih žit, kar otežuje redukcijo fitata (Kumar in sod., 2010).

Pri tehnoloških postopkih, kjer se uporablja visoka temperatura, se fitati ne razgradijo popolnoma, saj je naravno prisotna fitaza v rastlini termolabilna. Pri kuhanju se vsebnost fitinske kisline zmanjša za 31 %, pri avtoklaviranju pa za 41 % (Magala in sod., 2015). Daljša uporaba visokih temperatur lahko vodi k inaktivaciji endogenih encimov in posledično se fitati ne razgradijo. Da bi lahko izboljšali defosforilacijo fitaze med kuhanjem, moramo dodati eksogene temperaturno obstojne fitaze.

Mlečno kislinska fermentacija vodi k zmanjšanju pH vrednosti. Mlečna in očetna kislina, ki pri tem nastajata, sta ugodni za fitazno aktivnost, kar vodi do znižanja fitata (Kumar in sod., 2010). Magala in sod. (2015) so v članku navedli, da se z daljšim časom fermentacije testa, zmanjša vsebnost fitinske kisline. Po 24 urah fermentacije se vsebnost fitinske kisline zmanjša na 42-58 % začetne vrednosti (Osman, 2004). Sandberg (1994) je odkril, da ima ovseni in rižev kruh, ki je narejen z dodatkom 10 % kislega testa, pH vrednost 4,6 in da je v tem kruhu redukcija fitata med 96 % in 97 %. To kaže na to, da mlečno kislinska fermentacija privede lahko tudi do skoraj popolne razgradnje fitata (Fujita in sod., 2003).

Kumar in sod. (2010) so ugotovili, da dodatek mleka v testo prepreči razgradnjo fitinske kisline med peko kruha.

Proizvajalci se pri pripravi hrane v živilsko predelovalni industriji pri različnih tehnoloških postopkih pogosto poslužujejo tudi eksogenih fitaz, ki zmanjšujejo vsebnost fitata v živilih. Med njimi so zelo razširjeni mikrobnii pripravki fitaz (Greiner in sod., 2013). Zelo močno razgradnjo fitata dosežemo z dodatkom fitaze *Aspergillus niger*, ki so sposobne razgradnje fitata pri visoki temperaturi in v širokem območju pH (Marklinder in sod., 1995).

## 2.4.8 Pozitivni vplivi fitinske kisline

Fitinska kislina je eden od naravnih antioksidantov in preprečuje oksidacijo lipidov, povzročeno s strani hidroksilnih radikalov, katerih nastanek katalizirajo železovi ioni (Fischer in sod., 2014). Fitinska kislina ima sposobnost keliranja večvalentnih kationov:  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , pri čemer so kationi navedeni glede na padajočo stabilnost kelata s fitinsko kislino (Graf in Eaton, 1990). Fitinska kislina lahko kelira  $\text{Fe}^{3+}$ , s čimer preprečuje oksidativne reakcije, pri katerih nastajajo škodljivi hidroksilni in hidroperoksilni radikali, kar nam prikazuje Fentonova reakcija.

Fentonova reakcija:



Dodatek fitinske kisline ribjim jedem, konzervirani morski hrani in mesu, preprečuje oksidacijske procese in razne diskoloracije. Predvsem pa fitinska kislina zavira razvoj WOF (warmed-over flavour) arome. Med kuhanjem se iz mioglobina mesa perutnine, govedine in rib sprostijo precejšnje količine prostega železa, ki se veže s fosfatidiletanolaminom. Ta kompleks pospeši oksidacijo nenasičenih maščobnih kislin in posledica tega je WOF aroma.

Na Japonskem se fitinska kislina zelo pogosto uporablja kot aditiv za zaščito sojinega olja, mesa in ribjih past (Lee in Hendricks, 1995).

Fitinska kislina se je izkazala kot učinkovito sredstvo pri zdravljenju raka. Predvsem se zmanjša tveganje za pojav raka dojke in debelega črevesja, ker prepreči tvorbo hidroksilnih radikalov in zaustavi celično delitev (Zhou in Erdman, 1995). Prav tako fitinska kislina inhibira razvoj raka jeter (Hurrell, 2003).

Po drugi strani pa so odkrili, da kalijeve in natrijeve soli fitinske kisline lahko pospešijo nastanek karcinoma mehurja in ledvic pri podganah, medtem ko magnezijev fitat in čista fitinska kislina nimata negativnega vpliva (Hirose in sod., 1991).

Fitinska kislina ima varovalni vpliv, ker zavira hidrolizo škroba in poslabša njegovo prebavljivost. Raziskave na živalih in ljudeh kažejo, da prevelike količine železa v telesu rizično vplivajo na razvoj raka dojk in debelega črevesja (Slavin, 2004).

Fitinska kislina naj bi delovala tudi antikarcinogeno, saj veže železo in s tem prepreči nastanek prostih radikalov.

Dieta z visoko vsebnostjo fitatov pogosto uporabljamo za zdravljenje hiperkalciureje in ledvičnih kamnov (Plaami, 1997). Raziskovali so vpliv diete, ki je vsebovala s fitatom bogate riževe otrobe, na nastanek ledvičnih kamnov in hiperkalciureje. Ker se je pojav



ledvičnih kamnov bistveno zmanjšal, lahko sklepamo, da ima fitinska kislina pozitiven vpliv pri preprečevanju te bolezni (Zhou in Erdman, 1995).

Priporočljiva količina fitinske kisline v hrani, ki je pomembna za zdravje, je 4 g (Thompson, 1994).

Potrebne bodo še številne dodatne preiskave, ki bodo pojasnile mehanizem delovanja mio-inozitol fosfatov in njihovo vlogo v sklopu vlaknin pri inhibiciji izkoristljivosti mineralov in preprečevanju določenih bolezni (Plaami, 1997).

#### **2.4.9 Analizne metode za določanje fitinske kisline**

Za merjenje fitinske kisline se uporabljajo različne metode, pri katerih vsebnost fitinske kisline izmerimo direktno v ekstraktu ali oborini in pa indirektno preko rezidualnega fosforja ali železa v supernatantu. Obarjalna in ionsko izmenjevalna metoda sta manj specifični, saj z njima izmerimo večje vsebnosti fitinske kisline, ker ne ločujeta IP6 od nižjih inozitol fosfatov (Dost in Tokul, 2006). Za predelana živila večinoma uporabljamo HPLC metodo in pa obarjalno metodo za nepredelana živila (Coulibaly in sod., 2011).

Obarjalne metode ločimo na neposredne metode, kjer se oborina fitata odstrani in v njej določa fosfor ali inozitol in na posredne metode, pri katerih se za obarjanje fitata doda presežek železovega klorida in se fitinska kislina izmeri posredno preko prebitnega fosforja ali železa v supernatantu (Camire in Clydesdale, 1982; Reichwald in Hatzack, 2008). Pri obarjalni metodi vzorec ekstrahiramo s klorovodikovo ali trikloroacetno kislino (TCA). Pri tem preidejo v kislino topne sestavine in inozitol fosfati v raztopino, medtem ko se ostale makromolekule oborijo. Temu sledi obarjanje fitinske kisline z  $\text{Fe}^{3+}$  ioni v razredčeni kisli raztopini ter direktno merjenje fosforja, inozitola ali železa v oborini. Vendar je pomanjkljivost obarjalnih metod ta, da se poleg inozitol heksafosfatov oborijo tudi ostale sestavine, ki vsebujejo fosfor, in jih tako tudi izmerimo kot fitinsko kislino. Zaradi tega predpostavimo, da je edini vir fosforja fitinska kislina in da le ta tvori oborino z železovimi ioni. Ugotovljeno je bilo, da vsi inozitol fosfati od di do heksafosfata tvorijo železove komplekse. Poleg tega so mono, di in trifosfati precej bolj topni in se kvantitativno ne oborijo, zato jih po tej metodi ne določimo (Sandberg in Ahderinne, 1986; Peng in sod., 2009).

Metoda za določanje zelo majhnih vsebnosti fitinske kisline (<0,2 %) je anionsko izmenjevalna HPLC metoda (Graf in Dintzis, 1982). Primerna je za separacijo in za kvantitativno merjenje inozitol tri, tetra, penta in heksafosfatov. Metoda vključuje ekstrakcijo inozitol fosfatov s HCl, separacijo inozitol fosfatov z anionsko izmenjevalno kromatografijo in HPLC metodo. Vrednosti za fitinsko kislino, ki jih dobimo s HPLC analizo, so manjše od tistih, ki jih dobimo z obarjalnimi metodami, saj pri obarjalnih metodah pride do soobarjanja ostalih inozitol fosfatov. Vendar lahko tudi pri tej metodi dobimo previsoke rezultate, če so prisotni ostali nižji fosfati (IP3-5) in adenzin trifosfat (Ryden in Salvendran, 1993). Sicer sta metoda in oprema za njeno izvajanje zelo dragi in se redko uporablja (Peng in sod., 2009).

Pogosto se uporabljajo hitrejšje spremenjene posredne metode za merjenje fitinske kisline v žitih in žitnih izdelkih, ki sta jih predstavila Haug in Lantzsch (1983). V vzorec se doda presežek  $\text{Fe}^{3+}$  znane vsebnosti. Po izmerjeni zmanjšani vsebnosti železa v supernatantu (spektrofotometrično z 2,2-bipirimidinom) se izmeri vsebnost fitinske kisline v vzorcu (Haug in Lantzsch, 1983; Peng in sod., 2009). V naši nalogi smo fitinsko kislino izmerili po tej metodi.

Za spremljanje hidrolize fitata med fermentacijo testa in za merjenje fitata v obdelani hrani se uporablja bližnja infrardeča spektroskopija (NIR). S to metodo izmerimo fitinsko kislino in inozitol fosfate z nižjim številom fosfatnih skupin (Plaami, 1997; Peng in sod., 2009).

Med natančne, hitre in zanesljive metode spada tudi sinhrona fluorescenčna spektrometrija, ki jo je objavil Chen in sod. (2009). Metoda je osnovana na oblikovanju ternarnih kompleksov fitata, 1,10-fenantrolina in  $\text{Fe}^{3+}$ .

Med novejšimi metodami je enostavna metoda merjenja z biosenzorji, ki omogočajo hitro kvantitativno merjenje fitinske kisline. Amperometrični biosenzor fitinske kisline je osnovan na PCS hidrogel co-imbilizirani fitazi in piruvat oksidazi (POD) na platinasti elektrodi, s katerim lahko hitro kvantitativno izmerimo fitinsko kislino in fitazo. Encimska hidroliza fitinske kisline vodi do anorganskega fosfata. Vsebnost fitata je proporcionalna vsebnosti vodikovega peroksida, ki se proizvaja pri encimski reakciji. Vodikov peroksid se oksidira pri 0,6 V Ag/AgCl na površini elektrode. Za merjenje fitaze je razvit fitazni biosenzor z imobilizirano piruvat oksidazo. Merjenje fitaze je osnovano na indikaciji fosfatnih ionov, sproščenih v encimski hidrolizi fitinske kisline. Delež fosfatnega iona je proporcionalen koncentraciji fitaze. Te metode so primerne za merjenje fitinske kisline v tehnološko neobdelanih izdelkih (Mak in sod., 2004).

### **3 MATERIAL IN METODE**

Eksperimentalni del magistrske naloge smo opravili na Katedri za tehnologije, prehrano in vino, Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana. Pripravili smo kruhe po različnih tehnoloških postopkih iz različnih osnovnih surovin in v vzorcih iz posameznih proizvodnih faz izmerili vsebnost fitinske kisline.

#### **3.1 MATERIALI**

##### **3.1.1 Pšenica**

Za izdelavo preučevanih vrst kruha smo uporabili naslednje tipe moko: pšenično belo moko (tip 500), pšenično črno moko (tip 1100) in polnozrnato pšenično moko. Moko so pripravili v Žito PC Intes Maribor. Vse tri vrste moke so bile pripravljene iz istega lota pšenice, s čimer smo zagotovili enako izhodiščno surovino in izključili vpliv drugih dejavnikov (sorta, izvor). V preglednici 8 so prikazane vrednosti parametrov pšenice, ki jih običajno analizirajo v mlinskih laboratorijih.

Preglednica 8: Izmerjene vrednosti parametrov v vzorcu pšenice (Analizni list vhodne kontrole pšenice, mešanica št.I, c 105 – c 108, 2006)

Table 8: Measured values of parameters in the sample of wheat (Analizni list vhodne kontrole pšenice, 2006)

Lastnost oziroma parameter	Izmerjene vrednosti
Klenost (%)	72,25
Voda (g/100 g)	11,7
Hektoliterska masa (kg/hl)	83,10
Pepel/s.s. (%)	1,816
Primesi skupno	2,89
Organske nečistoče (%)	0,09
Organske bele primesi (%)	2,42
Organske črne primesi (%)	0,38
Sedimentacija (ml)	34
Beljakovine/s.s. (%)	13,6
Vlažni lepek 5/14 % vode (%)	28,0
Vpijanje (%)	62,3
Razvoj (min.)	6,2
Stabilnost (min.)	9,3
Omeščanje 10' (FE)	19
Farinografsko kakovostno število	118
Kvalitetno število Hankoczy	79,0
Meljava (%)	52,7
Encimska aktivnost - FN	352

### 3.1.2 Moka

Za vse tri vrste moka, ki smo jih uporabili kot osnovno surovino v naši raziskavi, smo iz laboratorija ŽITO MLINI Ljubljana dobili rezultate za osnovne parametre kakovosti, ki so podani v preglednici 9.

Preglednica 9: Parametri kakovosti za belo, črno in polnozrnatno moko (Analizni list moka, 2006)

Table 9: Quality parameters for three types of flour (Analizni list moka, 2006).

Parametri kakovosti	Pšenična bela moka (tip 500)	Pšenična črna moka (tip 1100)	Pšenična polnozrnatna moka
Suha snov (g/kg)	854,8	858,2	862,60
Voda (%)	14,52	14,18	11,9
Pepel/s.s (%)	0,535	0,869	1,828
Vlažni lepek (%)	31,4	33,2	29,8
Suhi lepek (%)	10,6	10,9	9,5
Kakovost lepka – GQI	89	82	63
Kislinska stopnja	1,88	2,06	1,74
Encimska aktivnost – FN	366	352	385

### 3.1.3 Kvas

Kvas je organska snov, ki jo sestavlja ena ali več vrst kvasovk. Kvasovke proizvajajo encime, ki povzročajo fermentacijo. Pri našem poskusu je bil uporabljen industrijski pekovski kvas proizvajalca Lasaffre. Sestavine kvasa so voda in kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae*.

Industrijski kvas se pridobiva iz zmesi melase, fosfatov in kislin, kateri je treba dodati inokulum in nato pustiti, da se razmnožuje pri 25 °C. Po končani fermentaciji je treba maso zaliti in precediti, nato posušiti in embalarati za prodajo. Ta kvas se potem uporablja pri izdelovanju testa za kruh in sladice. Veliko se uporablja tudi v dietetiki zaradi izdatne vsebnosti vitaminov B in mineralnih soli. Za živalsko prehrano se proizvaja posebne vrste kvas iz melase in celuloznih bisulfitov ter specifičnih sevov kvasovk.

### 3.1.4 Kislo testo

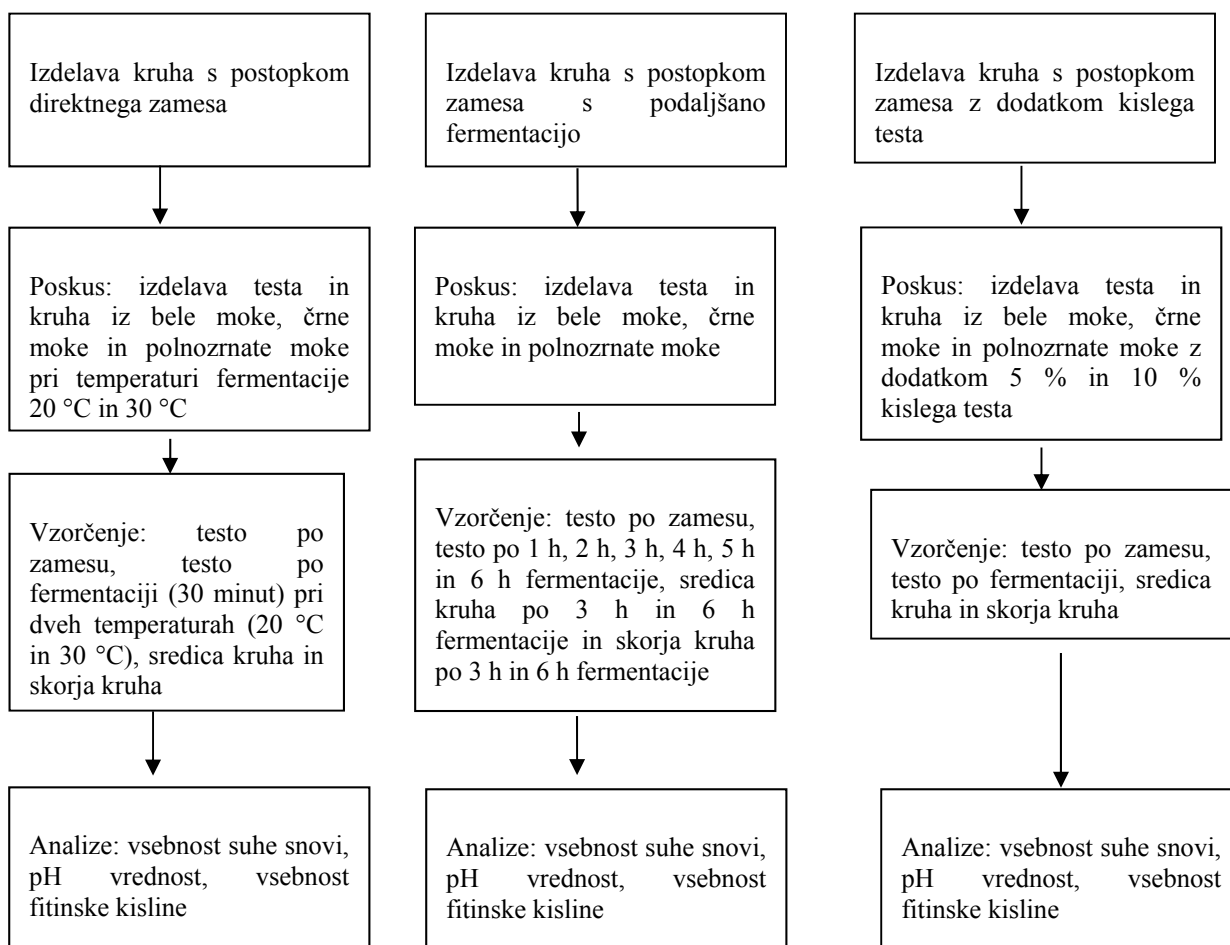
Za pripravo kislega testa smo uporabili starter kulturo La1, proizvajalca Lasaffre (Francija). Starter kultura je sestavljena iz 50 % pšenične bele moke, mlečno-kislinskih bakterij (*Pediococcus acidilacti*) in 3-13 % industrijskega kvasa (*Saccharomyces cerevisiae*). Kislo testo smo izdelali iz 55,25 % moke, 44,50 % vode in 0,25 % starter kulture, kar je znašalo 0,5 % preračunano na moko. pH kislega testa je bil 4,1.

Embalažne materiale, ki smo jih uporabili za izdelavo vrečk, nam je dobavilo podjetje AMBA d.o.o. Čopova ulica 24, 3000 Celje. Za zamrzovanje vzorcev smo uporabili tekoči dušik. Dobavitelj dušika je bilo podjetje Messer Slovenija d.o.o., Jugova 20, Ruše.

## 3.2 METODE DELA

Izvedbo poskusov ter merjenje vsebnosti suhe snovi, pH vrednosti in vsebnosti fitinske kisline smo opravili na Katedri za tehnologije, prehrano in vino, Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta.

Poskusi za magistrsko nalogo so bili zasnovani na izdelavi kruha iz pšenične bele moke, pšenične črne moke in polnozrnate pšenične moke, ki smo jih dobili iz iste pšenice. Kruh smo izdelali z različnimi tehnološkimi postopki (izdelava kruha s postopkom direktnega zamesa, s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo in s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa). Vzorce iz različnih faz tehnološkega procesa smo zamrznili s tekočim dušikom in jih shranili v zamrzovalnik. V vzorcih testa takoj po zamesu, testa v različnih fazah fermentacije ter v sredici in skorji pečenega kruha smo izmerili vsebnost suhe snovi, pH vrednost in vsebnost fitinske kisline. Poskus oziroma analize smo izvedli v dveh ponovitvah in v dveh paralelkah.



Slika 3: Shema poskusa  
Figure 3: Experiment chart

### 3.2.1 Izdelava kruha s postopkom direktnega zamesa

Iz bele, črne in polnozrnate moke smo izdelali tri vrste kruha po postopku direktnega zamesa pri temperaturi fermentacije 20 °C in nato še pri temperaturi fermentacije 30 °C. Testo smo pripravili po naslednji recepturi:

- moka 1000 g,
- voda 680 g,
- kvas 20 g,
- sol 25 g,
- sladkor 20 g.

V kotel mešalca smo dali najprej moko, ki smo ji dodali kvas, sladkor, sol ter vodo. Mešali smo 6 minut pri manjši hitrosti in 3 minute pri večji hitrosti mešalca. Merili smo tudi temperaturo testa, ki smo jo uravnavali na 20 °C oziroma pri drugem poskusu na 30 °C. Po končanem mešanju smo odvzeli vzorec za analize.

Testo je nato v kotlu počivalo 20 minut, nakar smo del testa oddelili in ga stehali (500 g) ter ga dali v modele. Modele smo položili v vzhajalno komoro, kjer je testo fermentiralo še 30 minut. Temperatura fermentacije je bila v prvem primeru 20 °C, v drugem primeru pa 30 °C. Po zaključeni fermentaciji smo odvzeli vzorec testa za analizo. Modele smo nato dali v peč, kjer se je testo peklo pri 220 °C 30 minut. Po končani peki smo ponovno vzeli vzorec za nadaljnje analize, in sicer ločeno skorjo in sredico. Vse vzorce smo zamrznili s tekočim dušikom in jih shranili do analize v zamrzovalniku pri -18 °C.

### 3.2.2 Izdelava kruha s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo

Iz bele, črne in polnozrnate moke smo izdelali tri vrste kruha po postopku zamesa s podaljšano fermentacijo. Testo smo pripravili po naslednji recepturi:

- moka 2000 g,
- voda 1350 g,
- kvas 40 g,
- sol 50 g,
- sladkor 40 g.

V kotel mešalca smo dali najprej moko, ki smo ji dodali kvas, sladkor, sol ter vodo. Mešali smo 6 minut pri manjši hitrosti in 3 minute pri večji hitrosti. Merili smo tudi temperaturo testa, ki smo jo uravnavali na 20 °C. Po končanem mešanju smo odvzeli vzorec za analizo. Testo je nato v kotlu počivalo 20 minut, nakar smo del testa oddelili in ga stehali (500 g) ter ga dali v modele. Testo je v modelih fermentiralo v vzhajalni komori 30 minut. Temperatura v vzhajalni komori je bila 20 °C. Testo smo pustili fermentirati 6 ur, pri čemer smo po vsaki uri fermentacije odvzeli vzorec za analizo. Kruh smo spekli iz testa, ki je fermentiralo 3 ure in iz testa, ki je fermentiralo 6 ur. Pekli smo 30 minut na 220 °C.

Po končani peki smo ponovno vzeli vzorec za nadaljnje analize, in sicer ločeno skorjo in sredico. Vse vzorce smo zamrznili s tekočim dušikom in jih do analize shranili v zamrzovalniku pri -18 °C.

### 3.2.3 Izdelava kruha s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa

Iz bele, črne in polnozrnate moke smo izdelali tri vrste kruha s postopkom dodatka kislega testa, in sicer v prvem primeru s 5 % dodatkom kislega testa in v drugem primeru z 10 % dodatkom kislega testa.

Testo z dodatkom 10 % kislega testa smo izdelali po naslednji recepturi:

- moka 900 g (oziroma 950 g moke pri 5% dodatku kislega testa),
- kislo testo 100 g (oziroma 50 g kislega testa pri 5 % dodatku kislega testa),
- voda 680 g,
- kvas 20 g,
- sol 25 g,
- sladkor 20 g.

V kotel mešalca smo dali moko, ki smo jih dodali kislo testo, kvas, sladkor, sol in vodo. Mešali smo 6 minut pri manjši hitrosti in potem 3 minute pri večji hitrosti mešalca. Merili smo tudi temperaturo testa, ki smo jo uravnavali na 20 °C. Po končanem mešanju smo odvzeli vzorec za analizo. Testo je v kotlu počivalo 20 minut, nakar smo ga oddelili in ga stehali (500 g) ter ga dali v modele. Modele smo nato položili v vzhajalno komoro, kjer je testo v modelu 30 minut fermentiralo pri temperaturi 20 °C. Po zaključeni fermentaciji smo odvzeli vzorec testa za analizo. Modele smo nato dali v peč, kjer se je testo peklo pri 220 °C 30 minut. Po končani peki smo odvzeli vzorce za nadaljnje analize, in sicer ponovno ločeno sredice in skorje. Vzorce smo zamrznili s tekočim dušikom in jih nato do nadaljnjih analiz shranili v zamrzovalniku pri -18 °C.

Vse vzorce, ki smo jih odvzeli v posameznih fazah izdelave kruha po zgoraj navedenih postopkih, smo izdelali na enak način. 5 g vzorca smo dali v terilnico in prelili s tekočim dušikom. Vzorce smo shranili v vrečke iz polietilena, jih označili in shranili v zamrzovalnik. Vsem vzorcem smo izmerili delež suhe snovi, pH vrednost in vsebnost fitinske kisline.

### 3.2.3.1 Priprava kislega testa

Kislo testo za kruh iz bele moke smo izdelali iz 1 kg bele moke, 1,5 l vode s temperaturo 32-35 °C in 1 g starter kulture La1.

Kislo testo za kruh iz črne moke smo pripravili iz 1 kg črne moke, 1,5 l vode in 1 g starter kulture (La1).

Kislo testo za kruh iz polnozrnate moke smo izdelali iz 1 kg polnozrnate moke, 1,5 l vode in 1 g starter kulture (La1).

Temperatura vode je bila pri vseh pripravah kislega testa enaka. Vse sestavine kislega testa smo v mešalniku mešali od 3 do 5 minut. Kislo testo smo prenesli v kovinske posode-fermentatorje s pokrovi, v katerih je potekala fermentacija 18-20 ur pri sobni temperaturi. Po zaključeni fermentaciji smo kislo testo shranili do zamesa testa (en teden) pri temperaturi 4 °C. Vrednost pH kislega testa je bila med 3,9-4,1.

## 3.2.4 Kemijske analize

### 3.2.4.1 Merjenje vsebnosti suhe snovi

Vsebnost vode smo izmerili z gravimetrično metodo in sicer s sušenjem vzorca v sušilniku pri 105 °C do konstantne mase (Plestenjak in Golob, 1995). Tehtiče smo že vnaprej očistili in nato stehali. Tehtiči so bili pred tehtanjem vsaj eno uro na 105 °C, ter ohlajeni v eksikatorju. Približno 5 g ( $\pm 0,001$  g) homogeniziranega vzorca (testa, narezane sredice ali narezane skorje kruha) smo odtehtali v tehtič ter ga pokrili in stehali skupaj s pokrovčkom. Tehtič smo delno odkrili in vzorce sušili pri 105 °C najprej 90 minut in jih



ohlajene stehtali. Vzorce smo ponovno dali v sušilnik in sušili še 80 minut. Tehtiče z vzorci smo ohladili v eksikatorju in jih nato ponovno stehtali. Iz razlike v masi smo s pomočjo enačbe 3 izmerili vsebnost vode (%) v vzorcu.

$$\text{vsebnost vode} = (a-b) \cdot 100 / c \text{ (g/100 g)} \quad \dots(3)$$

a – masa tehtiča in vzorca pred sušenjem,

b – masa tehtiča in vzorca po sušenju,

c – masa vzorca.

Oprema in pribor:

- analitska tehtnica AEA 220A Mettler Toledo,
- sušilna omara Termoproc Sob 5250.135 PID,
- stekleni tehtič,
- sušilnik,
- žlička,
- klešče za prijemanje tehtičev.

#### 3.2.4.2 Merjenje pH vrednosti

pH vrednost vzorcev smo merili s potenciometrično metodo na pH metru (Mettler Toledo). Priprava vzorca za merjenje pH vrednosti je potekala po naslednjem postopku: v čisto erlenmajerico smo odtehtali 5 g vzorca (testa oz. razrezane sredice ali razrezane skorje kruha), dolili 100 ml destilirane vode (25 °C) in premešali tako, da smo dobili homogeno suspenzijo, ki smo jo 30 minut občasno mešali. Nato je suspenzija še 10 minut mirovala, da so se trdi delci usedli. V stekleno čašo smo odlili bistro raztopino in vanjo potopili elektrodo za merjenje pH. Elektrodo smo predhodno umerili s pufrno raztopino najprej pri pH 4,00 in nato še pri pH 9,00, oboje pri 25 °C. Uporabili smo metodo AOAC 943.02 (AOAC Official Method 943.02, 1999).

Oprema in pribor:

- elenmajerica 100 ml,
- čaša 250 ml,
- pH meter DL50 Graphix (Mettler Toledo).

Reagenti in kemikalije:

- destilirana voda,
- pufer pH=4 – 6.2307.100 (Metrohm Switzerland),
- pufer pH= 9 – 6.2307.120 (Metrohm Switzerland).

### 3.2.4.3 Merjenje vsebnosti fitinske kisline

Pri našem poskusu smo fitinsko kislino izmerili po danski modificirani metodi (Haug in Lantzch, 1983). Gre za indirektno spektrofotometrično metodo za merjenje fitinske kisline v žitih in žitnih izdelkih. Ekstrakcija fitinske kisline iz vzorcev poteka s pomočjo klorovodikove kisline, sledi obarjanje fitinske kisline v razredčeni kisli raztopini. Za obarjanje fitinske kisline se doda presežek raztopine železovega klorida, pri čemer nastajajo stabilni in netopni železo fitatni kompleksi. Prebitek železovih ionov izmerimo spektrofotometrično. Vsebnost fitinske kisline izmerimo posredno preko prebitnega železa v supernatantu.



Slika 4: Merjenje vsebnosti fitinske kisline  
Figure 4: Determination of phytic acid

#### Oprema in pribor:

- tehtnica AEA 220A (Mettler Toledo),
- tehtnica AB 204-S (Mettler Toledo),
- ultrazvočna kopel OMNILAB 950
- prenosna centrifuga,
- merilne steklene bučke (50 ml, 100 ml),
- merilni valji, čaše,
- vodna kopel,
- avtomatske pipete Transferpette-Brand (Brand),
- steklene epruvete za centrifugiranje z zamaškom in ovalnim dnom,
- stresalnik za epruvete IKA VIBRAX-VXA,
- spektrofotometer SPEKOL 20 MA 9508,
- ependorfke (1,5 ml) (Eppendorf),
- parafilm,
- kivete.

#### Reagenti in kemikalije:

- 0,4 M HCl,
- raztopina  $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  v HCl,
  - 0,1 g  $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  (Merck),
  - dopolnimo do 100 ml z 0,4 M HCl,
- raztopina bupirimidina v HCl,
  - 1 g bupirimidina (2,2' bipyridine) (Merck),
  - 130  $\mu\text{l}$  tioglikolne kisline (Merck),
  - dopolnimo do 100 ml z 0,2 M HCl
- standard fitinske kisline  $\text{C}_6\text{H}_{16}\text{O}_{24}\text{P}_6 \text{K}_2$  (Sigma-Aldrich).

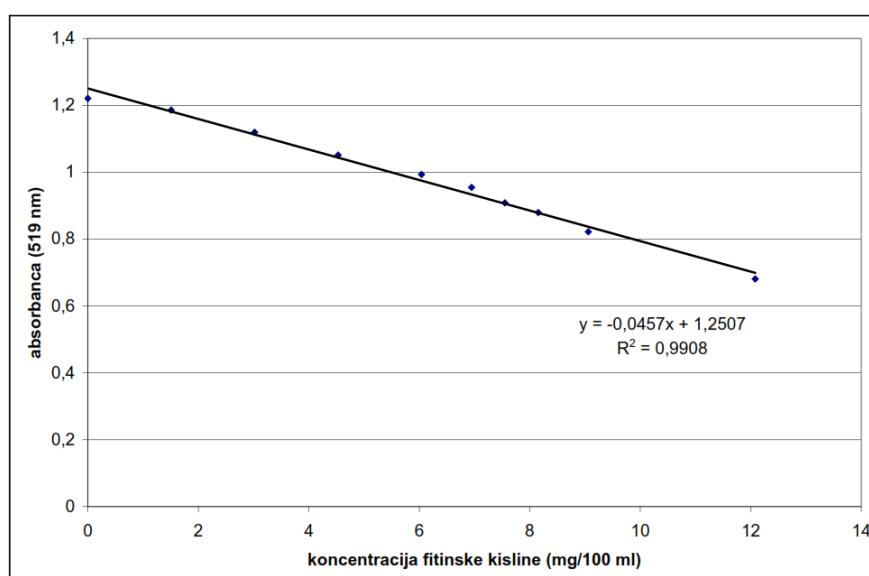
#### Postopek:

V 50 ml bučko smo odtehtali 2,5 g zmlatega vzorca in dodali cca 25 ml 0,4 M HCl. Zmes smo dobro premešali in dopolnili do oznake z 0,4 M HCl. Vzorce smo 2 uri ekstrahirali v ultrazvočni kopeli. Vsak vzorec smo ekstrahirali v dveh paralelkah. Po končani ekstrakciji smo vzorce prelili v 50 ml centrifugirke in centrifugirali 10 min pri 4.000 obratih/min. Po končanem centrifugiranju smo supernatant odlili v čašo in čašo pokrili s parafilmom. Iz vsakega vzorca smo v stekleno epruveto odpipetirali 1,0 ml supernatanta in dodali 2,0 ml raztopine amonij železovega sulfata. Vsebino epruvete smo pokrili s plastičnim zamaškom in dobro premešali na stresalniku za epruvete. Vzorčke smo s stojalom postavili v predhodno ogreto vodno kopel in jih segrevali 45 min na 100 °C. Po končanem segrevanju smo vzorce 15 min hladili na ledu. Ohlajene vzorce smo ponovno dobro premešali in jim dodali 3,0 ml bupirimidina. Epruvete smo dobro zaprli, premešali in jih pustili na sobni temperaturi 15 min. Po 15 min smo vzorce prelili v kivete (debelina I) in izmerili absorbanco pri 519 nm.

S pomočjo dobljenih vrednosti absorbance in iz enačbe umeritvene krivulje smo izračunali koncentracijo fitinske kisline v vzorcu. Končni rezultat smo izrazili v g/100 g s.s.

### Priprava umeritvene krivulje

V 25 ml bučkah smo pripravili standard fitinske kisline v desetih različnih koncentracijah. Različne koncentracije smo pripravljali s tehtanjem točno določene količine standarda fitinske kisline, nato pa smo do oznake dopolnili z 0,4 M HCl. V steklene epruvete smo odpipetirali 1,0 ml standarda in 2,0 ml raztopine amonij železovega sulfata. Nadalje smo postopali enako kot pri postopku merjenja fitinske kisline. Za vsako koncentracijo standarda smo pripravili dve paralelki.



Slika 5: Umeritvena krivulja za določanje fitinske kisline  
Figure 5: Calibration curve for determination of phytic acid

### 3.2.5 Statistične metode

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili programski paket SAS/STAT (SAS Software, Version 8.01, 1999, Cary, SAS Institute Inc). Osnovne statistične parametre smo izračunali s proceduro MEANS, s proceduro UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve. Pri obdelavi podatkov s statističnim modelom 1 smo uporabili proceduro GLM (General Linear Model), pri primerjavi temperatur fermentacije (20 °C in 30 °C) in različnega dodatka kislega testa (5 % in 10 %) pa proceduro *t*-testa v parih (T-test paired).

$$\text{model 1: } y_{ijk} = \mu + K_i + P_j + e_{ijk}$$

$$\text{model 2: } y_{ijk} = \mu + M_i + P_j + e_{ijk}$$

$y_{ijk}$  = opazovana vrednost

$\mu$  = povprečna vrednost

$K_i$  = vpliv *i*-te določitve; *i*= po zamesu, po fermentaciji, v sredici kruha, v skorji kruha

$M_i$  = vpliv *i*-te moke; *i*= bela, črna in polnozrnata moka

$P_j$  = vpliv *j*-te proizvodne ponovitve; *j*=1, 2

$e_{ijk}$  = ostanek

Duncanov test je zaključni test v analizi variance, s katerim ugotavljamo ali se skupine vzorcev med seboj statistično značilno razlikujejo v obravnavanih parametrih.

Pearsonove korelacijske koeficiente med merjenimi parametri smo izračunali z uporabo procedure CORR. Za  $r$  - Pearsonov korelacijski koeficient, velja naslednje:

$r > 0,75$  spremenljivki sta v koleraciji

$r > 0,80$  spremenljivki sta v visoki koleraciji

$r > 0,90$  spremenljivki sta v zelo visoki koleraciji

## 4 REZULTATI

V poglavju Rezultati so prikazani rezultati raziskave, ki smo jih razdelili v sklope glede na različne postopke izdelave oz. zamesa kruha. V osnovni surovini in v vseh analiziranih vzorcih (testo po zamesu, testo po fermentaciji, sredica kruha in skorja kruha) iz vseh treh postopkov izdelave kruha smo izmerili vsebnost suhe snovi, pH vrednost in vsebnost fitinske kisline. Vse podatke smo statistično obdelali in rezultate prikazali v preglednicah.

### 4.1 VSEBNOST FITINSKE KISLINE V MOKAH

V preglednici 10 so prikazani rezultati merjenja vsebnosti fitinske kisline v osnovnih surovinah za izdelavo kruha (bela moka tip 500, črna moka tip 1100 in polnozrnata moka).

Preglednica 10: Vsebnost fitinske kisline v mokah (g/100 g suhe snovi)  
Table10: Content of phytic acid in flours (g/100 g dry matter)

Vrsta moke	Vsebnost fitinske kisline (g/100 g s.s.)
bela moka tip 500	0,44
črna moka tip 1100	0,57
polnozrnata moka	0,95

Rezultati merjenja vsebnosti fitinske kisline so pokazali, da je polnozrnata moka vsebovala največ fitinske kisline, vsebnost v črni moki tip 1100 je bila manjša, najmanj pa je fitinske kisline vsebovala bela moka tip 500.

### 4.2 IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM DIREKTNEGA ZAMESA

V preglednici 11 so prikazani rezultati merjenja vsebnosti suhe snovi, pH vrednosti in vsebnosti fitinske kisline v testu takoj po zamesu, v testu po fermentaciji pri dveh temperaturah (20 °C in 30 °C) ter v sredici in skorji kruha. Testo in kruh smo pripravili iz treh vrst mok (bela moka tip 500, črna moka tip 1100 in polnozrnata moka) po postopku direktnega zamesa.

Rezultati merjenja vsebnosti suhe snovi so pokazali, da je bila statistično značilno najmanjša vsebnost suhe snovi v testu takoj po zamesu pri obeh temperaturah fermentacije in pri vseh vrstah mok. Največjo vsebnost suhe snovi smo izmerili v skorji kruha ne glede na vrsto moke in temperature fermentacije. Temperatura zamesa oziroma fermentacije ni pomembno vplivala na vsebnost suhe snovi testa takoj po zamesu, fermentiranega testa in sredice kruha, le pri skorji smo opazili nekoliko večje razlike. V skorji kruha smo izmerili različne vsebnosti suhe snovi med različnima temperaturama fermentacije pri vzorcih kruha, ki smo ga pripravili s črno in polnozrnatno moko. Skorja kruha, ki je bila pripravljena iz pšenične bele moke, je imela enako vsebnost suhe snovi (69,9 %), ne glede na temperaturo fermentacije. Vrsta uporabljene moke za pripravo kruha je v večini faz

izdelave kruha s postopkom direktnega zamesa značilno vplivala na vsebnost suhe snovi. Vzorci, ki smo jih pripravili iz bele moke, so imeli značilno najmanjše vsebnosti suhe snovi praktično v vseh fazah izdelave kruha.

Rezultati pri merjenju pH vrednosti so pokazali, da so bile pH vrednosti značilno najvišje v testu takoj po zamesu. Nižje vrednosti smo izmerili v testu po fermentaciji in še nižje v sredici kruha. Najnižje pH vrednosti smo izmerili v skorji kruha, ne glede na vrsto uporabljene moke in temperaturo fermentacije. Razlike med pH vrednostmi vzorcev iz različnih faz izdelave kruha so bile statistično značilne pri obeh temperaturah fermentacije. Iz rezultatov je tudi razvidno, da je vrsta moke značilno vplivala na pH vrednost vzorcev. Najnižje pH vrednosti so bile izmerjene v vzorcih pripravljenih iz pšenične bele moke, medtem ko so bile najvišje pH vrednosti izmerjene v vzorcih, pripravljenih iz polnozrnate moke. Temperatura fermentacije je imela komaj zaznaven vpliv na pH vrednosti vzorcev.

Rezultati merjenja vsebnosti fitinske kisline so pokazali, da je bila statistično značilno največja vsebnost fitinske kisline v testu takoj po zamesu pri obeh temperaturah fermentacije in pri vseh vrstah moke. Pri fermentaciji pri 20 °C smo v testu iz bele moke izmerili 0,44 g fitinske kisline/100 g s.s., v testu iz črne moke 0,58 g fitinske kisline/100 g s.s. in v testu iz polnozrnate moke 0,95 g fitinske kisline/100 g s.s. Pri fermentaciji pri 30 °C smo v testu iz bele moke izmerili 0,41 g fitinske kisline/100 g s.s., v testu iz črne moke 0,55 g fitinske kisline/100 g s.s. in v testu iz polnozrnate moke 0,91 g fitinske kisline/100 g s.s. Značilno najmanjšo vsebnost fitinske kisline smo izmerili v skorji kruha pri vseh treh vrstah moke in pri obeh temperaturah fermentacije. Vsebnost fitinske kisline se je značilno zmanjševala v vsaki fazi izdelave kruha. Značilno razliko smo izmerili tudi med vsebnostjo fitinske kisline v sredici in skorji kruha.

Pri primerjavi vsebnosti fitinske kisline v različnih fazah izdelave kruha med dvema temperaturama fermentacije smo zaznali trend intenzivnejšega zmanjševanja vsebnosti fitinske kisline pri višji temperaturi fermentacije.

Vrsta uporabljene moke je imela zelo velik statistično značilen vpliv na vsebnost fitinske kisline. Vsi vzorci, pripravljene iz pšenične bele moke, so imeli najmanjšo vsebnost fitinske kisline, medtem ko so imeli vzorci, pripravljene iz pšenične polnozrnate moke, največjo vsebnost fitinske kisline v vseh fazah izdelave kruha. Vsebnost fitinske kisline v testu iz pšenične polnozrnate moke je bila 2,2 krat večja kot pri testu iz bele moke. Skorja kruha, izdelanega iz pšenične polnozrnate moke pri temperaturi fermentacije 20 °C, je imela za 4,3 krat večjo vsebnost fitinske kisline kot skorja kruha izdelanega iz bele moke. Največjo razliko med vsebnostjo fitinske kisline v testu po zamesu in v skorji kruha smo opazili pri beli moki (temperatura fermentacije 30 °C). Po peki smo izmerili samo še 14 % začetne vsebnosti. Najmanjšo razliko smo izmerili pri polnozrnati moki (temperatura fermentacije 20 °C), kjer je skorja po peki vsebovala še 31 % začetne vsebnosti fitinske kisline.

Preglednica 11: Vsebnosti suhe snovi, pH vrednosti in vsebnosti fitinske kisline ( $\bar{x} \pm so$ ) v vzorcih kruha izdelanih s postopkom direktnega zamesa

Table 11: Dry matter contents, pH, and phytic acid contents ( $\bar{x} \pm so$ ) in samples made from three types of flour by the direct breadmaking procedure

Parameter	Temperatura fermentacije (°C)	Faza merjenja	Moka			p <sub>M</sub>
			bela	črna	polnozrnata	
suha snov (g/100 g)	20	zames	46,5±0,09 <sup>d,y</sup>	46,8±0,10 <sup>c,x</sup>	46,8±0,00 <sup>d,x</sup>	0,0003
		fermentacija	46,7±0,08 <sup>c,z</sup>	47,1±0,05 <sup>c,y</sup>	47,2±0,01 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		sredica	47,6±0,13 <sup>b,y</sup>	47,9±0,12 <sup>b,x</sup>	47,9±0,01 <sup>b,x</sup>	0,0003
		skorja	69,9±0,29 <sup>a,x</sup>	70,7±0,94 <sup>a,x</sup>	69,9±0,38 <sup>a,x</sup>	0,1725
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	30	zames	46,3±0,10 <sup>c,z</sup>	46,6±0,14 <sup>d,y</sup>	46,8±0,13 <sup>d,x</sup>	0,0013
		fermentacija	46,6±0,09 <sup>c,z</sup>	46,9±0,09 <sup>c,y</sup>	47,2±0,04 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		sredica	47,5±0,10 <sup>b,y</sup>	47,7±0,05 <sup>b,x</sup>	47,9±0,19 <sup>b,x</sup>	0,0050
		skorja	69,9±0,41 <sup>a,x</sup>	69,0±0,31 <sup>a,y</sup>	69,1±0,10 <sup>a,y</sup>	0,0079
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
pH vrednost	20	zames	5,96±0,013 <sup>a,z</sup>	6,06±0,005 <sup>a,y</sup>	6,35±0,005 <sup>a,x</sup>	<0,0001
		fermentacija	5,90±0,008 <sup>b,z</sup>	6,01±0,006 <sup>b,y</sup>	6,28±0,005 <sup>b,x</sup>	<0,0001
		sredica	5,73±0,005 <sup>c,z</sup>	5,89±0,006 <sup>c,y</sup>	6,18±0,006 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		skorja	5,67±0,014 <sup>d,z</sup>	5,82±0,008 <sup>d,y</sup>	6,14±0,006 <sup>d,x</sup>	<0,0001
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	30	zames	5,94±0,005 <sup>a,z</sup>	6,03±0,005 <sup>a,y</sup>	6,31±0,005 <sup>a,x</sup>	<0,0001
		fermentacija	5,88±0,016 <sup>b,z</sup>	6,01±0,010 <sup>b,y</sup>	6,26±0,008 <sup>b,x</sup>	<0,0001
		sredica	5,73±0,006 <sup>c,z</sup>	5,87±0,008 <sup>c,y</sup>	6,17±0,006 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		skorja	5,65±0,012 <sup>d,z</sup>	5,82±0,008 <sup>d,y</sup>	6,13±0,013 <sup>d,x</sup>	<0,0001
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
fitinska kislina (g/100 g s.s.)	20	zames	0,44±0,008 <sup>a,z</sup>	0,58±0,006 <sup>a,y</sup>	0,95±0,004 <sup>a,x</sup>	<0,0001
		fermentacija	0,37±0,003 <sup>b,z</sup>	0,51±0,010 <sup>b,y</sup>	0,88±0,008 <sup>b,x</sup>	<0,0001
		sredica	0,21±0,004 <sup>c,z</sup>	0,35±0,007 <sup>c,y</sup>	0,72±0,002 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		skorja	0,07±0,002 <sup>d,z</sup>	0,14±0,004 <sup>d,y</sup>	0,30±0,001 <sup>d,x</sup>	<0,0001
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	30	zames	0,41±0,001 <sup>a,z</sup>	0,55±0,005 <sup>a,y</sup>	0,91±0,002 <sup>a,x</sup>	<0,0001
		fermentacija	0,36±0,005 <sup>b,z</sup>	0,50±0,008 <sup>b,y</sup>	0,85±0,002 <sup>b,x</sup>	<0,0001
		sredica	0,19±0,003 <sup>c,z</sup>	0,34±0,006 <sup>c,y</sup>	0,69±0,001 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		skorja	0,06±0,002 <sup>d,z</sup>	0,13±0,005 <sup>d,y</sup>	0,28±0,006 <sup>d,x</sup>	<0,0001
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

$\bar{X}$  – srednja vrednost; so – standardni odklon; p<sub>M</sub>–statistična verjetnost vpliva vrste moke, p<sub>K</sub>–statistična verjetnost vpliva različne določitve; značilnost vpliva: p≤0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; p≤0,01 statistično visoko značilen vpliv; p≤0,05 statistično značilen vpliv; p>0,05 statistično neznačilen vpliv; <sup>x,y,z</sup> skupine z enako črko v indeksu znotraj vrstice (vpliv moke) se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; <sup>a,b,c,d</sup> skupine z enako črko v indeksu znotraj kolone (vpliv določitve) se med seboj statistično značilno ne razlikujejo.



#### 4.3 IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM ZAMESA S PODALJŠANO FERMENTACIJO

V preglednici 12 so prikazani rezultati merjenja vsebnosti suhe snovi, pH vrednosti in vsebnosti fitinske kisline v testu takoj po zamesu, v testu po različnih časih fermentacije (po 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h in 6 h) ter v sredici in skorji kruha, ki smo ga spekli po 3 urah in 6 urah fermentacije. Testo in kruh smo izdelali iz treh vrst moke (bela moka tip 500, črna moka tip 1100 in polnozrnata pšenična moka) s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo. Postopek zamesa s podaljšano fermentacijo smo izvajali pri temperaturi 20 °C.

Rezultati meritev vsebnosti suhe snovi so pokazali, da je bila statistično značilno najmanjša vsebnost suhe snovi v testu takoj po zamesu pri vseh treh vrstah moke. Največjo vsebnost suhe snovi smo izmerili v skorji kruha, ki je fermentiral 6 ur, ne glede na vrsto moke. Tudi v skorji kruha, ki je fermentiral 3 ure, je bilo značilno večja vsebnost suhe snovi kot v sredici kruha in testu takoj po zamesu oz. med fermentacijo, vendar značilno manj kot v kruhu, ki je fermentiral 6 ur, ne glede na vrsto moke. S podaljševanjem časa fermentacije je vsebnost suhe snovi v testu naraščala ne glede na vrsto uporabljene moke.

Vrsta uporabljene moke za pripravo kruha je praktično v vseh fazah izdelave kruha značilno vplivala na vsebnost suhe snovi. Vzorci, ki smo jih pripravili iz bele moke, so imeli značilno najmanjše vsebnosti suhe snovi praktično v vseh fazah izdelave kruha.

Rezultati pri merjenju pH vrednosti so pokazali zelo podoben trend kot pri vzorcih kruha pripravljenega s postopkom direktnega zamesa. pH vrednosti so bile najvišje v testu takoj po zamesu. Značilno nižje pH vrednosti smo izmerili v testu po fermentaciji. S podaljševanjem časa fermentacije so se pH vrednosti v testu zniževale ne glede na vrsto uporabljene moke. V sredici kruha smo izmerili še nižje vrednosti pH (v primerjavi s pH vrednostjo testa po enakem času fermentacije). Najnižje pH vrednosti pa smo izmerili v skorji kruha, ki je fermentiral 6 ur, ne glede na vrsto moke. Tudi v skorji kruha, ki je fermentiral 3 ure, so bile pH vrednosti značilno nižje od pH vrednosti, izmerjenih v sredici enako dolgo fermentiranega kruha.

Tudi pri vplivu moke na pH vrednosti vzorcev smo opazili podoben trend kot pri vzorcih kruha izdelanega s postopkom direktnega zamesa. Vrsta moke je značilno vplivala na pH vrednost vzorcev. Najnižje pH vrednosti so bile izmerjene v vzorcih pripravljenih iz pšenične bele moke, medtem ko so bile najvišje pH vrednosti izmerjene v vzorcih pripravljenih iz pšenične polnozrnate moke. Vzorci pripravljeni iz črne moke so imeli značilno višje vrednosti pH od vzorcev iz bele moke in značilno nižje vrednosti od vzorcev iz polnozrnate moke.

Tudi pri merjenju vsebnosti fitinske kisline v vzorcih, izdelanih s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo, smo opazili podoben trend kot pri vzorcih kruha, izdelanega s postopkom direktnega zamesa. Vsebnost fitinske kisline je bila statistično značilno največja v testu takoj po zamesu pri vseh treh vrstah moke. V testu iz bele moke smo

izmerili 0,43 g fitinske kisline/100 g s.s., v testu iz črne moke 0,57 g fitinske kisline/100 g s.s. in v testu iz polnozrnate moke 0,94 g fitinske kisline/100 g s.s.

Značilno manjše vsebnosti fitinske kisline smo izmerili v testu po fermentaciji. S podaljševanjem časa fermentacije se je vsebnost fitinske kisline zmanjševala ne glede na vrsto uporabljene moke. Značilno najmanjše vsebnosti fitinske kisline smo izmerili v skorji kruha, še posebej v skorji belega kruha (0,01 g fitinske kisline/100 g s.s.), pri skorji črnega kruha 0,07 g fitinske kisline/100 g s.s. in v skorji polnozrnatega kruha 0,18 g fitinske kisline /100 g s.s. Vsebnost fitinske kisline v skorji kruha po 3 h in 6 h fermentacije se ni značilno razlikovala pri belem in črnem kruhu, medtem ko se je pri kruhu iz polnozrnate moke značilno razlikovala glede na čas fermentacije testa pred peko. V skorji polnozrnatega kruha, ki je fermentiral 3 h smo izmerili nekoliko večjo vsebnost fitinske kisline (0,21 g/100 g s.s.) kot v skorji polnozrnatega kruha, ki je fermentiral 6 h (0,18 g/100 g s.s.).

Vsebnost fitinske kisline se je značilno zmanjševala v vsaki fazi izdelave kruha. Značilno razliko smo izmerili tudi med vsebnostjo fitinske kisline v sredici in skorji kruha. V sredici kruha smo izmerili značilno manjše vsebnosti fitinske kisline kot v testu po enakem času fermentacije. Vrsta uporabljene moke je imela podobno kot pri vzorcih pripravljenih po postopku direktnega zamesa zelo velik, statistično značilen vpliv na vsebnost fitinske kisline. Vsi vzorci, pripravljene iz pšenične bele moke, so imeli najmanjšo vsebnost fitinske kisline, medtem ko so imeli vzorci, pripravljene iz pšenične polnozrnate moke, največjo vsebnost fitinske kisline v vseh fazah izdelave kruha. Vzorci, pripravljene iz črne moke, so imeli značilno večjo vsebnost fitinske kisline od vzorcev iz bele moke in značilno manjšo vsebnost fitinske kisline od vzorcev iz polnozrnate moke.

Največjo razliko med vsebnostjo fitinske kisline v testu takoj po zamesu in po 6 urah fermentacije smo opazili pri beli moki. Po fermentaciji smo izmerili samo še 22 % začetne vsebnosti fitinske kisline. Najmanjšo razliko smo izmerili pri polnozrnati moki, kjer je testo po 6 urah fermentacije vsebovalo še 64 % začetne vsebnosti fitinske kisline. Sredica belega kruha je po 6 urah fermentacije vsebovala 16 % začetne vsebnosti fitinske kisline, skorja pa le še 2 %. V sredici kruha iz polnozrnate moke smo izmerili še 56 % začetne vsebnosti fitinske kisline ter v skorji 19 %.

Preglednica 12: Vsebnosti suhe snovi, pH vrednosti in vsebnosti fitinske kisline ( $\bar{x} \pm so$ ) v vzorcih kruha izdelanih s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo

Table 12: Dry matter contents, pH, and phytic acid contents ( $\bar{x} \pm so$ ) in samples made from three types of flour by the indirect breadmaking procedure or prolonged fermentation

Parameter	Faza merjenja	Moka			p <sub>M</sub>
		bela	črna	polnozrnata	
suha snov (g/100 g)	zames	46,5±0,01 <sup>f,z</sup>	46,6±0,07 <sup>h,y</sup>	46,7±0,05 <sup>g,x</sup>	0,0001
	fermentacija: 1 ura	46,8±0,09 <sup>e,y</sup>	46,9±0,08 <sup>g,x</sup>	47,0±0,01 <sup>f,x</sup>	0,0037
	fermentacija: 2 uri	46,9±0,09 <sup>e,y</sup>	47,0±0,06 <sup>fg,x</sup>	47,1±0,08 <sup>f,x</sup>	0,0027
	fermentacija: 3 ure	47,0±0,01 <sup>e,z</sup>	47,1±0,08 <sup>f,y</sup>	47,3±0,06 <sup>f,x</sup>	0,0002
	sredica: 3 ure	47,6±0,22 <sup>e,y</sup>	47,9±0,00 <sup>c,x</sup>	48,0±0,00 <sup>cd,x</sup>	0,002
	skorja: 3 ure	70,1±0,15 <sup>b,y</sup>	70,8±0,18 <sup>b,x</sup>	70,9±0,18 <sup>b,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 4 ure	47,2±0,00 <sup>d,z</sup>	47,3±0,07 <sup>e,y</sup>	47,7±0,05 <sup>e,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 5 ur	47,5±0,16 <sup>c,x</sup>	47,9±0,02 <sup>c,x</sup>	47,7±0,50 <sup>de,x</sup>	0,3489
	fermentacija: 6 ur	47,3±0,20 <sup>d,y</sup>	47,6±0,05 <sup>d,x</sup>	47,8±0,15 <sup>de,x</sup>	0,0055
	sredica: 6 ur	47,8±0,27 <sup>e,y</sup>	47,9±0,00 <sup>c,xy</sup>	48,1±0,09 <sup>e,x</sup>	0,0354
	skorja: 6 ur	72,2±0,21 <sup>a,y</sup>	72,5±0,13 <sup>a,xy</sup>	72,5±0,32 <sup>a,x</sup>	0,0705
	p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
pH vrednost	zames	5,96±0,005 <sup>a,z</sup>	6,05±0,008 <sup>a,y</sup>	6,35±0,006 <sup>a,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 1 ura	5,90±0,005 <sup>b,z</sup>	6,01±0,005 <sup>b,y</sup>	6,29±0,005 <sup>b,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 2 uri	5,82±0,013 <sup>c,z</sup>	5,97±0,005 <sup>c,y</sup>	6,22±0,005 <sup>c,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 3 ure	5,75±0,000 <sup>d,z</sup>	5,94±0,005 <sup>d,y</sup>	6,18±0,006 <sup>d,x</sup>	<0,0001
	sredica: 3 ure	5,66±0,008 <sup>g,z</sup>	5,80±0,006 <sup>g,y</sup>	6,07±0,005 <sup>g,a</sup>	<0,0001
	skorja: 3 ure	5,61±0,005 <sup>l,z</sup>	5,78±0,008 <sup>h,y</sup>	6,02±0,008 <sup>h,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 4 ure	5,71±0,008 <sup>e,z</sup>	5,86±0,005 <sup>e,y</sup>	6,12±0,005 <sup>e,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 5 ur	5,68±0,008 <sup>f,z</sup>	5,83±0,005 <sup>f,y</sup>	6,10±0,005 <sup>f,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 6 ur	5,62±0,005 <sup>h,z</sup>	5,78±0,008 <sup>h,y</sup>	6,08±0,006 <sup>g,x</sup>	<0,0001
	sredica: 6 ur	5,60±0,000 <sup>l,z</sup>	5,74±0,005 <sup>l,y</sup>	6,01±0,006 <sup>l,x</sup>	<0,0001
	skorja: 6 ur	5,58±0,005 <sup>l,z</sup>	5,71±0,008 <sup>l,y</sup>	5,98±0,008 <sup>l,x</sup>	<0,0001
	p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
fitinska kislina (g/100 g s.s.)	zames	0,43±0,005 <sup>a,z</sup>	0,57±0,005 <sup>a,y</sup>	0,94±0,001 <sup>a,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 1 ura	0,37±0,004 <sup>b,z</sup>	0,52±0,005 <sup>b,y</sup>	0,88±0,002 <sup>b,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 2 uri	0,30±0,007 <sup>c,z</sup>	0,44±0,011 <sup>c,y</sup>	0,81±0,001 <sup>c,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 3 ure	0,25±0,005 <sup>d,z</sup>	0,40±0,009 <sup>d,y</sup>	0,75±0,003 <sup>d,x</sup>	<0,0001
	sredica: 3 ure	0,10±0,004 <sup>g,z</sup>	0,27±0,007 <sup>g,y</sup>	0,61±0,001 <sup>g,x</sup>	<0,0001
	skorja: 3 ure	0,02±0,001 <sup>l,z</sup>	0,07±0,001 <sup>l,y</sup>	0,21±0,002 <sup>l,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 4 ure	0,18±0,001 <sup>e,z</sup>	0,35±0,004 <sup>e,y</sup>	0,69±0,011 <sup>e,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 5 ur	0,14±0,001 <sup>f,z</sup>	0,32±0,003 <sup>f,y</sup>	0,65±0,003 <sup>f,x</sup>	<0,0001
	fermentacija: 6 ur	0,10±0,001 <sup>g,z</sup>	0,27±0,007 <sup>g,y</sup>	0,60±0,001 <sup>h,x</sup>	<0,0001
	sredica: 6 ur	0,07±0,002 <sup>h,z</sup>	0,20±0,004 <sup>h,y</sup>	0,53±0,001 <sup>l,x</sup>	<0,0001
	skorja: 6:ur	0,01±0,001 <sup>l,z</sup>	0,07±0,001 <sup>l,y</sup>	0,18±0,003 <sup>k,x</sup>	<0,0001
	p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

$\bar{X}$  – srednja vrednost; so – standardni odklon; p<sub>M</sub> – statistična verjetnost vpliva vrste moke; p<sub>K</sub> – statistična verjetnost vpliva različne določitve; značilnost vpliva : p≤0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; p≤0,01 statistično visoko značilen vpliv; p≤0,05 statistično značilen vpliv; p>0,05 statistično neznačilen vpliv; <sup>x,y,z</sup> skupine z enako črko v indeksu znotraj vrstice (vpliv moke) se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; <sup>a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k</sup> skupine z enako črko v indeksu znotraj kolone (vpliv določitve) se med seboj statistično značilno ne razlikujejo;

#### 4.4 IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM ZAMESA Z DODATKOM KISLEGA TESTA

V preglednici 13 so prikazani rezultati merjenja vsebnosti suhe snovi, pH vrednosti in vsebnosti fitinske kisline v testu takoj po zamesu, v testu z dodatkom 5 %, v testu z dodatkom 10 % kislega testa, ter v sredici in skorji kruha. Testo in kruh smo izdelali iz treh vrst mok s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa pri temperaturi 20 °C.

Vsebnost suhe snovi je bila statistično značilno najmanjša v testu takoj po zamesu pri vseh treh vrstah moke in obeh dodatkih kislega testa. Statistično značilno največje vsebnosti suhe snovi so bile izmerjene v skorji kruha ne glede na delež dodanega kislega testa. V testu takoj po zamesu, v testu po fermentaciji in v sredici kruha je opazen trend nekoliko večje vsebnosti suhe snovi pri vzorcih z dodatkom 10 % kislega testa, medtem ko smo pri skorji kruha opazili ravno obraten trend. Skorja kruha iz vseh treh vrst moke z dodatkom 10 % kislega testa, je imela za približno 2 % manjšo vsebnost suhe snovi kot skorja kruha z dodatkom 5 % kislega testa. Vrsta uporabljene moke je imela statistično značilen vpliv na vsebnost suhe snovi. Pri vzorcih, ki jim je bilo dodano 5 % kislega testa, so bile statistično največje vsebnosti suhe snovi izmerjene pri vzorcih, ki so bili izdelani iz polnozrnate moke, medtem ko so imeli vzorci, ki smo jih pripravili iz bele moke, značilno manjše vsebnosti suhe snovi v vsaki fazi izdelave kruha. Pri vzorcih, ki so bili pripravljene iz testa, ki smo mu dodali 10 % kislega testa, ni bilo zaznati istega trenda. Vzorci, ki so bili izdelani iz polnozrnate moke, so imeli značilno najmanjše vsebnosti suhe snovi, medtem ko so imeli vzorci, ki so bili pripravljene iz bele moke, značilno največje vsebnosti suhe snovi.

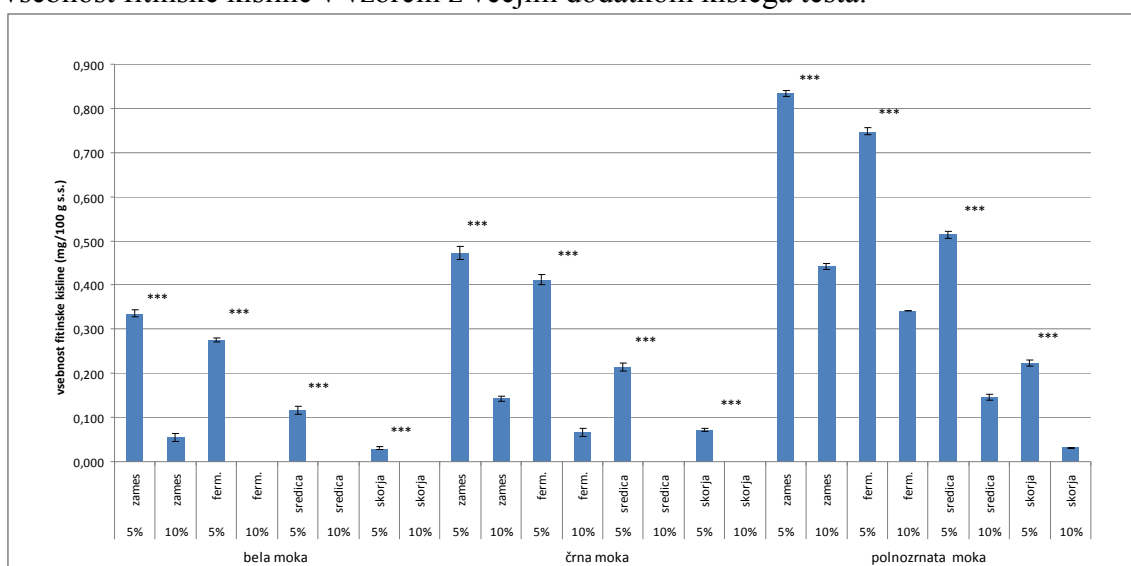
Iz preglednice 13 je razvidno, da je bila pH vrednost statistično značilno najvišja v testu takoj po zamesu. Med postopkom izdelave kruha se je pH vrednost zniževala, ne glede na delež kislega testa in vrsto uporabljene moke. Najnižje pH vrednosti smo izmerili v skorji kruha. Razlike med pH vrednostmi vzorcev iz različnih faz izdelave kruha so bile opazne pri obeh deležih dodatka kislega testa in vseh treh vrstah moke. Razlika med pH vrednostmi vzorcev v vseh fazah priprave kruha iz vseh treh vrst moke pri 5 % oz. 10 % dodatku kislega testa je normalna posledica različnih količin dodatka kisle surovine. Vrsta moke je imela statistično značilen vpliv na pH vrednost. Vzorci, ki so bili izdelani iz bele moke, so imeli značilno najnižjo pH vrednost, medtem ko so imeli vzorci, ki so bili izdelani iz polnozrnate pšenične moke, statistično značilno najvišjo pH vrednost.

Trend zmanjševanja vsebnosti fitinske kisline med procesom izdelave kruha smo podobno kot pri ostalih dveh postopkih, potrdili tudi pri postopku zamesa z dodatkom kislega testa.

Značilno največjo vsebnost fitinske kisline smo izmerili v testu takoj po zamesu ne glede na vrsto uporabljene moke in na količino dodatka kislega testa. Tako je pri postopku zamesa z dodatkom 5 % kislega testa, testo iz bele moke vsebovalo 0,34 g fitinske kisline/100 g s.s., testo iz črne moke 0,45 g/100 g s.s. in testo iz polnozrnate moke 0,83 g/100 g s.s. Pri postopku zamesa z dodatkom 10 % kislega testa, pa je testo iz bele moke vsebovalo 0,05 g fitinske kisline /100 g s.s., testo iz polbele moke 0,14 g/100 g s.s. in testo iz polnozrnate moke 0,44 g/100 g s.s. Statistično značilno manjše vsebnosti fitinske kisline

smo izmerili v testu po fermentaciji, še manjše pa v sredici kruha pri vseh treh vrstah moke in obeh dodatkih kislega testa. Značilno najmanjše vsebnosti fitinske kisline smo izmerili v skorji vseh vrst kruha. Pri postopku zamesa z dodatkom 5 % kislega testa je skorja belega kruha vsebovala 0,03 g fitinske kisline/100 g s.s., skorja črnega kruha 0,07 g/100 g s.s. in skorja polnozrnatega kruha 0,22 g/100 g s.s. Pri postopku zamesa z dodatkom 10 % kislega testa pa skorja belega kruha in črnega kruha ni vsebovala fitinske kisline, skorja polnozrnatega kruha pa je vsebovala 0,03 g fitinske kisline/100 g s.s. Pri vzorcih pripravljenih z 10 % dodatka kislega testa iz bele moke fitinske kisline nismo več izmerili že po fermentaciji testa, pri črni moki pa je nismo več izmerili v vzorcih sredice in skorje kruha.

Dodatek kislega testa statistično značilno vpliva na vsebnost fitinske kisline v vseh fazah priprave kruha in pri vseh treh vrstah moke. Na sliki 6 lahko vidimo, da smo v vseh vzorcih pri postopku izdelave kruha z dodatkom kislega testa izmerili značilno manjšo vsebnost fitinske kisline v vzorcih z večjim dodatkom kislega testa.



Slika 6: Primerjava vsebnosti fitinske kisline med vzorci z dodatkom 5 % oz. 10 % kislega testa (\*\*\*) - statistično zelo visoko značilna razlika)

Figure 6: Comparison of phytic acid contents between samples with 5 % and 10 % sourdough addition (\*\*\*) - statistically very significant difference)

Vrsta uporabljene moke je imela, podobno kot pri ostalih dveh postopkih zamesa, zelo velik, statistično značilen vpliv na vsebnost fitinske kisline. Vsi vzorci, pripravljene iz pšenične bele moke, so imeli najmanjšo vsebnost fitinske kisline, medtem ko so imeli vzorci, pripravljene iz pšenične polnozrnate moke, največjo vsebnost fitinske kisline v vseh fazah izdelave kruha.

Dodatek 10 % kislega testa je bil pri vseh vzorcih vzrok za statistično zelo značilno zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline. Vpliv fermentacije na vsebnost fitinske kisline pri postopku zamesa z dodatkom kislega testa težko ovrednotimo, saj smo pri primerjavi podatkov za različne količine dodatka kislega testa ugotovili, da se je vsebnost fitinske kisline bistveno spreminjala že med procesom zamesa.

Preglednica 13: Vsebnosti suhe snovi, pH vrednosti in vsebnosti fitinske kisline ( $\bar{x} \pm so$ ) v vzorcih kruha izdelanega s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa

Table 13: Dry matter contents, pH, and phytic acid contents ( $\bar{x} \pm so$ ) in samples made from three types of flour by the breadmaking procedure with the addition of sourdough

Parameter	Dodatek kislega testa	Faze merjenja	Moka			P <sub>M</sub>
			bela	črna	polnozrnata	
suha snov (g/100 g)	5 %	zames	48,0±0,01 <sup>d,y</sup>	48,5±0,08 <sup>d,x</sup>	48,6±0,01 <sup>d,x</sup>	<0,0001
		fermentacija	48,3±0,11 <sup>c,y</sup>	48,8±0,00 <sup>c,x</sup>	48,9±0,00 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		sredica	49,1±0,09 <sup>b,y</sup>	49,7±0,00 <sup>b,x</sup>	49,7±0,05 <sup>b,x</sup>	<0,0001
		skorja	66,3±0,04 <sup>a,z</sup>	66,3±0,05 <sup>a,y</sup>	66,7±0,01 <sup>a,x</sup>	<0,0001
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	10 %	zames	49,9±0,02 <sup>d,x</sup>	49,7±0,00 <sup>d,y</sup>	49,4±0,00 <sup>d,z</sup>	<0,0001
		fermentacija	50,1±0,00 <sup>c,x</sup>	49,9±0,00 <sup>c,y</sup>	49,7±0,05 <sup>c,z</sup>	<0,0001
		sredica	50,9±0,03 <sup>b,x</sup>	50,7±0,09 <sup>b,y</sup>	50,4±0,00 <sup>b,z</sup>	<0,0001
		skorja	64,2±0,04 <sup>a,y</sup>	64,2±0,03 <sup>a,y</sup>	64,6±0,00 <sup>a,x</sup>	<0,0001
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
pH vrednost	5 %	zames	5,86±0,008 <sup>a,z</sup>	5,98±0,013 <sup>a,y</sup>	6,26±0,005 <sup>a,x</sup>	<0,0001
		fermentacija	5,80±0,005 <sup>b,z</sup>	5,92±0,010 <sup>b,y</sup>	6,20±0,006 <sup>b,x</sup>	<0,0001
		sredica	5,63±0,010 <sup>c,z</sup>	5,75±0,008 <sup>c,y</sup>	6,03±0,006 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		skorja	5,57±0,008 <sup>d,z</sup>	5,69±0,006 <sup>d,y</sup>	5,97±0,008 <sup>d,x</sup>	<0,0001
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	10 %	zames	5,56±0,010 <sup>a,z</sup>	5,69±0,005 <sup>a,y</sup>	5,97±0,005 <sup>a,x</sup>	<0,0001
		fermentacija	5,50±0,016 <sup>b,z</sup>	5,62±0,008 <sup>b,y</sup>	5,90±0,000 <sup>b,x</sup>	<0,0001
		sredica	5,35±0,013 <sup>c,z</sup>	5,47±0,005 <sup>c,y</sup>	5,76±0,005 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		skorja	5,31±0,006 <sup>d,z</sup>	5,42±0,013 <sup>d,y</sup>	5,69±0,005 <sup>d,x</sup>	<0,0001
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
fitinska kislina (g/100 g s.s.)	5 %	zames	0,34±0,008 <sup>a,z</sup>	0,47±0,015 <sup>a,y</sup>	0,83±0,007 <sup>a,x</sup>	<0,0001
		fermentacija	0,28±0,005 <sup>b,z</sup>	0,41±0,011 <sup>b,y</sup>	0,75±0,008 <sup>b,x</sup>	<0,0001
		sredica	0,12±0,009 <sup>c,z</sup>	0,21±0,009 <sup>c,y</sup>	0,51±0,008 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		skorja	0,03±0,004 <sup>d,z</sup>	0,07±0,004 <sup>d,y</sup>	0,22±0,007 <sup>d,x</sup>	<0,0001
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	10 %	zames	0,05±0,009 <sup>a,z</sup>	0,14±0,006 <sup>a,y</sup>	0,44±0,007 <sup>a,x</sup>	<0,0001
		fermentacija	0,00±0,000 <sup>b,z</sup>	0,07±0,009 <sup>b,y</sup>	0,34±0,000 <sup>b,x</sup>	<0,0001
		sredica	0,00±0,000 <sup>b,y</sup>	0,00±0,000 <sup>c,y</sup>	0,15±0,007 <sup>c,x</sup>	<0,0001
		skorja	0,00±0,000 <sup>b,y</sup>	0,00±0,000 <sup>c,y</sup>	0,03±0,002 <sup>d,x</sup>	<0,0001
		p <sub>K</sub>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

$\bar{x}$  – srednja vrednost; so – standardni odklon; p<sub>M</sub> – statistična verjetnost vpliva vrste moke; p<sub>K</sub> – statistična verjetnost vpliva različne določitve; značilnost vpliva : p≤0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; p≤0,01 statistično visoko značilen vpliv; p≤0,05 statistično značilen vpliv; p>0,05 statistično neznačilen vpliv; <sup>x,y,z</sup> skupine z enako črko v indeksu znotraj vrstice (vpliv moke) se med seboj statistično značilno ne razlikujejo; <sup>a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k</sup> skupine z enako črko v indeksu znotraj kolone (vpliv določitve) se med seboj statistično značilno ne razlikujejo

#### 4.5 PRIMERJAVA TEHNOLOŠKIH POSTOPKOV IZDELAVE KRUHA

Primerjava vsebnosti suhe snovi v testu takoj po zamesu, v testu po fermentaciji in v sredici kruha, ki so bili izdelani s postopkom direktnega zamesa, s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo in s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa, nam je pokazala,

da so imeli vzorci, ki so bili izdelani s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa, večjo vsebnost suhe snovi kot vzorci izdelani s postopkom direktnega zamesa in s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo, neodvisno od vrste moke. Pri primerjavi vsebnosti suhe snovi v skorji smo opazili ravno obraten trend. Skorja kruha, ki je bil izdelan s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa, je imela občutno manjšo vsebnost suhe snovi kot skorja kruha, ki je bil izdelan s postopkom direktnega zamesa in s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo.

Pri vseh vzorcih, ki so bili izdelani s postopkom z dodatkom kislega testa (5 % ali 10 % dodatka), je bila pH vrednost nižja kot pri vzorcih, ki so bili izdelani s postopkom direktnega zamesa in s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo. pH vrednosti so bile najnižje pri postopku zamesa z dodatkom 10 % kislega testa. Čas fermentacije je tudi pomembno vplival na pH vrednosti, saj so imeli vzorci izdelani s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo, nižji pH kot vzorci izdelani s postopkom direktnega zamesa.

Vsebnost fitinske kisline je bila najmanjša pri vzorcih, ki so bili izdelani s postopkom zamesa z dodatkom 10 % kislega testa, največja pa v vzorcih, ki so bili izdelani s postopkom direktnega zamesa. Čas fermentacije je tudi pomembno vplival na vsebnost fitinske kisline, saj smo pri vzorcih, izdelanih z dodatkom 5 % kislega testa, izmerili večjo vsebnost fitinske kisline kot v vzorcih, izdelanih s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo. Največje vsebnosti fitinske kisline smo izmerili v vzorcih izdelanih s postopkom direktnega zamesa.

#### 4.6 KORELACIJSKA ANALIZA

Korelacijska analiza med vsebnostjo fitinske kisline in pH vrednostmi v vseh treh postopkih izdelave kruhov ki je prikazana v preglednici 14, je pokazala, da so bile vse povezave med izmerjenimi parametri močne in statistično značilne. Najmočnejša in statistično značilna je bila pozitivna korelacija med vsebnostjo fitinske kisline in pH vrednostjo pri postopku zamesa s podaljšano fermentacijo ( $r = 0,94$ ,  $p < 0,0001$ ). Zelo podobno močne pozitivne in statistično značilne povezave smo izmerili tudi pri postopku zamesa z dodatkom kislega testa ( $r = 0,93$ ,  $p < 0,0001$ ) in pri postopku z direktnim zamesom ( $r = 0,91$ ,  $p < 0,0001$ ).

Preglednica 14: Zveza med vsebnostjo fitinske kisline in pH vrednostjo pri različnih postopkih izdelave kruha

Table 14: Correlation between phytic acid content and pH value in bread from different production processes

Vrsta postopka	Pearsonov korelacijski koeficient
Izdelava kruha s postopkom direktnega zamesa	0,91***
Izdelava kruha s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo	0,94***
Izdelava kruha s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa	0,93***

značilnost: \*\*\*  $p \leq 0,001$  statistično zelo visoko značilna korelacija.

## 5 RAZPRAVA

Z našo raziskavo smo želeli proučiti vpliv vrste pšenične moke oziroma tipa pšenične moke in tehnološkega postopka izdelave kruha na vsebnost fitinske kisline v različnih fazah izdelave kruha in v končnem izdelku. Kruh smo izdelali po treh različnih postopkih in sicer s postopkom direktnega zamesa, s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo in s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa. Za izdelavo kruha smo uporabili pšenično belo moko (tip 500), pšenično črno moko (tip 1100) in pšenično polnozrnato moko, ki smo jih pripravili iz iste pšenice.

### 5.1 VSEBNOST FITINSKE KISLINE V MOKAH

Iz podatkov v literaturi je znano, da je fitinska kislina akumulirana v globoidih, ki so sestavni del alevronskih zrn v alevronski plasti (Lasztity in Lasztity, 1990). To pomeni, da je večji del fitinske kisline akumulirane v zunanjih delih pšeničnega zrna (predvsem alevronska plast), ki se pri mletju zrn v moko odstranijo kot otrobi. Rezultati naših analiz so potrdili, da moke nižjega tipa vsebujejo manjše količine fitinske kisline, saj smo že v osnovnih surovinah izmerili najmanj fitinske kisline v beli moki tip 500 (0,44 g/100 g s.s.), nekoliko več v črni moki tip 1100 (0,58 g/100 g s.s.) in največ v polnozrnati moki (0,95 g/100 g s.s.). Tudi v vzorcih iz različnih faz izdelave kruha v vseh treh uporabljenih postopkih smo najmanjše vsebnosti fitinske kisline izmerili v vzorcih iz bele moke, največje pa v vzorcih, pripravljenih iz polnozrnate moke. Podobne vsebnosti fitinske kisline v mokah različnih tipov so izmerili Garcia –Estepa Rosa in sod. (1999), ki so v članku navedli, da je v beli moki 0,30 g fitinske kisline/100 g s.s., v polnozrnati moki pa 0,75 g fitinske kisline/100 g s.s.

### 5.2 IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM DIREKTNEGA ZAMESA

Kruh, ki se izdeluje s postopkom direktnega zamesa, naj bi imel pH vrednost 5,6-5,8 (Kumar in sod., 2010), kar smo potrdili tudi z našimi meritvami. Ugotovili smo, da so imeli vzorci testa (takoj po zamesu in po fermentaciji pri 20 °C in 30 °C), kot tudi vzorci kruha (sredica in skorja) iz polnozrnate moke najvišje pH vrednosti. Nekoliko nižje pH vrednosti smo izmerili v črni moki, najnižje pH vrednosti pa smo izmerili v beli moki. Tudi Erbas in sod. (2005) so prišli do podobnih ugotovitev, da ima kruh iz bele moke najnižjo pH vrednost, kruh iz polnozrnate moke pa najvišjo pH vrednost. Izmerjene pH vrednosti so bile ne glede na vrsto uporabljene moke, višje v vzorcih, ki so fermentirali pri 20 °C.

Ne glede na temperaturo fermentacije, 20 °C ali 30 °C, smo največjo vsebnost fitinske kisline izmerili v testu in v kruhu iz polnozrnate moke, najmanjšo vsebnost fitinske kisline pa v testu in v kruhu iz bele moke. Razlika v vsebnosti fitinske kisline v zamesu in v kruhu iz polnozrnate moke je 24 % (iz 0,95 g/100 g s.s. se je vsebnost fitinske kisline zmanjšala na 0,72 g/100 g s.s.). Pri belem kruhu pa se je vsebnost fitinske kisline med zamesom in pečenim kruhom zmanjšala za 52 % (iz 0,44 g/100 g s.s. na 0,21 g/100 g s.s.). Podobne



rezultate so v svojem članku navedli Garcia-Esteba Rosa in sod. (1999), ki so trdili, da je zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline pri belem kruhu od zamesa do kruha 50 %, pri polnozrnatem kruhu pa je zmanjšanje v vsebnosti fitinske kisline 20 %. Isti avtorji so v svojem članku navedli, da je vsebnost fitinske kisline v kruhu iz bele moke 0,298 g/100 g s.s., vsebnost fitinske kisline v polnozrnatem kruhu pa 0,749 g/100 g s.s., kar je primerljivo tudi z našimi rezultati.

Ne glede na temperaturo fermentacije in vrsto uporabljene moke, smo najmanjšo vsebnost fitinske kisline izmerili v skorji kruha. Marklinder in sod. (1995) so raziskovali vpliv visoke temperature na vsebnost fitinske kisline in dokazali, da se z dvigom temperature neodvisno od pH vrednosti, vsebnost fitinske kisline zmanjšuje, kar potrjujejo tudi naši rezultati. Skorja kruha je vsebovala najmanjše vsebnosti fitinske kisline, saj je na površini kruha dosežena najvišja temperatura pri peki.

Rezultati so pokazali, da so tako pH vrednosti kot tudi vsebnosti fitinske kisline odvisne od vrste moke oziroma stopnje meljave kot tudi od faze izdelave kruha. Pri nižjih pH vrednostih, smo izmerili manjšo vsebnost fitinske kisline. V testu, ki je fermentiralo, smo izmerili nižjo pH vrednost kot tudi manjšo vsebnost fitinske kisline kot v testu takoj po zamesu, ne glede na vrsto uporabljene moke. Dobljeni rezultati so primerljivi z rezultati Dost in Tokul (2006), ki sta analizirala vsebnost fitinske kisline v različnih žitih, moki, kruhu iz fermentiranega in nefermentiranega testa. Ugotovila sta, da je imel kruh iz bele moke, ki je bil pripravljen s fermentacijo testa 0,49 g fitinske kisline/100 g s.s., kruh iz bele moke, ki je bil pripravljen brez fermentacije pa 0,52 g fitinske kisline/100 g s.s.

### 5.3 IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM ZAMESA S PODALJŠANO FERMENTACIJO

Pri vzorcih testa in kruha izdelanih s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo, smo najvišjo pH vrednosti izmerili v vzorcih testa in kruha iz polnozrnate moke, najmanjše pa v testu takoj po zamesu in kruhu iz bele moke.

Meritve pH vrednosti takoj po zamesu ter po triurni in šesturni fermentaciji so pokazale, da so se pH vrednosti nižale s časom fermentacije tako pri testu iz bele moke kot tudi pri testu iz črne in polnozrnate moke. Kumar in sod. (2010) v svojem članku trdijo, da se s podaljševanjem časa fermentacije pH vrednost zniža še za 4-6 %, kar je primerljivo tudi z našimi rezultati, saj se je pH vrednost pri testu iz bele moke po šesturni fermentaciji znižala iz 5,96 na 5,60 (6 %) pri testu iz polnozrnate moke pa iz 6,35 na 6,08 (4 %).

Rezultati našega eksperimenta so pokazali, da smo s podaljševanjem časa fermentacije vplivali na zniževanje pH vrednosti, kar trdi tudi Osman (2004).

Z daljšimi postopki fermentacije se je pH vrednost znižala, kar je posledica nastanka mlečne in očetne kisline. Nižja pH vrednost je povzročila aktivacijo fitaz, ki so hidrolizirale fitinsko kislino (Magala in sod., 2015). Ker se je dosežena pH vrednost pri beli in črni moki gibala v območju, kjer so bile fitaze najbolj aktivne (Ryden in

Selvendran, 1993), smo pričakovali v kruhu iz bele in črne moke bistveno manj fitinske kisline, kot v kruhu iz polnozrnate moke, kjer je pH vrednost nekoliko višja, kar smo potrdili tudi z našimi rezultati. Manjša vsebnost fitinske kisline v kruhu iz bele in črne moke je tudi posledica manjše izvorne vsebnosti fitinske kisline v beli in črni moki.

Pri izdelavi kruha s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo smo največjo vsebnost fitinske kisline izmerili v testu iz polnozrnate moke takoj po zamesu in v pečenem kruhu iz polnozrnate moke, najmanjšo vsebnost fitinske kisline pa smo izmerili v testu iz bele moke takoj po zamesu ter v pečenem kruhu iz bele moke.

V testu iz bele moke je bilo po 6 urni fermentaciji samo še 22 % fitinske kisline v primerjavi z vsebnostjo fitinske kisline v testu takoj po zamesu. S tem smo potrdili trditve Giovanellija in Pola (1994), ki sta zapisala, da hidroliza fitata poteka hitreje v kruhu, kjer je že začetna vsebnost fitinske kisline zelo majhna (bela moka). V testu iz črne moke smo po 6 urni fermentaciji izmerili še 48 % fitinske kisline glede na začetno vsebnost.

Največ začetne vsebnosti fitinske kisline se je ohranilo v testu iz polnozrnate moke, ki je fermentiralo 6 ur. Fitinske kisline je bilo še 63 % po zamesu, kar povezujemo s tem, da je pH vrednost pri polnozrnati moki nekoliko višja in ne več v območju optimalnega delovanja fitaz, ki povzročajo hidrolizo fitinske kisline (Ryden in Selvendran, 1993). Vzrok je tudi v bistveno večji začetni vsebnosti fitinske kisline v temnejših mokah, saj pri mletju pšenice v polnozrnato moko prehaja tudi fitinska kislina, ki se nahaja v alevronski plasti (Ryden in Selvendran, 1993).

Vsebnost fitinske kisline je v testu iz bele moke po triurni fermentaciji za 2,5-krat večja kot v testu iz bele moke po šesturni fermentaciji, v testu iz polnozrnate moke (triurna fermentacija) pa so vsebnosti fitinske kisline za 1,26-krat večje kot v testu iz polnozrnate moke (šesturna fermentacija).

Rezultati se ujemajo z ugotovitvami Giovanellija in Pola (1994), ki sta v svoji raziskavi odkrila, da se vsebnost fitinske kisline najbolj zmanjša med fermentacijo.

Rezultati kažejo, da se je z daljšim časom fermentacije pH vrednost znižala, s tem pa se je zmanjšala tudi vsebnost fitinske kisline. Zmanjševanje vsebnosti fitinske kisline med fermentacijo je nedvomno povezano z aktivnostjo fitaz. Buddrick in sod. (2014) so v svojem članku navedli, da se pH vrednost znižuje od zamesa, preko fermentacije testa, ki traja 5 h, pa vse do pečenega kruha. Prav tako je ugotovil, da se je s postopkom izdelave kruha in posledičnim znižanjem pH vrednosti v posamezni fazi izdelave kruha, zmanjšala tudi vsebnost fitinske kisline. Avtorji so navedli, da je imel kruh samo še 15 % začetne vsebnosti fitinske kisline, kar lahko primerjamo z našimi rezultati, saj smo v sredici belega kruha izmerili samo še 16 % začetne vsebnosti fitinske kisline, ki smo jo izmerili v testu iz bele moke takoj po zamesu.

V vseh primerih je vsebnost fitinske kisline v skorji pečenega kruha, ne glede na vrsto uporabljene moke in čas fermentacije, bistveno manjša, kot v sredici pečenega kruha, iz česar lahko sklepamo, da je fitinska kislina pri višjih temperaturah manj stabilna. V sredici pečenega kruha je središčna temperatura med 90 in 100 °C in pri tej temperaturi se fitinska

kislina le delno razgradi, zaradi intenzivnega delovanja fitaz v prvi fazi peke (optimalna temperatura je okrog 50 °C). Skorja ima temperaturo med 130 in 180 °C, kjer pride do skoraj popolne razgradnje fitinske kisline zaradi termične degradacije, kar so dokazali tudi Garcia-Esteba Rosa in sod. (1999) v svojem članku.

Zaradi delovanja fitaz, ki so prisotne v moki, pride med fermentacijo, delno pa tudi pri peki kruha, do razgradnje fitinske kisline, in sicer od 13-100 % (Giovanelli in Polo, 1994).

Z našim poskusom smo te ugotovitve potrdili, saj smo v sredici belega kruha (šesturna fermentacija) izmerili le še 15 % začetne vsebnosti fitinske kisline. V sredici črnega kruha (šesturna fermentacija) smo izmerili 35 % začetne vsebnosti fitinske kisline, v sredici polnozrnatega kruha pa največ, to je 57 % začetne vsebnosti fitinske kisline.

Statistična analiza rezultatov je pokazala, da imajo tako vrsta moke kot tudi posamezne faze priprave kruha statistično zelo visoko značilen vpliv na izmerjeno pH vrednost in na vsebnost fitinske kisline v vseh fazah izdelave kruha.

Osman (2004) je v svojih raziskavah navedel, da se po 6 urni fermentaciji testa, vsebnosti fitinske kisline zmanjšajo tudi za 60 %, kar smo potrdili tudi z našimi meritvami. Glede na to, da smo pri uporabi polnozrnate moke izmerili najmanjšo razliko med vsebnostjo fitinske kisline v testu takoj po zamesu in v sredici, lahko naše rezultate povežemo s trditvami strokovnjakov, ki trdijo, da je pH vrednost nad 6,0 (takšen pH smo izmerili v vseh fazah izdelave kruha pri uporabi polnozrnate moke), predstavljala glavno oviro pri razgradnji fitata (Osman, 2004).

Lasztity in Lasztity (1990) sta v svojem članku navedla podatke o vsebnosti fitinske kisline v različnih izdelkih iz žit. Vsebnost fitinske kisline v belem kruhu je bila pri postopku s podaljšano fermentacijo 0,03 g/100 g s.s., kar je primerljivo z našimi podatki, saj smo v sredici belega kruha izmerili 0,07 g/100 g s.s., v skorji belega kruha pa 0,01 g/100 g s.s. Prav tako sta v isti preglednici avtorja navedla, da je vsebnost fitinske kisline v polnozrnatem kruhu 0,56 g/100 g s.s., kar je zopet primerljivo z našimi rezultati, saj smo v sredici polnozrnatega kruha izmerili 0,53 g fitinske kisline/100 g s.s., v skorji polnozrnatega kruha pa 0,18 g/100 g s.s.

#### 5.4 IZDELAVA KRUHA S POSTOPKOM ZAMESA Z DODATKOM KISLEGA TESTA

Pri vzorcih testa in kruha izdelanih s postopkom z dodatkom kislega testa, smo najvišje pH vrednosti izmerili v testu iz polnozrnate moke. V primerjavi s pH vrednostmi testa iz bele moke so bile razlike primerljive pri obeh dodatkih kislega testa (5 % in 10 %). Ne glede na vrsto uporabljene moke smo najvišjo pH vrednost izmerili v testu takoj po zamesu, sledile so vrednosti v testu po fermentaciji, nato v sredici kruha in končno v skorji kruha (Kumar in sod., 2010). Ugotovitve Kumarja in sod. (2010), da je pH vrednost najvišja v testu in da se tekom tehnološkega postopka znižuje, so podobne našim, saj smo z meritvami prišli do podobnih rezultatov.

Prav tako smo ne glede na vrsto moke izmerili nižje pH vrednosti v sredici kruhov, ki smo jih izdelali z 10 % dodatkom kislega testa, v primerjavi s kruhi s 5 % dodatkom kislega testa. Sredica belega kruha, izdelanega s postopkom zamesa z dodatkom 5 % kislega testa, je imela pH vrednost 5,63, z dodatkom 10 % kislega testa pa 5,35. Sredica črnega kruha, izdelanega s postopkom zamesa z dodatkom 5 % kislega testa, je imela pH vrednost 5,75, z dodatkom 10 % kislega testa pa 5,47. Prav tako je sredica polnozrnatega kruha, izdelanega s postopkom zamesa z dodatkom 5 % kislega testa, imela pH vrednost 6,03, z dodatkom 10 % kislega testa pa 5,76. Ugotovili smo, da so bile pH vrednosti v primeru 5 % dodatka kislega testa v vseh vzorcih testa in kruha večje kot v postopku z 10 % dodatkom kislega testa. Sandberg in sod. (1986) so v svojem članku dokazali, da je povečan delež kislega testa znižal pH vrednosti testa, kar smo potrdili tudi z našimi rezultati.

V kislem testu, ki smo ga uporabljali kot dodatek pri zamesu, z našo metodo nismo izmerili fitinske kisline. Največjo vsebnost fitinske kisline smo ne glede na vrsto moke in ne glede na količino dodatka kislega testa izmerili v testu takoj po zamesu.

Pri vseh fazah izdelave kruha so imeli izdelki iz polnozrnate moke z dodatkom 5 % kislega testa večjo vsebnost fitinske kisline kot izdelki iz bele moke z dodatkom 5 % kislega testa. Tako je tudi sredica polnozrnatega kruha z dodatkom 5 % kislega testa vsebovala skoraj 5-krat več fitinske kisline kot sredica belega kruha z dodatkom 5 % kislega testa. Podobno velja tudi za sredico polnozrnatega kruha z dodatkom 10 % kislega testa, ki je vsebovala 0,15 g fitinske kisline na 100 g s.s., sredica belega kruha z dodatkom 10 % kislega testa pa fitinske kisline ni več vsebovala.

Pri izdelavi kruha s postopkom zamesa z 10 % dodatkom kislega testa se je vsebnost fitinske kisline med fermentacijo še bolj zmanjšala kot pri 5 % dodatku kislega testa. V testu iz polnozrnate moke se je vsebnost fitinske kisline zmanjšala za 23 %, v testu iz črne moke za 50 %, v testu iz bele moke pa celo 100 %, s čimer smo potrdili ugotovitve Sandberga (1994), ki je dokazal, da je najbolj opazno zmanjšanje fitinske kisline pri tistih vrstah kruha, ki so bili narejeni z dodatkom 10 % kislega testa. Sandberg (1994) je tudi navedel, da lahko pričakujemo od 96 % do 97 % zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline ob večjem dodatku kislega testa. S tem smo potrdili tudi naše ugotovitve, saj smo fitinsko kislino izmerili samo v fermentiranem testu iz črne moke z dodatkom 10 % kislega testa in fermentiranem testu iz polnozrnate moke z dodatkom 10 % kislega testa. Fitinsko kislino smo z našo metodo izmerili samo v sredici in skorji polnozrnatega kruha, ki smo ga izdelali po postopku zamesa z dodatkom 10 % kislega testa, medtem ko v sredici in skorji črnega kruha in belega kruha, ki smo ga izdelali po postopku zamesa z dodatkom 10 % kislega testa, fitinske kisline nismo izmerili. Naši rezultati se ujemajo tudi z ugotovitvami Giovanellija in Pola (1994), ki sta v svojem članku navedla, da dodatek kislega testa zmanjša ali celo popolnoma hidrolizira fitinsko kislino, saj z dodatkom 10 % kislega testa dosežemo pH vrednost 5,0-5,5, ki je optimalna za delovanje fitaze. Tudi pri naših meritvah, kjer fitinske kisline z našo metodo nismo izmerili, je bila pH vrednost od 5,35 pri beli in 5,47 pri črni moki.

## 5.5 PRIMERJAVA TEHNOLOŠKIH POSTOPKOV

Vsebnost fitinske kisline je bila v tej nalogi raziskana v odvisnosti od vrste moke (bela moka, črna moka, polnozrnata moka) in tehnološkega postopka (postopek direktnega zamesa, postopek zamesa s podaljšano fermentacijo in postopek zamesa z dodatkom kislega testa). Med izdelavo kruha se je vsebnost fitinske kisline zmanjševala, za koliko, pa je bilo odvisno od začetne vsebnosti fitinske kisline.

Vrsta moke je vplivala na vsebnost fitinske kisline. Največje vsebnosti fitinske kisline smo izmerili pri polnozrnati moki, najmanjše pa v beli moki.

Literatura in naši podatki jasno kažejo, da je zelo pomemben dejavnik za zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline pH vrednost testa oziroma kruha.

Vsebnost fitinske kisline v testu s pH med 4,3 in 4,6 se bolj intenzivno zmanjšuje kot v testu z višjo pH vrednostjo. Pri vseh treh postopkih izdelave kruha smo potrdili močne in statistično značilne pozitivne korelacije med vsebnostjo fitinske kisline in pH vrednostjo. Rezultati naše raziskave so pokazali, da so vzorci, ki so imeli višjo pH vrednost, imeli tudi večjo vsebnost fitinske kisline in obratno. Vpliv nižje pH vrednosti je bil še posebej izrazit, ko je bilo testu dodano kislo testo. V sredici belega kruha, ki mu je bilo dodano 5 % kislega testa, smo izmerili 0,12 g fitinske kisline /100 g s.s., pri sredici iz belega kruha, ki mu je bilo dodano 10 % kislega testa pa fitinske kisline ni bilo. Prav tako je imela sredica polnozrnatega kruha, ki mu je bilo dodano 5 % kislega testa, vsebnost fitinske kisline 0,51 g/100 g s.s., sredica polnozrnatega kruha, ki mu je bilo dodano 10 % kislega testa pa samo še 0,15 g/100 g s.s. Lahko zaključimo, da je bila vsebnost fitinske kisline odvisna od pH vrednosti posameznega vzorca.

Pri izdelavi kruha s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo je zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline večje kot pri izdelavi kruha s postopkom direktnega zamesa. Sredica belega kruha, ki je bil izdelan s postopkom direktnega zamesa pri temperaturi fermentacije 20 °C, je vsebovala 0,21 g fitinske kisline/100 g s.s., sredica belega kruha po 6 urah fermentacije, pa 0,10 g fitinske kisline/100 g s.s. Rezultati kažejo na to, da je čas fermentacije pomemben faktor pri zmanjševanju vsebnosti fitinske kisline.

Pri višji temperaturi fermentacije smo zaznali rahel trend zniževanja vsebnosti fitinske kisline v vseh vzorcih. Sicer pa so naše meritve pokazale, da so bile vsebnosti fitinske kisline v zamesu pri beli moki, črni moki in polnozrnati moki pri direktnem postopku pri temperaturi fermentacije 20 °C primerljive z vsebnostjo fitinske kisline v zamesu pri beli moki, črni moki in polnozrnati moki pri postopku s podaljšano fermentacijo pri temperaturi 20 °C. Prav tako so primerljivi rezultati pri testu po fermentaciji (20 °C) pri direktnem postopku pri beli, črni in polnozrnati moki z rezultati pri testu po fermentaciji (1 h) pri postopku s podaljšano fermentacijo pri beli, črni in polnozrnati moki. Enako velja za vsebnost fitinske kisline v sredici kruha, ki smo ga izdelali z direktnim postopkom ali s postopkom podaljšane fermentacije pri temperaturi fermentacije 20 °C. Pri izdelavi kruha s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa, pa so bile vsebnosti fitinske kisline pri zamesu in po fermentaciji pri temperaturi 20 °C nekoliko manjše.

Dodatek kislega testa je še posebno vplival na vsebnost fitinske kisline. Večji dodatek kislega testa je povzročil manjšo vsebnost fitinske kisline.

Med tehnološkim procesom izdelave pekovskih izdelkov se v testu in kasneje v kruhu vsebnost fitinske kisline zmanjšuje zaradi aktivnosti native fitaze in fitaze mikrobiološkega izvora. Zmanjšanje vsebine fitinske kisline med peko kruha je odvisna od aktivnosti fitaze. Aktivnost fitaze je odvisna od vrste moke, časa in temperature fermentacije ter kislosti testa (Turk in Sandberg, 1992).

Buddrick (2014) je s sodelavci odkril, da je pH vrednost zelo pomemben dejavnik pri zmanjšanju vsebnosti fitinske kisline med izdelavo belega, črnega in polnozrnatega kruha z različnimi postopki izdelave. V testu s pH 4,3-4,6 se vsebnost fitinske kisline bistveno bolj zmanjša, kot v testu z višjim pH (Konietzny in Greiner, 2004). Vpliv nižje pH vrednosti na vsebnost fitinske kisline je bil še posebej izrazit, ko je bilo testu dodano kislo testo. Pri testu z dodanim 5 % kislega testa se je vsebnost fitinske kisline v primerjavi z vsebnostjo fitinske kisline v moki zmanjšala do 0,10 g/100 g s.s., medtem ko se je pri testu z dodatkom 10 % kislega testa vsebnost fitinske kisline zmanjšala še bolj, in sicer do 0,50 g/100 g s.s. Kruh, ki smo ga izdelali s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa, je imel bolj primerno pH vrednost za razgradnjo fitata z endogenimi fitazami.

Lopez in sodelavci (2000) so dokazali, da se vsebnost fitinske kisline bistveno bolj zmanjša pri pšeničnem kruhu z dodanim kislim testom (62 %), kot pri kruhu, izdelanim s postopkom direktnega zamesa (38 %).

Reale in sodelavci (2004) so ugotovili, da pride do večje razgradnje fitinske kisline v kruhu pri kruhu, ki je bil izdelan iz testa, ki je fermentiralo dalj časa v primerjavi s kruhom, izdelanim s postopkom direktnega zamesa, kjer je čas fermentacije testa bistveno krajši.

Leenhardt in sodelavci (2005) so objavili, da rahlo zakisanje testa s kislim testom na 5,5 ali pa dodatek mlečne kisline, vodita k signifikantnemu zmanjšanju vsebnosti fitinske kisline.

Z uživanjem kruha iz polnozrnate moke zaužijemo večje količine fitinske kisline. Ne smemo pa mimo dejstva, da fitinska kislina veže minerale, ki so prisotni v polnozrnatih moki in z njimi tvori netopne komplekse. Ti kompleksi vplivajo na zmanjšano izkoristljivost mineralov, kar negativno vpliva na zdravje človeka. Pomanjkanje mineralov v telesu lahko zaradi vezave s fitinsko kislino povzroči poslabšanje imunskega sistema (Burbano in sod., 1995).

Če povzamemo vse rezultate naših meritev lahko zaključimo, da dosežemo najmanjši vnos fitinske kisline v organizem z zaužitjem belega kruha.

Fitinska kislina se v zrnju nahaja v alevronski plasti in pri mletju pšenice v polnozrnatu moko, prehaja v moko, medtem ko pri mletju pšenice v belo moko alevronsko plast odstranjujemo in s tem tudi delež fitinske kisline.

Bela moka, ki vsebuje v glavnem endosperm, vsebuje tudi manj kot tretjino mineralov, prisotnih v celem zrnju (Salovaara, 1993). Torej, če uživamo samo bel kruh, lahko pride do pomanjkanja mineralov v telesu, kar lahko povzroči poslabšanje imunskega sistema.

Kruh izdelan s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa ali pa s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo, kjer je čas fermentacije daljši, je vseboval bistveno manj fitinske kisline, kot pa kruh, ki smo ga izdelali s postopkom direktnega zamesa ne glede na vrsto uporabljene moke. Z zmanjševanjem deleža fitinske kisline se poveča izkoristljivost mineralov, predvsem cinka, kar posledično pomeni tudi zmanjšanje absorpcije bakra (Zhou in Erdman, 1995).

Če bi želeli zmanjšati vnos fitinske kisline v organizem s kruhom, bi bilo potrebno uživati bel ali črn kruh, ki smo ga izdelali s postopkom zamesa z dodatkom kislega testa (10 %), v katerem fitinske kisline nismo izmerili.

Zelo majhne vsebnosti fitinske kisline smo izmerili v belem kruhu, ki smo ga izdelali s postopkom zamesa s podaljšano fermentacijo (6-urna fermentacija). Takšne vrste kruha so primerne za slabokrvne ljudi, predvsem zaradi zmanjšanja vezave fitinske kisline z železom v netopne komplekse (Torre in sod., 1991). Po drugi strani pa morajo ljudje, ki imajo preveč železa, uživati kruh, ki vsebuje veliko fitinske kisline, ker se le-ta veže z železom, kar povzroča zmanjšanje količine železa in s tem zmanjšanje možnosti nastanka srčnih obolenj.

Na splošno pa lahko povzamemo, da z rezino belega kruha (cca 0,10 kg) dnevno človek zaužije 0,10 g fitinske kisline, z rezino črnega kruha 0,182 g fitinske kisline in ob zaužitju rezine polnozrnatega kruha 0,374 g fitinske kisline.

Ker pa je določena populacija ljudi navajena uživati samo bel kruh, obstaja možnost, da manjše vsebnosti fitinske kisline v belem kruhu lahko nadomestimo z dodajanjem ječmenove ali sojine moke, ki povečata vsebnost fitinske kisline do 20 % (Shfali in Sudesh, 2001).

Glede na rezultate analiz vsebnosti fitinske kisline v kruhu iz pšenične bele moke, pšenične črne moke in polnozrnate pšenične moke, ki smo jih izdelali z različnimi tehnološkimi postopki lahko potrdimo:

- hipotezo 1, da osnovna surovina oziroma tip moke vpliva na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha,
- hipotezo 2, da vrsta tehnološkega postopka vpliva na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha,
- hipotezo 3, da količina dodatka kislega testa vpliva na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha.

## 5.6 SKLEPI

Na podlagi analiz in rezultatov, ki smo jih pridobili z raziskovalnim delom v okviru magistrske naloge, lahko zapišemo naslednje sklepe:

- osnovna surovina pomembno vpliva na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha, saj smo ne glede na tehnološki postopek izdelave kruha največjo vsebnost fitinske kisline izmerili v izdelkih iz polnozrnate moke, manjšo v izdelkih iz črne moke tipa 1100 in najmanjšo v izdelkih iz bele moke tip 500,
- s spreminjanjem parametrov tehnološkega procesa lahko vplivamo na vsebnost fitinske kisline v pekovskih izdelkih, saj smo ne glede na tehnološki postopek izdelave kruha oz. vrsto uporabljene moke izmerili, da se je vsebnost fitinske kisline statistično značilno zmanjševala v vsaki fazi postopka izdelave kruha,
- z dodatkom kislega testa lahko zmanjšamo vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha, v kruhah z zadostno količino kislega testa pa je lahko razgradnja fitinske kisline popolna.



## 6 POVZETEK (SUMMARY)

### 6.1 POVZETEK

Glavni vir fitinske kisline v prehrani v zahodnih državah so žita. Večja količina zaužite fitinske kisline je povezana z manjšim deležem mesa v prehrani (Plaami, 1997). Fitinska kislina je nehranljiva snov, ki v semenih vseh žitaric in oljaric predstavlja zalogo fosforja. Fitinska kislina je znana po vplivu na zmanjšanje izkoristljivosti mineralov in zmanjševanju topnosti beljakovin. Za zmanjševanje vsebnosti fitinske kisline je poznanih več metod, kot so razgrajevanje fitinske kisline med procesom namakanja, kaljenja, fermentacije, inaktivacije fitaz s segrevanjem.

Fitinska kislina je eden od naravnih antioksidantov. Že majhne količine fitinske kisline inhibirajo oksidacijske procese, ki jih katalizirajo železovi ioni. Fitinska kislina z železom tvori katalitično neaktivne železove kelate in tako lahko zmanjšajo oksidacijo maščob (Lee in Hendricks, 1995).

Namen magistrskega dela je bil ugotoviti, kako vrsta oziroma tip uporabljene moke in različni tehnološki postopki izdelave kruha vplivajo na vsebnost fitinske kisline v testu in različnih vrstah kruha.

Predvidevali smo, da bo osnovna surovina oziroma tip moke vplival na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha. Predvidevali smo tudi, da bo vrsta tehnološkega postopka vplivala na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha kot tudi, da bo količina dodatka kislega testa vplivala na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha.

Iz iste pšenice smo pripravili tri vrste mok, in sicer pšenično belo moko (tip 500), pšenično črno moko (tip 1100) in pšenično polnozrnato moko. Iz vseh treh tipov mok smo izdelali kruh po treh različnih postopkih (po postopku direktnega zamesa, po postopku zamesa s podaljšano fermentacijo in po postopku zamesa z dodatkom kislega testa). Pri postopku direktnega zamesa smo postopek še dodatno ločili na postopka, kjer je fermentacija potekala pri 20 °C in 30 °C.

Vzorcem smo izmerili vsebnost suhe snovi, pH vrednost in vsebnost fitinske kisline (g/100 g s.s.).

Suho snov, pH vrednost in vsebnost fitinske kisline smo izmerili v testu takoj po zamesu, v testu po fermentaciji in v kruhu (ločeno v skorji in sredici) v dveh ponovitvah in v dveh paralelkah. Vzorce smo zamrzovali s tekočim dušikom in jih do analiz shranili v zamrzovalniku.

Najmanjšo vsebnost suhe snovi smo izmerili v testu takoj po zamesu, največjo pa v skorji kruha. Obraten trend smo opazili pri vrednostih pH. Ravno tako smo najvišjo pH vrednost izmerili v izdelkih iz polnozrnate moke, nižjo pH vrednost v izdelkih iz črne moke tip 1100 in najnižjo pH vrednost v izdelkih iz bele moke tip 500.

Različno vsebnost fitinske kisline smo izmerili že v osnovni surovini in sicer v polnozrnati moki 0,95 g fitinske kisline/100 g s.s., nekoliko manj v črni moki tip 1100 (0,44 g/100 g s.s.) in najmanj v beli moki tip 500 (0,58 g/100 g s.s.)

Med procesom izdelave kruha se je vsebnost fitinske kisline zmanjševala. Največjo vsebnost fitinske kisline smo izmerili v testu takoj po zamesu, nekoliko manjšo v testu po fermentaciji, še manjšo v sredici kruha in najmanjšo v skorji kruha. Razlike so bile statistično značilne pri vseh vrstah uporabljenih mok.

Vrsta moke je vplivala na vsebnost fitinske kisline v testu in kruhu, saj smo največjo vsebnost fitinske kisline izmerili v izdelkih iz polnozrnate moke, manjšo vsebnost v izdelkih iz črne moke tip 1100 in najmanjšo vsebnost fitinske kisline v izdelkih iz bele moke tip 500. Razlike so bile statistično značilne pri vseh treh postopkih priprave kruha.

Pri primerjavi vseh treh postopkov priprave kruha smo ugotovili, da se je vsebnost fitinske kisline najmanj spreminjala pri direktnem postopku zamesa. Pomembnejši vpliv na intenziteto zmanjševanja vsebnosti fitinske kisline med procesom priprave kruha je imel čas fermentacije in dodatek kislega testa.

Vpliv pH smo potrdili tudi z močnimi in statistično značilnimi pozitivnimi korelacijami med vsebnostjo fitinske kisline in pH vrednostjo; najmočnejša je bila pozitivna korelacija pri postopku zamesa s podaljšano fermentacijo ( $r = 0,94$ ,  $p < 0,0001$ ).

Med vsemi vzorci smo največjo vsebnost fitinske kisline (0,95 g/100 g s.s.) izmerili v testu iz polnozrnate moke takoj po zamesu. V testu iz bele moke tip 500 z dodatkom 10 % kislega testa po fermentaciji, v sredici in skorji kruha iz istega testa ter sredici in skorji kruha iz črne moke tip 1100 z dodatkom 10 % kislega testa pa fitinske kisline nismo izmerili.

Z rezultati našega poskusa smo potrdili, da osnovna surovina oziroma tip moke vpliva na vsebnost fitinske kisline v različnih vrstah kruha. Prav tako smo dokazali, da ima vrsta tehnološkega postopka priprave kruha vpliv na vsebnost fitinske kisline v kruhu kot tudi, da količina dodatka kislega testa vpliva na vsebnost fitinske kisline v kruhu. Tako smo potrdili tudi vse zastavljene hipoteze.

## 6.2 SUMMARY

Cereals are the main sources of phytic acid in the western countries' diet. Higher amount of consumed phytic acid is correlated to a lower amount of meat ratio in the diet (Plaami, 1997). Phytic acid is an antinutritive compound, which represents the stock of phosphorus in cereal and oil seeds. Phytic acid is known for its influence to lessen availability of minerals and reduction of the solubility of proteins. Several methods are used to lower the content of phytic acid: degradation during the process of retting, germination, fermentation, inactivation of phytases by heating.

Phytic acid is one of the natural antioxidants. Even a small amount of phytic acid inhibits the oxidation processes, catalysed by iron ions. With iron, phytic acid forms catalytic inactive iron chelates, and thus radically reduce oxidation of fats (Lee and Hendricks, 1995).

The purpose of our work was to find out how the type of flour used and different technological procedures of bread making and the addition of sourdough influence the content of phytic acid in dough and different types of bread.

It was assumed that the basic raw material or type of flour would affect the content of phytic acid in different types of bread. We also presumed that the type of technological procedure will influence the content of phytic acid in different types of bread, as well as that the amount of added sourdough will affect the content of phytic acid in different types of bread.

Three types of flour were prepared from the same wheat: white wheat flour (type 500), dark wheat flour (type 1100) and wholegrain wheat flour. These flours were used to prepare bread, using three different procedures (direct procedure, procedure with prolonged fermentation, and procedure with the addition of sourdough). The process of direct procedure was additionally divided according to fermentation temperature: 20°C and 30°C.

The content of dry matter, the pH value and the content of phytic acid (g/100 g dry matter) were determined. Dry matter, pH value and the content of phytic acid were determined in the dough immediately after kneading, in the dough after fermentation and in bread (separately for crust and crumb) in duplicate and two replicates. The samples were frozen with liquid nitrogen and saved in the freezer prior the analyses.

The results of analyses showed that lowest amount of dry matter content was determined in the dough immediately after kneading and the highest in the crust of bread. The opposite trend was observed for pH values, because the highest pH value was determined in the dough immediately after kneading and the lowest in the crust of bread. Similarly, the highest pH value was determined in wholegrain wheat flour products, lower pH value in the products of dark flour type 1100 and the lowest pH value in products made from white flour type 500.

Different phytic acid content was determined already in the raw materials: in the wholegrain wheat flour 0.95 g phytic acid in 100 g dry matter, a bit less in dark flour type 1100 (0.44 g/100 g dry matter) and the lowest in white flour type 500 (0.58 g/100 g dry matter).

During the process of bread production, the content of phytic acid decreased. The highest content of phytic acid was determined in the dough immediately after kneading, somewhat lower in the dough after fermentation, even lower in the bread crumb and the lowest in the bread crust. The differences were statistically significant for all types of flour used.

Type of flour affected the content of phytic acid in the dough and bread, because we determined the highest content of phytic acid in products from wholegrain wheat flour, lower content in products from dark flour type 1100 and the lowest content of phytic acid in white flour type 500 products. The differences were statistically significant for all three breadmaking procedures.

When comparing all three breadmaking procedures, we found that the phytic acid content changed the least during the direct breadmaking procedure. On the other hand, the time of fermentation and the addition of sourdough, respectively, had strong impact on the phytic acid content during the process of bread preparation.

The effect of pH was confirmed to have a strong and statistically significant positive correlation between the content of phytic acid and pH value; the strongest positive correlation was calculated for indirect breadmaking procedure with prolonged fermentation ( $r=0.94$ ,  $p<0.0001$ ).

The highest phytic acid content (0.95 g/100 g of dry matter) was determined in the wholegrain dough immediately after kneading. In the white flour dough with the addition of 10% of sourdough after fermentation, in the crumb and crust of the same bread and in the crumb and crust of the T 1100 flour bread with the addition of 10% of sourdough phytic acid was not determined.

Among all samples, the highest content of phytic acid (0.95 g/100 g dry matter) was determined in the dough from wholemeal flour immediately after kneading. In the dough from white flour type 500 with the addition of 10% fermented sourdough, in the core and crust of bread from the same dough and core and crust of bread made of black flour type 1100 with the addition of 10% sourdough phytic acid could not be determined.

The results of our experiment showed that the basic raw material or type of flour affects the content of phytic acid in different types of bread. We also proved that the type of technological procedure affects the content of phytic acid in different types of bread as well as that the amount of added sourdough influences the content of phytic acid in different types of bread. Thus, all our hypotheses were confirmed.

## 7 VIRI

- Ahn H.J., Kim J.H., Jo C., Kim M.J., Byun M.W. 2004. Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity. *Food Chemistry*, 88, 2: 173-178.
- Analizni list vhodne kontrole pšenice. 2006. Ljubljana, Žito d.d.: 4 str. (interno gradivo).
- Analizni list moke. 2006. Ljubljana, Žito d.d.: 1 str. (interno gradivo).
- AOAC Official Method 943.02. pH value in flour, bread and baked products. 1999. V: Official method of analysis of the AOAC international. Cunniff P. (ed.). Vol. 2. 17<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, AOAC International, Chapter 32: 11-11.
- Barak S., Mudgil D., Khatkar B.S. 2015. Biochemical and functional properties of wheat gliadins: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55: 357-368.
- Batič M. 2000. Pekarski izdelki-funkcionalna živila. *Mlinarstvo in pekarstvo*, 4, 12: 17-22.
- Bjorck I.M., Nyman M.E. 1987. *In vitro* effects of phytic acid and polyphenols on starch digestion and fiber degradation. *Journal of Food Science*, 52, 6: 1588-1594.
- Bohm L., Josefsen L., Meyer A.S., Rasmussen S.K. 2007. Quantitative analysis of phytate globoids isolated from wheat bran and characterization of their sequential dephosphorylation by wheat phytase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 7547-7552.
- Brown R.E. 1995. What is the role of the immune system in determining individually distinct body odours? *International Journal of Immunopharmacology*, 17, 8: 655-661.
- Brandt M.J. 2015. Quality improvement and fermentation control in dough fermentations. V: *Advances in fermented foods and beverages*. Holzappel W. (ed.). Amsterdam, Elsevier: 391-407.
- Buddrick O., Jones O.A.H., Cornell J.H. 2014. The influence of fermentation processes and cereal grains in wholegrain bread on reducing phytate content. *Journal of Cereal Science*, 59, 1: 3-8.
- Burbano C., Muzquiz M., Osagie A., Ayet G., Cuadrado C. 1995. Determination of phytate and lower inositol phosphates in Spanish legumes by HPLC methodology. *Food Chemistry*, 52: 321-325.
- Camire A. L., Clydesdale F.M. 1982. Analysis of phytic acid in foods by HPLC. *Journal of Food Science*, 47: 575-578.

- Campos-Vega R., Loarca-Pina G., Oomah B.D. 2010. Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, 43, 2: 461-482.
- Chen Y., Chen J., Luo Z., Ma K., Chen X. 2009. Synchronous fluorescence analysis of phytate in food. *Microchimica Acta*, 164: 35-40.
- Coulibaly A., Kouakou B., Chen J., 2011. Phytic acid in cereal grains: Structure, healthy or harmful ways to reduce phytic acid in cereal grains and their effects on nutritional quality. *American Journal of Plant Nutrition and Fertilization Technology*, 1, 1: 1-22.
- Damodaran S. 2008. Amino acids, peptides and proteins. V: Fennema's food chemistry. 4<sup>rd</sup> ed. Damodaran S., Parkin K. L., Fennema O. R. (eds.). Boca Raton, CRC Press: 217-329.
- Davidsson L., Galan P., Kastenmayer P., Cherouvrier F. 1994. Iron bioavailability studied in infants: the influence of phytic acid and ascorbic acid in infant formulas based on soy isolate. *Pediatric Research*, 36: 816-822.
- Delcour J.A., Hosney R.C. 2010. Principles of cereal science and technology. 3<sup>rd</sup> ed. St.Paul, AACC International: 270 str.
- Denstadli V., Storebakken T., Svihus B., Skrede A. 2006. A comparison of online phytase pre-treatment of vegetable feed ingredients and phytase coating in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in cold water. *Aquaculture*, 269, 1-4: 414-426.
- Dost K., Tokul O. 2006. Determination of phytic acid in wheat products by reverse phase high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 558: 22-27.
- Erbas M., Ertugay M.F., Certel M. 2005. Moisture adsorption behaviour of semolina and ferina. *Journal of Food Engineering*, 60, 2:191-198.
- Febles C.I., Arias A., Hardisson A., Rodriguez-Alvarez C., Sierra A. 2002. Phytic acid level in wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 36: 19-23.
- Fischer M.M., Egli I.M., Aeberli I., Hurrell R.F., Meile L. 2014. Phytic acid degrading lactic acid bacteria in teff-injera fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 190: 54-60.
- Fujita J., Shigeta S., Yamane Y.I., Fukuda H., Kizaki Y., Wakabayashi S., Ono K. 2003. Production of two types of phytase from *Aspergillus oryzae* during industrial koji making. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 95, 5: 460-465.
- Garcia-Esteva Rosa., M. Guerra-Hernandez E., Garcia - Villanova B. 1999. Phytic acid content in milled cereal products and breads. *Food Research International*, 32: 217-221.

- Geissler C. 2005. Nutrition policies in developing and developed countries. V: Encyclopedia of human nutrition. Vol. 3. 2<sup>nd</sup> (ed.). Caballero B., Allen L., Prentice A. (eds.). Amsterdam, Elsevier: 293-301.
- Giovanelli G., Polo R. 1994. Formation of fermentation products and reduction in phytic acid in wheat and rye flour breadmaking. Italian Journal of Food Science, 6, 1: 71-83.
- Graf E., Dintzis F.R. 1982. High-performance liquid chromatographic method for the determination of phytate. Analytical Biochemistry, 119, 2: 413-417.
- Graf E., Eaton J.W. 1990. Antioxidant functions of phytic acid. Free Radical Biology and Medicine, 8, 1: 61-69.
- Gray K.A., Zhao L., Emptage M. 2006. Bioethanol. Current opinion in Chemical Biology, 12, 2: 141-146.
- Greiner R., Konietzny U., Blackburn D.M., Jorquera M.A. 2013. Production of partially phosphorylated myo-inositol phosphates using phytates immobilised on magnetic nanoparticles. Bioresource Technology, 142: 375-383.
- Greiner R., Konietzny U. 2009. Phytate –degrading enzymes for food application. New Biotechnology, 25, Suppl.: S109-S109.
- Haug W., Lantsch H.J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. Journal of the Science of Food and Agriculture, 34: 1423-1426.
- Hallberg L. 1987. Wheat fiber, phytates and iron absorption. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 22: 73-79.
- Hartig T. 1855. Uber das klebermehl. Botanische Zeitung, 13: 881-882.
- Hidvegi M., Lasztity R. 2003. Phytic acid of cereals and legumes and interaction with proteins. Periodica Polytechnica Chemical Engineering, 46, 1-2: 59-64.
- Hirose M., Ozaki K., Takaba K., Fukushima S., Shirai T., Ito N. 1991. Modifying effects of the naturally occurring antioxidants gamma-oryzanol, phytic acid, tannin acid and n-tritriacontane-16, 18-dione in a rat wide-spectrum organ carcinogenesis model. Carcinogenesis, 10: 1917-1921.
- Hischenhuber C., Crevel R., Jarry B., Maki M., Moneret-Vautrin D.A., Romano A., Troncone R., Ward R. 2006. Safe amounts of gluten for patients with wheat allergy or coeliac disease. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 23: 559-575.
- Hrovat M., Raspor P., Rihter I. 2001. Tehnološke osnove proizvodnje kruha. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije 5-32.

- Hurrell R.F. 2003. Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral bioavailability. *Journal of Nutrition*, 133: 2973S-2977S.
- Jamal Y., Sachdev M.S., Seyal A.R., Ismail M.K., Tombazzi C.R. 2009. Predictive factors of positive findings of capsule endoscopy. *Gastroenterology*, 140, 5, Suppl. 1: S-757-S-758.
- Jones G. 2014. How to select the best phytase feed management for your feed formulation. *Feed Management*, 65, 1:18-20.
- Kent N.L., Evers A.D. 1994. *Technology of cereals: An introduction for students of food science and agriculture*. 4<sup>th</sup> ed. Oxford, Pergamon: 334 str.
- Kohlmeier M. 2003. *Nutrient metabolism-structures, functions and genetics*. London, Academic Press: 785 -785.
- Konietzny U., Greiner R. 2004. Bacterial phytase: potential application, *in vivo* function and regulation of its synthesis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35: 11-18.
- Kumar V., Makkar H. P. S., Sinha A.K., Becker K. 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition. *Food Chemistry*, 120, 4:945-959.
- Kumar G., Karthik L., Rao K.V.B. 2013. Phytochemical composition and *in vitro* antioxidant of aqueous extract of *Aerva lanata* (L.) Juss. ex Schult.Stem (*Amaranthaceae*). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6, 3:180-187.
- Lasztity R., Lasztity L. 1990. Phytic acid in cereal technology. V: *Advances in cereal science and technology*. Vol 10. Pomeranz Y. (ed.). St.Paul, AACC: 309-363.
- Lee J.B., Hendricks D.G. 1995. Phytic acid protective against beef round muscle lipid peroxidation. *Journal of Food Science*, 48: 1344-1345.
- Leenhardt F., Levrat-Verny M.A., Chanliau De., Remesa C. 2005. Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 98-102.
- Li H., Qiu J., Liu C., Ren C., Li Z. 2014. Milling characteristics and distribution of phytic acid, minerals, and some nutrients in oat (*Avena sativa* L.). *Journal of Cereal Science*, 60: 549-554.
- Liu C., Liu L., Li L., Hao C., Zheng X., Bian K., Zhang J., Wang X. 2015. Effects of different milling processes on whole wheat flour quality and performance in steamed bread making. *LWT- Food Science and Technology*, 62: 310-318.



- Lopez H. W., Coudray C., Bellanger J. 2000. Resistant starch improves mineral assimilation in rats adapted to a wheat bran diet. *Nutrition Research*, 20: 141-155.
- Lopez H.W., Duclos V., Coudray C., Krespine V., Coudray C.F., Messenger A., Demigne C., Remesy C. 2003. Making bread with sourdough improves mineral bioavailability from reconstituted whole eheat flour in rats. *Nutrition*, 19: 524-530.
- Madan V., Lear J.T., Szeimies R.M. 2010. Non-melanoma skin cancer. *Lancet*, 375, 9715: 673-685.
- Magala M., Kohajdova Z., Karovučova J. 2015. Degradation of phytic acid during fermentation of cereal substrates. *Journal of Cereal Science*, 61: 94-96.
- Mak W.C., Ng Y.M., Chan C., Kwong W.K. 2004. Novel biosensors for quantitative phytic acid and phytase measurment. *Biosensors and Bioelectronics*,19: 1029-1035.
- Marklinder I.M., Larsson M., Frenlund K., Sandberg A.S. 1995. Degradation of phytate by using varied sources of phytases in an oat based nutrient solution fermented by *Lactobacillus plantarum* strain 299. *Food Microbiology*, 12: 487-495.
- Modestine M.K.S., Gouado I., Mananga M.J., Asagni W.D., Zollo P.H.A., Oberleas D.,Tetanye E. 2012. Trace elements in foods of children from Cameroon: a focus on zinc and phytate content. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26, 2-3: 201-204.
- Nielsen A.V.F., Tetens I., Meyer A.S. 2013. Potential of phytase –mediated iron release from cereal-based foods: a quantitative view. *Nutrients*, 5: 3074-3098.
- Osman M. A. 2004. Changes in sorghum enzyme inhibitors, phytic acid, tannins and *in vitro* protein digestibility occurring during Khamir (local bread) fermentation. *Food Chemistry*, 88: 129-134.
- Peng W., Ji-Chun T., Walker C.E., Wang F.-C. 2009. Determination of phytic acid in cereals- a brief review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 1671-1676.
- Plaami S. 1997. Myoinositol phosphates: analysis: Content in foods and effects in nutrition. *LWT-Food Science and Technology*, 30: 633-647.
- Plestenjak A., Golob T. 1995. Analiza kakovosti živil. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 95 str.
- Plestenjak A., Požrl T., Zlatič E. 2009. Vpliv fermentacije na aromo kruha. *Mlinarstvo in pekarstvo*, 10, 60: 6-9.
- Pravilnik o kakovosti izdelkov iz žit. 2014. Uradni list Republike Slovenije, 24, 1: 2-6.

- Raboy V. 1990. Biochemistry and genetics of phytic acid synthesis. V: Inositol metabolism in plants. Morre D.J., Boss W.F., Loewus F.A. (eds.). New York, Wiley-Liss Publication: 55-76.
- Raboy V. 2003. Myo-inositol -1, 2, 3, 4, 5, 6-hexakisphosphate. *Phytochemistry*, 64:1033-1043.
- Reale A., Mannina L., Tremonte P., Sobolev A.P., Succi M., Sorrentino E., Coppola R. 2004. Phytate degradation by lactic acid bacteria and yeasts during the wholemeal dough fermentation: a <sup>31</sup>P NMR study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6300-6305.
- Reichwald K., Hatzack F. 2008. Application of modified Haug and Lantzsch method for the rapid and accurate photometrical phytate determination in soybean, wheat, and maize meals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 2888-2891.
- Reicks M., Jonnalagadda S., Albertson A.M., Joshi N. 2014. Total dietary fiber intakes in the US population are related to whole grain consumption: result from the National health and nutrition examination survey 2009 to 2010. *Nutrition Research*, 34, 3: 226-234.
- Rihter I. 2010. Osnovne vrste kruha in pekovskega peciva. Ljubljana. Ministrstvo za šolstvo in šport: 50 str.
- Ryden P., Selvendran R.R. 1993. Phytic acid: Properties and determination. V: *Encyclopedia of food science, food technology and nutrition*. Vol. 6. Macrae R., Robinson R.K., Sadler M.J. (eds.). London, Academic Press: 3582-3590.
- Rossander L., Hallberg L., Skanberg AB. 1987. Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. *American Journal of Clinical Nutrition*, 45, 5: 988-996.
- Sakai H., Iwai T., Matsubara C., Usui Y., Okamura M., Yatou O., Terada Y., Aoki N., Nishida S., Yoshida K.T. 2015. A decrease in phytic acid content substantially affects the distribution of mineral elements within rice seeds. *Plant Science*, 238: 170-177.
- Salovaara H. 1993. Contribution to the diet. V: *Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition*. Vol. 2. Macrae R., Robinson R.K., Sadler M.J. (eds.). London, Academic Press: 768-772.
- Sandberg A.S., Ahderinne R. 1986. HPLC Method for determination of inositol tri-, tetra-, penta- hexaphosphates in food and intestinal contents. *Journal of Food Science*, 51: 547-550.
- Sandberg A.S., Anderson H., Carlesson N.G. Sandström B. 1986. Degradation products of brain phytate formed during digestion in the small intestine: effects of extrusion cooking on digestibility. *Journal of Nutrition*, 117: 2061-2065.

- Sandberg A.S. 1994. Antinutrient effects of phytate. *Nutrition*, 18, 9: 429-432.
- Schmandke H. 2007. Blutglukose- und -lipidsenkende Wirkung von Phytinsäure. *Ernährungs Umschau*, 54: 254-257.
- Serna-Saldivar S.O. 2010. Cereals grains: properties, processing and nutritional attributes. Boca Raton, CRC Press: 81-108.
- Shewry P.R. 2009. Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60, 6:1537-1553.
- Shfali D., Sudesh J. 2001. Organoleptic and nutritional evaluation of wheat breads supplemented with soyabean and barley flour. *Food Chemistry*, 77: 479-488.
- Slavin J. 2004. Whole grains and human health. *Nutrition Research Reviews*, 17, 1: 99-110
- Sluimer P. 2005. Principles of bread making: functionality of raw materials and process steps. St. Paul, American Association of Cereal Chemists: 224 str.
- Tajnšek T. 1988. Pšenica, Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 18-56.
- Theil E.C., Chen H., Miranda C., Janser H., Elsenhans B., Nunes M.T., Pizarro F., Schumann K. 2012. Absorption of iron from ferritin is independent of heme iron and ferrous salts in women and rat intestinal segments. *Journal of Nutrition*, 142: 478-483.
- Thompson L.U. 1994. Antioxidants and hormone-mediated health benefits of whole grains. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34: 473-497.
- Torre M., Rodriguez A.R., Saura-Calixto F. 1991. Effect of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30, 1: 1-22.
- Turk M., Sandberg A.S. 1992. Phytate degradation during bread making: Effect of phytase addition. *Journal of Cereal Science*, 15: 281-294.
- Wu P., Zhao T., Tian C. 2010. Phytic acid contents of wheat flours from different mill stream. *Agricultural Sciences in China*, 9, 11:1684-1688.
- Yoon J.H., Thompson L.V., Jenkins D.J.A. 1983. The effect of phytic acid on *in vitro* starch digestibility and blood glucose response. *American Journal of Clinical Nutrition*, 38: 835-842.
- Yu-Yen L., Javanainen P., Linko S. 1997. Biotechnology of bread making. *Trends in Food Science and Technology*, 8, 10: 339-344.
- Zhou J.R., Erdman J.W. 1995. Phytic acid in health and disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 6: 495-508.

## **ZAHVALA**

Ob tej priložnosti se zahvaljujem mentorju doc. dr. Tomažu Požrlu in sometorici prof. dr. Tereziji Golob, ki sta mi bila v veliko strokovno pomoč pri izdelavi tega dela.

Zahvaljujem se predsedniku ter članoma komisije za oceno in zagovor.

Posebno se zahvaljujem za pomoč in strokovne nasvete pri izvedbi poizkusa doc. dr. Andreju Plestenjaku in Mariji Simončič, univ.dipl. inž. Prav tako iskrena hvala prof. dr. Lei Gašperlin za pomoč in nasvete pri statistični obdelavi rezultatov.

Osebjem knjižnice Oddelka za živilstvo se zahvaljujem za pomoč in nasvete pri iskanju literature za magistrsko delo.

Mojim staršem hvala za razumevanje ter stalno podporo in pomoč v časovni in organizacijski stiski.

Moji hčerki Emi in Aljošu sem hvaležna za veliko mero potrpežljivosti v času podiplomskega študija in pri izdelavi tega dela. Ema obljubim ti, da bo sedaj naš skupni prosti čas izgledal bistveno drugače.

Vsem, ki ste mi pomagali in vas nisem omenila, prisrčna hvala za vse.

