

# Utjecaj dodatka tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon na fizikalna i bioaktivna svojstva čajnog peciva od pšeničnog brašna

---

Crnogaj, Anja

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:937438>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-22**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Anja Crnogaj

**UTJECAJ DODATKA TROPA GROŽĐA SORTE CABERNET  
SAUVIGNON NA FIZIKALNA I BIOAKTIVNA SVOJSTVA  
ČAJNOG PECIVA OD PŠENIČNOG BRAŠNA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2018.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

Zavod za prehrambene tehnologije / Zavod za procesno inženjerstvo

Katedra za tehnologije prerade žitarica / Katedra za tehnološke operacije

Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Nastavni predmet:** Tehnologija proizvodnje tjestenine i keksarskih proizvoda

**Tema rada:** je prihvaćena na X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2017./2018., održanoj 12. srpnja 2018.

**Mentor:** prof. dr. sc. Daliborka Koceva Komlenić

**Komentor:** izv. prof. dr. sc. Mirela Planinić

**Pomoć pri izradi:** Gordana Šelo, mag. ing.

### Utjecaj dodatka tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon na fizikalna i bioaktivna svojstva čajnog peciva od pšeničnog brašna

Anja Crnogaj, 3722

#### Sažetak:

Proizvođači u prehrambenoj industriji pokušavaju iskoristiti sve nusproizvode kako bi u što većoj mjeri uspjeli zadovoljiti želje i potrebe potrošača. S obzirom na veliku proizvodnju vina, nastaje i velika količina tropa grožđa gdje se dolazi do ideje da se osušen i usitnjen trop doda u čajno pecivo od pšeničnog brašna. Istraživanje je provedeno s ciljem praćenja utjecaja dodatka tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon na određena fizikalna i bioaktivna svojstva čajnog peciva od pšeničnog brašna T-550 tijekom pečenja. Priređeni su zamjesi čajnog peciva prema standardnoj AA CC 10-50.05 metodi od pšeničnog brašna T-550 te zamjesi u kojima je dio pšeničnog brašna zamijenjen usitnjenim tropom grožđa (u udjelima s 10 %, 20 % i 30 %). Tijekom pečenja u određenim vremenskim razmacima određivani su: udio suhe tvari, dužina i visina čajnog peciva, koeficijent širenja, gustoća i ukupna promjena boje. Pored navedenog, određivani su i udjeli: flavonoida, proteina, polifenola i proantocijanidina te antioksidacijska aktivnost uzoraka. Povećanjem tropa u čajnom pecivu povećava se udio suhe tvari, gustoća, dužina i visina, udio flavonoida, proteina, proantocijanidina, te antioksidacijska aktivnost, a smanjuje se koeficijent širenja i ukupna promjena boje.

**Ključne riječi:** čajno pecivo, flavonoidi, polifenoli, proantocijanidini, antioksidacijska svojstva

**Rad sadrži:** 37 stranica  
25 slika  
20 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. Marko Jukić          | predsjednik   |
| 2. prof. dr. sc. Daliborka Koceva Komlenić | član-mentor   |
| 3. izv. prof. dr. sc. Mirela Planinić      | član-komentor |
| 4. izv. prof. dr. sc. Ana Bucić-Kojić      | zamjena člana |

**Datum obrane:** 27. rujna 2019.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici**  
Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATETHESIS

**University Josip Juraj Strossmayer in Osijek**  
**Faculty of Food Technology Osijek**  
**Department of Food Technology / Department of Process Engineering**  
**Subdepartment of Technology of Grains**  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

**Scientific area:** Biotechnical sciences  
**Scientific field:** Food technology  
**Course title:** Tehnologija proizvodnje tjestenine i keksarskih proizvoda  
**Thesis subject** was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. X. (2017/2018) July 12, 2018  
**Mentor:** Daliborka Koceva Komlenić, PhD, prof.  
**Comentor:** Mirela Planinić, PHD, associate prof.  
**Technical assistance:** Gordana Šelo, mag. ing.

### EFFECTS OF GRAPE POMACE ON PHYSICAL AND BIOACTIVE PROPERTIES OF COOKIES

Anja Crnogaj, 416-DI

#### Summary:

Manufacturers in the food industry are trying to use all the by-products in order to meet the wishes and needs of consumers to the fullest extent. Given the great wine making industry, a large amount of grape pomace is created daily so there was an idea of adding of drying and chopped tropes to cookies made of wheat flour. The study was conducted to monitor the influence of Cabernet Sauvignon grape pomace on certain physical and bioactive properties of cookies made of wheat flour T-550 during baking. Mixing was prepared according to standard AA CC 10-50.05 method of wheat flour T-550 and mixes in which wheat flour was replaced by chopped grape pomace (10%, 20% and 30%). During the baking at certain time intervals, the dry matter content, the length and the height of the cookie, the spreading coefficient, the density and the total color change were determined. In addition, the proportions of flavonoids, proteins, polyphenols and proanthocyanidines, as well as antioxidant activity of the samples were determined. Results shown that by increasing pomace in cookies, the proportion of dry matter, density, length and height, the share of flavonoids, proteins, proanthocyanidines, and antioxidant activity increases, and the coefficient of expansion and total color change is reduced.

**Keywords:** cookies, flavonoids, polyphenols, proanthocyanidins, antioxidant activity

**Thesis contains:** 37 pages  
25 figures  
20 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

- |  |             |
|--|-------------|
| 1. Marko Jukić, PhD, associate prof.     | chairperson |
| 2. Daliborka Koceva Komlenić, PhD, prof. | mentor      |
| 3. Mirela Planinić, PhD, associate prof. | comentor    |
| 4. Ana Bucić-Kojić, PhD, associate prof. | stand-in    |

**Defense date:** September 27, 2018

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.**

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	7
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Pšenično brašno.....	2
2.2. Grožđe i trop grožđa .....	2
2.3. Čajno pecivo.....	2
2.3.1. Fizikalna svojstva čajnog peciva .....	3
2.3.2. Bioaktivna svojstva čajnog peciva .....	3
2.4. Polifenoli.....	3
2.4.1. Flavonoidi.....	4
2.4.2. Proantocijanidini.....	4
2.5. Antioksidansi .....	4
2.6. Proteini .....	4
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	6
3.1. Zadatak .....	6
3.2. Materijal.....	6
3.3. Metode .....	7
3.3.1. Određivanje udjela suhe tvari.....	7
3.3.2. Određivanje dužine i visine te koeficijent širenja .....	8
3.3.3. Određivanje ukupne promjene boje.....	8
3.3.4. Određivanje gustoće .....	9
3.3.5. Određivanje ukupnih flavonoida .....	9
3.3.6. Određivanje ukupnih ekstraktibilnih proantocijanidina .....	11
3.3.7. Određivanje ukupnih polifenola .....	11
3.3.8. Određivanje antioksidacijske aktivnosti (DPPH metoda) .....	13
3.3.9. Određivanje ukupnih proteina .....	14
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	16
4.1. Udio suhe tvari .....	16
4.2. Dužina, visina i koeficijent širenja čajnog peciva.....	18
4.3. Gustoća čajnog peciva .....	21
4.4. Ukupna promjene boje .....	23
4.5. Udio proteina .....	25
4.7. Udio ukupnih flavonoida .....	27
4.8. Udio ukupnih polifenola .....	29
4.9. Udio ukupnih proantocijanidina.....	31
4.10. Antioksidacijska aktivnost.....	33

5. ZAKLJUČAK.....	35
6. LITERATURA .....	36

## **POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA**

AA CC – *American Association of Cereal Chemists*

TG – trop grožđa

BSA – goveđi serumski albumin

GAE – ekvivalent galne kiseline

CE – ekvivalenti (+)-katehina

LSD test – test najmanje značajne razlike (*Least Significant Difference*)

## **1. UVOD**



Usljed sve većeg broja elementarnih nepogoda, ljudi su postali svjesni vlastitog utjecaja na okoliš i javila se potreba za recikliranjem kako bi se smanjilo zagađenje okoliša. Zbog toga proizvođači žele iskoristiti sve nusproizvode u prehrambenoj industriji pa tako i proizvođači vina pokušavaju naći način na koji bi iskoristili trop grožđa nakon proizvodnje vina. Nadalje, hrvatska kuhinja je tradicionalno bogata raznim proizvodima kao što su tjestenine, fini pekarski proizvodi te čajna peciva od pšeničnog brašna. Isto tako, s napretkom tehnologije i sve veće potrebe današnjeg društva da se hrani zdravije, proizvođači hrane pokušavaju unaprijediti svoje proizvode te ih nutritivno poboljšati kao na primjer čajna peciva. Iz tih je razloga tema ovog diplomskog rada utjecaj dodatka tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon na fizikalna i bioaktivna svojstva čajnog peciva od pšeničnog brašna.

Utjecaj dodataka tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon na fizikalna i bioaktivna svojstva čajnog peciva od pšeničnog brašna će se odrediti idućim metodama: ukupni flavonoidi će se odrediti spektrofotometrijskom metodom uz pomoć aluminijevog klorida, ukupni proantocijanidini odredit će se spektrofotometrijskom metodom baziranoj na njihovoj reakciji s otopinom kiselina-butanol, ukupni polifenoli Folin-Ciocalteu micro-metodom, antioksidacijska aktivnost spektrofotometrijski DPPH metodom, a proteini Bradfordičinom metodom.

Cilj rada je dokazati da se trop grožđa može potpuno iskoristiti na način da se u usitnjenom obliku, s određenim udjelom koristi kao zamjena za pšeničnog brašna u čajnom pecivu uz povećanje bioaktivnih svojstava gotovog čajnog peciva.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## **2.1. Pšenično brašno**

Hrana je jedna od najnužnijih tvari koja nam je potrebna da bi preživjeli. U današnje vrijeme imamo jako puno različitih vrsta sirovina te proizvoda nastalih od tih sirovina. Jedna takva sirovina je brašno, a najčešće korišteno brašno jest pšenično brašno. Brašno se koristi kao sirovina za proizvodnju kruha, peciva, tjestenina, čajnog peciva i slastica te kao dodatak jelima. Pšenično brašno nastaje mehaničkim usitnjavanjem endosperma zrna pšenice nakon izdvajanja ljuske i klice. U prometu se nalaze različiti tipovi i granulacije brašna. Brašno sadrži određeni udio ugljikohidrata, proteina, lipida, vitamina i mineralnih tvari. Na temelju mineralnih tvari određujemo tip brašna (udio pepela x 1000). Postoji nekoliko naziva i tipova brašna: bijelo (tip 400 i 550), polubijelo (tip 700 i 850), crno (tip 1100 i 1600), kao i brašno iz cijelog zrna (integralno).

## **2.2. Grožđe i trop grožđa**

Grožđe je plod vinove loze i može se jesti svježe ili se može koristiti za proizvodnju vina, džema ili soka. Postoji nekoliko različitih vrsta grožđa od kojih se pravi vino. S obzirom na boju, vino dijelimo na crno, bijelo i ružičasto. Najpopularnija sorta grožđa koja se koristi za proizvodnju crnog vina je Cabernet Sauvignon.

Balasundram i sur. (2006) te Yu i Ahmeda (2013) naveli su kako se kruti ostatak koji zaostaje nakon ekstrakcije soka voća i povrća naziva trop voća i povrća te da sadrži značajne količine prirodnih antioksidansa, fitokemikalija i prehrambenih vlakana. Kemijski sastav, a time i prehrambena svojstva tropa grožđa, kao i udio pojedinih dijelova grožđa u tropu ovise o sorti grožđa, geografskom podrijetlu, agrotehničkim uvjetima uzgoja, klimatskim uvjetima te o postupku prerade (Teixeira i sur., 2014; Deng i sur., 2011; Bucić-Kojić i sur., 2017). Trop grožđa se može iskoristiti na razne načine, kao bojilo, ulje, vinska kiselina, brašno ili začini (Garcia-Lomillo i Gonzalez-SanJose, 2016).

## **2.3. Čajno pecivo**

Čajno pecivo je omiljen proizvod koji se proizvodi od brašna. Danas postoji mnogo različitih vrsta. U proizvodnji se koriste sve vrste brašna te im se dodaju različiti sastojci koji će poboljšati ili promijeniti okus. Mogu poslužiti kao poslastica, ali porastom svijesti o prednostima nutritivno bogate prehrane te ubrzanog načina života, keksi često postaju zamjena za doručak. U takva se čajna peciva dodaju sastojci koji će ga nutritivno obogatiti.

Neka su istraživanja pokazala da je brašno tropa grožđa pokazalo bolju vezivost nego brašno ostalih sjemenki koje također imaju visoku nutritivnu vrijednost (Garcia-Lomillo, Gonzalez-SanJose, 2016). Također, pekarski i fini pekarski proizvodi sadržavaju visoke udjele ugljikohidrata, a upotrebom brašna proizvedenog od tropa voća može povećati količinu vlakana u njima (Karnopp i sur., 2015).

### **2.3.1. Fizikalna svojstva čajnog peciva**

Fizikalna svojstva tvari, tako i hrane, očituju se tijekom nekakvih fizikalnih promjena. Fizikalnim svojstvima smatramo boju, čvrstoću, električnu vodljivost, gustoća, miris, okus, talište, vrelište i volumen. Fizikalna svojstva koja se najčešće određuju kod čajnih peciva su: dužina i visina čajnog peciva, koeficijent širenja, gustoća i ukupna promjena boje. Koeficijent širenja čajnog peciva predstavlja promjenu obujma keksa u ovisnosti o temperaturi. Gustoća je odnos mase i volumena nekog tijela što pokazuje koliko je mase sadržano u jedinici volumena.

### **2.3.2. Bioaktivna svojstva čajnog peciva**

Bioaktivna svojstva se ne mogu primijetiti osjetilima kao fizikalna svojstva. Ona se očituju nekakvim unutarnjim promjenama strukture te iste tvari ili u interakcijama s nekim drugim tvarima. U kemijskim reakcijama mijenjaju svoja svojstva i time mogu imati različit utjecaj na naš organizam. Kod praćenja bioaktivnih svojstva najčešće se određuju flavonoidi, polifenoli, proantocijanidini, proteini te antioksidacijska aktivnost.

## **2.4. Polifenoli**

Polifenoli su prisutni u više od tisuću spojeva koji imaju različite kemijske strukture i jedni su od najrasprostranjenijih skupina spojeva u biljkama. Postoje razne vrste spojeva koji uključuju flavonoide od jednostavnih do najsloženijih. Novija istraživanja pokazuju da polifenoli usporavaju starenje te imaju antioksidacijska, antimikrobna i antialergijska svojstva (Ljevar, 2016). Oni pospješuju senzorske karakteristike vina kao što su okus, boja, oporost, ali i antioksidacijski potencijal iako su u grožđu zastupljeni u malim količinama (Cedilak, 2016).

### **2.4.1. Flavonoidi**

Flavonoidi su grupa prirodno prisutnih heterocikličkih spojeva s kisikom. Kurtagić (2017) tvrdi da flavonoidi uključuju flavone, izoflavone, proantocijanidine i antocijanidine. Mogu se pronaći u slobodnom obliku, u obliku glikozida ili kompleksa s nekim drugim spojevima. Osnovni su dio ljudske i životinjske prehrane, ali se ne mogu sintetizirati ni u životinjama ni u ljudima. Znanstvenici su istraživanjima pokazali biološke učinke flavonoida kao što su antivirusni, antibakterijski, antitumorski, antifungalni i drugi. Ustanovljeno je da imaju i sposobnost čišćenja slobodnih radikala. Samo pojedini broj flavonoida daje boju biljkama zbog upijanja u vidljivom dijelu spektra. Povećanjem broja hidroksilnih grupa, povećava se i antioksidativna aktivnost flavonoida. Također, flavonoidi su sastavne obojene komponente cvjetova biljaka i obojene komponente u hrani.

### **2.4.2. Proantocijanidini**

Ćurko i sur. (2017) u svom članku tvrde da su proantocijanidini glavne fenolske sastavnice kože grožđa i da pripadaju u skupinu flavonoida. Oni također tvrde da su posljednjih godina proantocijanidini privukli pozornost jer su zaslužni za puno fizikalnih svojstava vina kao što su okus i boja, ali i zbog toga jer se koriste u borbi protiv kardiovaskularnih poteškoća.

## **2.5. Antioksidansi**

Antioksidansi su kemijske tvari kojima je cilj spriječiti nakupljanje slobodnih radikala u stanicama te štiti organizam od oksidativnog stresa, odnosno usporiti ili zaustaviti oksidaciju proizvoda koji bi se inače lako pokvarili oksidacijom. Antioksidansi to mogu čak i kad su prisutni u maloj količini. Nadalje, usporavaju starenje, smanjuju rizik nastanka raka, štite srce i krvne žile. Najvažniji izvor antioksidanasa za čovjeka je hrana. Namirnice koje imaju najviše antioksidanasa su grah, borovnica, brusnica, kupina, šljiva. Polifenoli, flavonoidi, pa čak i vitamini C i E, neki minerali i koenzimi imaju antioksidativno djelovanje.

## **2.6. Proteini**

Proteini su makromolekule. Osnovna jedinica od koje su građeni proteini jesu aminokiseline koje su povezane peptidnom vezom. Proteini imaju jako važnu ulogu u biološkim sustavima. Najvažnija uloga je energija kojom opskrbljuje organizam. Također, kemijski i biokemijski procesi koji su odgovorni za život organizma se odvijaju putem enzima, a enzimi su proteini.

Proteini hrane mogu se definirati kao sastojci koji su nutritivno primjereni, netoksični i probavljivi. Osim u namirnicama životinjskog podrijetla, kao što su jaja, mlijeko i meso, proteini se nalaze i u raznim biljnim namirnicama poput žitarica i leguminoza.

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Zadatak

Cilj istraživanja je pratiti utjecaj dodatka tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon na određena fizikalna i bioaktivna svojstva čajnog peciva od pšeničnog brašna T-550 tijekom pečenja.

Zadatak diplomskog rada je prirediti zamjes čajnog peciva prema standardnoj AA CC 10-50.05 metodi od pšeničnog brašna T-550 te zamjese u kojima je dio pšeničnog brašna zamijenjen usitnjenim tropom grožđa u udjelima 10 %, 20 % i 30 % te tijekom pečenja u određenim vremenskim razmacima određivati: udio suhe tvari, dužinu i visinu čajnog peciva, koeficijent širenja, gustoću i ukupnu promjenu boje. Pored navedenog, određivat će se: sadržaj flavonoida, polifenola i proantocijanidina te antioksidacijska aktivnost uzoraka. Dobiveni rezultati usporedit će se s navedenim fizikalnim i bioaktivnim svojstvima kontrolnog uzorka, čajnog peciva od brašna T-550 (bez dodatka tropa grožđa).

### 3.2. Materijal

Sirovine za zamjes čajnog peciva:

- shortening (margarin)
- šećer (kristal)
- NaCl
- otopine glukoze (8,9 g glukoze otopiti u 150 cm<sup>3</sup> destilirane vode)
- destilirana voda
- oštro pšenično brašno T-550

Trop grožđa sorte Cabernet Sauvignon dobiven je iz vinarije tvrtke Erdustki vinogradi d.o.o., a predstavlja kruti otpad zaostao u procesu proizvodnje vina. Trop grožđa je nakon prikupljanja zamrznut i čuvan na – 20 °C. Nakon odmrzavanja, trop grožđa je sušen na zraku do udjela vlage < 9 % nekog čega je usitnjen na laboratorijskom milinu,

Ostale kemikalije:

- 5 %-tna otopina natrijevog nitrata (5 g u 100 cm<sup>3</sup> destilirane vode)
- 10 %-tna vodena otopina aluminijevog klorida (10 g u 100 cm<sup>3</sup> destilirane vode)
- 1 M natrijev hidroksid
- 96 %-tni etanol
- 5 cm<sup>3</sup> otopine željezo(II)sulfat heptahidrata (77 mg FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O u 500 cm<sup>3</sup> otopine kloridne kiseline : 1-butanol pomiješane u omjeru 2:3)
- Folin-Ciocalteuov reagens



- galna kiselina
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal (DPPH $\cdot$ )
- otopina BSA (goveđi serumski albumin)
- Bradfordičin reagens

### 3.3. Metode

Priprema i izrada čajnog peciva temelji se na standardnoj AA CC 10-50.05 metodi. Svaka sirovina odvojeno se važe na poluautomatskoj laboratorijskoj vagi. Prije svega odvažu se šećer, masnoća, sol i  $\text{NaHCO}_3$  prema recepturi, zatim se dodaju u laboratorijskoj miješalici i miješaju tijekom 3 minute. Nakon toga odvažu se destilirana voda i otopina glukoze te se dodaju u mikser gdje se sve miješa jednu minutu na brzini 2 i jednu minutu brzinom 3. Potom važemo i dodajemo brašno ili brašno i osušeni i usitnjeni trop grožđa i miješa 2 minute pri na brzini 2. Tijesto se sakupi ručno i okruglo oblikuje nakon čega se stavlja u PVC vrećicu te u hladnjak na 30 - 60 minuta. Nakon hlađenja sa valjkom naprijed-nazad razvaljati tijesto do 7 mm te izrezati okrugle oblike promjera 60 mm. Tako oblikovane komade izvagati i peći tijekom 2, 4, 6, 8 i 10 min na 205 °C. Nakon pečenja čajno pecivo se prirodno hladi 30 minuta te važe i analizira. Određuje se udio suhe tvari, dužina, visina, gustoća, koeficijent širenja i ukupna promjena boje (Koceva Komlenić i sur., 2014).

Nakon provođenja navedenih analiza, uzorci su ručno usitnjavani te je provedena dvostupanjska ekstrakcija uzoraka na način da je 2 g svakog uzorka ekstrahirano s 20 cm<sup>3</sup> 70 %-tnog etanola u ultrazvučnoj kupelji Elmasonic P (Elma Schmidbauer GmbH, Njemačka) pri uvjetima: 50 °C, 37 kHz i uz snagu 60 %. Nakon ekstrakcije uzorci su centrifugirani tijekom 10 min pri 10 000 x g na centrifugi Hermle Z 326 K, Labortechnik GmbH, odvojen je supernatant te je postupak ponovljen s jednakim volumenom svježeg otapala. Supernatanti nakon prvog i drugog stupanja ekstrakcije su spojeni (za svaki uzorak posebno) nakon čega su analizirani, odnosno u njima je određen: udio ukupnih ekstraktibilnih flavonoidi, udio ukupnih ekstraktibilni proantocijanidina, udio ukupnih polifenola, udio ukupnih proteina te antioksidacijska aktivnost.

#### 3.3.1. Određivanje udjela suhe tvari

Udio suhe tvari u čajnom pecivu određuje se sušenjem uzorka u točno definiranim uvjetima. Razlika mase izražena u postotku predstavlja udio vode u uzorku, a ostatak je suha tvar

čajnog peciva. U osušenu i odvagano aluminijsku posudicu s poklopcem odvažuje se oko 3 g izmrvljenog uzorka i suši u sušioniku na 130 °C. Poklopac se ostavi pored posudice. Suši se 90 min ili dok se ne postigne konstantna masa. Zatvorene posudice s uzorkom ohlade se u eksikatoru 30 min te se važu.

Udio suhe tvari u uzorku tijesta, te u uzorcima nakon pečenja, izračunava se prema formuli (1), kako slijedi:

$$w_{s.t.} = \frac{m_1}{m_0} \cdot 100 \quad (1)$$

$m_0$  – masa uzorka prije sušenja [g]

$m_1$  – masa uzorka nakon sušenja [g]

$w_{s.t.}$  – udio suhe tvari [%]

### 3.3.2. Određivanje dužine i visine te koeficijent širenja

Šest komada čajnih peciva poredaju se jedan do drugog pa im se ravnalom izmjeri dužina. Svaki komad okrenemo za 90 ° i ponovi se mjerenja dužine. Kod mjerenja visine komadi čajnog peciva poredaju se jedan na drugi te ravnalom izmjeri visina. Slučajnim odabirom čajna peciva se ponovno slože jedan na drugi te im se opet izmjeri visina ravnalom (Koceva Komlenić i sur., 2014). Iz omjera dužine ( $d$ ) i visine ( $h$ ), uzimajući u obzir faktor korekcije,  $CF$  (AACC, 2000), računa se koeficijent širenja ( $SP$ , *spreadfactor*) prema formuli (2), kako slijedi:

$$SP = \frac{d}{h} \cdot CF \cdot 10 \quad (2)$$

### 3.3.3. Određivanje ukupne promjene boje

Ukupna promjena boje čajnog peciva određivala se uz pomoć kolorimetra (Konica Minolta Chroma Meter CR-400). Rad kolorimetra temelji se na mjerenju reflektirane svjetlosti s površine osvijetljenog uzorka. Određivanje boje provodi se na šest različitih mjesta na tijestu, čajnom pecivu i usitnjenom čajnom pecivu koji je pečen 10 min. Mjerenje se provodilo i na gornjoj i na donjoj površini čajnog peciva. Rezultati su prikazani u CIE  $L^*a^*b^*$  modelu boja, gdje  $L^*$  predstavlja koordinatu svjetline s podjelom od 0 (crna) do 100 (bijela),  $a^*$  predstavlja koordinatu obojenja s pozitivnim i negativnim smjerom: vektorom crvene boje  $+a^*$  i vektorom za komplementarnu zelenu boju  $-a^*$ , a  $b^*$  predstavlja koordinatu obojenja s pozitivnim i

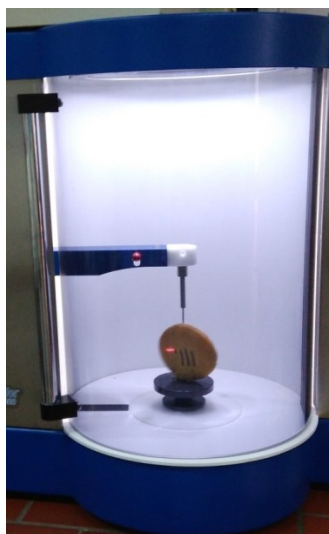
negativnim smjerom: vektorom žute boje  $+b^*$  i vektorom komplementarne plave boje  $-b^*$ . Pomoću izmjerenih vrijednosti izračuna se ukupna promjena boje ( $\Delta E$ ) prema izrazu (3), kako slijedi:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (3)$$

### 3.3.4. Određivanje gustoće

Za određivanje gustoće čajnog peciva koristio se uređaj VolScan Profiler (StableMicro Systems, UK) prikazanog na **slici 1**. On na osnovu skeniranja čajnog peciva mjeri volumen s test vremenom 90 s. Uređaj omogućava trodimenzionalnu digitalizaciju čajnog peciva. Gustoća se računa po formuli (4) (Baumgartner i sur., 2018), kako slijedi:

$$\text{gustoća čajnog peciva} = \frac{\text{masa čajnog peciva}}{\text{volumen čajnog peciva}} \quad (4)$$



**Slika 1** VolScan Profiler (StableMicro Systems, UK)

### 3.3.5. Određivanje ukupnih flavonoida

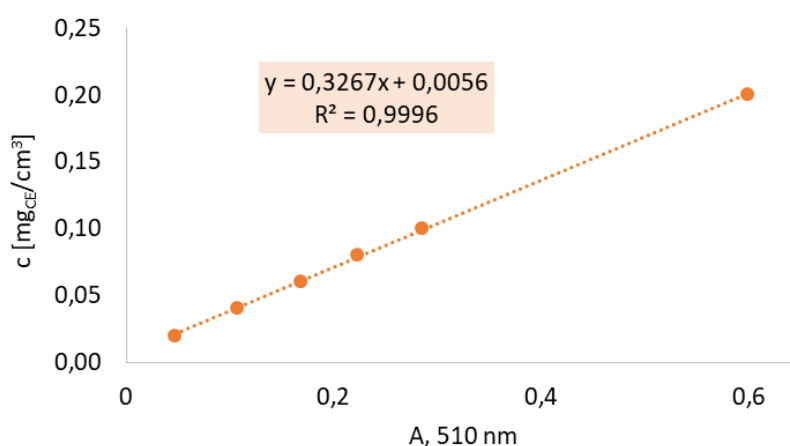
Ukupni flavonoidi određeni su spektrofotometrijskom metodom uz pomoć aluminijevog klorida (Marinova i sur., 2005).

#### ***Postupak za određivanje ukupnih flavonoida***

U epruvete je dodano 2 cm<sup>3</sup> destilirane vode i 0,5 cm<sup>3</sup> ekstrakta, zatim 0,15 cm<sup>3</sup> 5 %-tnog natrijevog nitrita (prethodno otopljeno 5 g u 100 cm<sup>3</sup>). Nakon 5 minuta dodano je 0,15 cm<sup>3</sup> 10 %-tne vodene otopine aluminijevog klorida (prethodno otopljeno 10 g u 100 cm<sup>3</sup>). Nakon 6 minuta dodano je 1 cm<sup>3</sup> 1 M natrijevog hidroksida. Epruveta je zatim nadopunjena do 5 cm<sup>3</sup> s 1,2 cm<sup>3</sup> destilirane vode. Za slijepu probu, koja je pripremljena na jednak način, umjesto ekstrakta korišteno je 0,5 cm<sup>3</sup> destilirane vode. Uzorci su izmučkani na vorteksu te je izmjerena apsorbancija pri 510 nm. Ukupni flavonoidi određeni su u odnosu na standardnu krivulju (+)-katehina (CE) te su preračunati na suhu tvar. Analizirane su tri paralele uzoraka, a srednja vrijednost uzeta je za krajnji rezultat.

### **Postupak izrade kalibracijske krivulje u određivanju ukupnih flavonoida**

Poznata koncentracija otopine katehina korištena je kao standard na osnovu koje je izrađena baždarna krivulja (**slika 2**).



**Slika 2** Baždarna krivulja za određivanje ukupnih ekstraktibilnih flavonoida – ovisnost koncentracije katehina o apsorbanciji pri 510 nm

U tikvicu od 100 cm<sup>3</sup> odvagano je 0,2 g u krutom stanju (+)-katehina te je dodano 10 cm<sup>3</sup> 96 %-tnog etanola i destiliranom vodom nadopunjeno je do oznake. Zatim su pripremljena različita razrjeđenja na način da je u tikvice od 50 cm<sup>3</sup> otpipetirano po 0,5 cm<sup>3</sup>; 1,0 cm<sup>3</sup>; 1,5 cm<sup>3</sup>; 2,0 cm<sup>3</sup>; 2,5 cm<sup>3</sup> i 5,0 cm<sup>3</sup> pripremljene otopine (+)-katehinate nadopunjeno destiliranom vodom do oznake. Prethodno navedenim postupkom za određivanje ukupnih flavonoida u ekstraktima, određena je apsorbancija razrijeđenih uzoraka otopine (+)-katehina pri valnoj duljini od 510 nm. Iz dobivenih rezultata izrađena je kalibracijska krivulja, tj. krivulja ovisnosti vrijednosti apsorbancija o koncentraciji otopine katehina (**slika 2**).

### 3.3.6. Određivanje ukupnih ekstraktibilnih proantocijanidina

Ukupni ekstraktibilni proantocijanidini u ekstraktima čajnog peciva određeni su spektrofotometrijskom metodom, koja je bazirana na reakciji proantocijanidina s otopinom kiselina-butanol. Princip metode je depolimerizacija proantocijanidina u butanolu pri čemu nastaju antocijanidini, odnosno crveno obojenje reakcijske smjese čiji intenzitet se mjeri spektrofotometrijski.

#### **Postupak**

5 cm<sup>3</sup> otopine željezo(II)sulfat heptahidrata (77 mg FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O u 500 cm<sup>3</sup> otopine kloridne kiseline : 1-butanol pomiješane u omjeru 2:3) dodano je u 0,5 cm<sup>3</sup> pripremljenog ekstrakta. Za slijepu probu umjesto uzorka dodano je 0,5 cm<sup>3</sup> destilirane vode. Slijedi inkubacija uzoraka pri 95 °C u vodenoj kupelji u trajanju od 15 minuta. Nakon toga su uzorci naglo ohlađeni te analizirani mjerenjem apsorbancije na valnoj duljini od 540 nm. Napravljene su tri paralele za svaki uzorak. Iz dobivenih apsorbancija (*A*), masena koncentracija ukupnih ekstraktibilnih proantocijanidina [g/dm<sup>3</sup>], izračunata je pomoću molarne mase cijanidina (*M* = 287 g/mol) i koeficijenta molarne ekstinkcije cijanidina ( $\epsilon$  = 34700 dm<sup>3</sup>/mol·cm) prema sljedećem izrazu:

$$c_{\text{UPA}} = \frac{A \cdot M \cdot DF}{\epsilon \cdot l} \quad (5)$$

gdje je: *DF* - faktor razrjeđenja (*DF* = 11; omjer ukupnog volumena reakcijske smjese za određivanje ukupnih proantocijanidina (5,5 cm<sup>3</sup>) i volumena ekstrakta (0,5 cm<sup>3</sup>)), *l* - duljina optičkog puta (1 cm).

Konačan udio ukupnih ekstraktibilnih proantocijanidina u ekstraktima preračunate su na suhu tvar tropa grožđa [mg/g<sub>s.t.</sub>] uzimajući u obzir razrjeđenje ekstrakta.

### 3.3.7. Određivanje ukupnih polifenola

Ukupni polifenoli u ekstraktima određeni su modificiranom Folin-Ciocalteu micro-metodom.

#### **Princip**

Folin-Ciocalteuova metoda je kolorimetrijska metoda koja se temelji na redukcijskim i oksidacijskim reakcijama. U alkalnom mediju u prisutnosti Folin-Ciocalteuova reagensa (smjesa fosfowolframove i fosfomolibden kiseline) fenolni spojevi se oksidiraju, a navedene

kiseline reduciraju u wolframov oksid i molibdenov oksid koji su plavo obojeni, a čija se apsorbancija mjeri pri valnoj duljini od 765 nm (Stratil i sur., 2006).

### **Postupak**

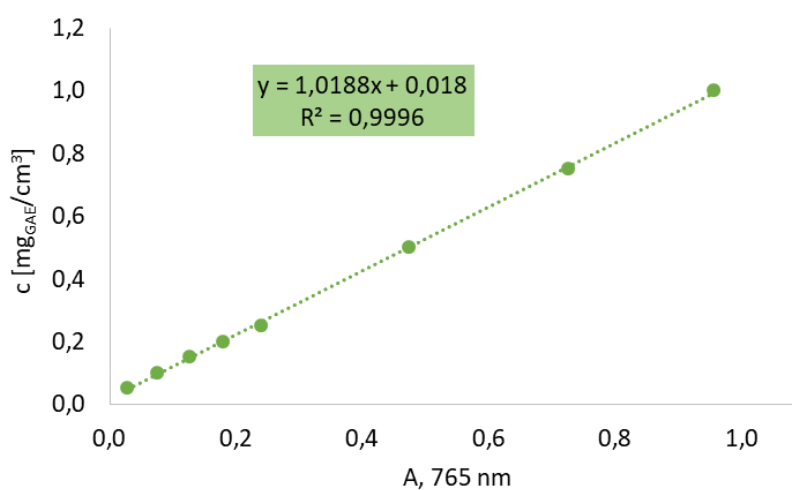
U epruvetu je dodano 40 mm<sup>3</sup> ekstrakta, 3160 mm<sup>3</sup> destilirane vode, a zatim 200 mm<sup>3</sup> Folin-Ciocalteuova reagensa te promiješano na vorteksu. Pričekalo se između 30 sekundi i 8 minuta te se u svaku epruvetu dodalo 600 mm<sup>3</sup> 20 %-tne vodene otopine Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i dobro protreslo. Za slijepu probu, umjesto ekstrakta, koristio se isti volumen ekstrakcijskog otapala. Uzorci su stavljani u vodenu kupelj na 40 °C tijekom 30 minuta. Nakon toga očitane apsorbancije pri 765 nm. Napravljene su dvije paralele uzoraka po tri ponavljanja.

Otopina natrij karbonata (20 %-tna) pripremljena je na način da je 200 g bezvodnog natrij karbonata otopljeno u 800 cm<sup>3</sup> vode i zagrijavano dok ne proključa. Ohlađeno je te dodano nekoliko kristala natrijevog karbonata. Otopina je nakon 24 sata profiltrirana te nadopunjena vodom do volumena 1 dm<sup>3</sup>.

### **Kalibracijska krivulja**

Otopina glane kiseline (5 g/dm<sup>3</sup>) priređena je na način da je u tikvici od 100 cm<sup>3</sup> u 10 cm<sup>3</sup> etanola je otopljeno 0,5 g galne kiseline i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

Otpipetirano je 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 5; 7,5 i 10 cm<sup>3</sup> pripremljene otopine galne kiseline u tikvice od 50 cm<sup>3</sup> i nadopunjeno destiliranom vodom. Pripremljene otopine sadržavaju galnu kiselinu u koncentracijama od 0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25, 0,5; 0,75 i 1 mg/cm<sup>3</sup>. Iz dobivenih rezultata izrađena je kalibracijska krivulja, tj. krivulja ovisnosti vrijednosti apsorbancije o koncentraciji galne kiseline (**slika 3**).



**Slika 3** Baždarna krivulja za određivanje ukupnih ekstraktibilnih polifenola – ovisnost koncentracije galne kiseline o apsorbanciji pri 765 nm

### 3.3.8. Određivanje antioksidacijske aktivnosti (DPPH metoda)

Ova metoda odabrana je zbog stabilnosti DPPH· radikala, brzine i jednostavnosti metode. Stabilnost DPPH radikala je posljedica delokalizacije slobodnog elektrona preko cijele molekule, pri čemu molekula ne dimerizira, za razliku od većine drugih slobodnih radikala (Bucić-Kojić, 2008).

#### **Princip**

Ova metoda temelji se na redukciji sintetičkog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH·) otopljenog u alkoholnoj otopini u prisustvu antioksidansa (AH) koji donira jedan atom vodika i veže slobodni DPPH· radikal pri čemu nastaje neradikalni oblik DPPH-H i stabilizirani fenoksi radikal (A·) kako slijedi (Benvenuti i sur., 2004)



Pri redukciji DPPH· radikala dolazi do smanjenja apsorbancije (pri 515 nm) reakcijske otopine zbog smanjenja koncentracije zaostalog slobodnog DPPH· radikala, što se očituje u promjeni ljubičaste boje otopine prema žutoj. Količina inhibiranog DPPH· radikala dokazuje veću ili manju antioksidacijsku aktivnost ispitivanog uzorka.

#### **Postupak**

U 0,1 cm<sup>3</sup> alikvota razrijeđenog ekstrakta tropa grožđa dodano je 3,9 cm<sup>3</sup> otopine DPPH· u 96 %-tnom etanolu (0,026 mg<sub>DPPH·</sub>/cm<sup>3</sup>). Reakcijska otopina je ostavljena na sobnoj temperaturi 30 minuta (na tamnom). Spektrofotometrijski je određena apsorbancija ( $A_{\text{ekst.}}$ ) pri valnoj duljini od 515 nm u odnosu na slijepu probu (96 % etanol).

Otopina DPPH· korištena za određivanje antioksidacijske aktivnosti (AA) pripremljena je neposredno prije provođenja analize te je upotrijebljena unutar 24 sata (između mjerenja je čuvana na +4 °C i zaštićena aluminijskom folijom), a njezina apsorbancija ( $A_{\text{DPPH}}$ ) je očitana pod istim uvjetima kao i uzorci u odnosu na slijepu probu. Inhibicija DPPH· uslijed antioksidacijske aktivnosti (AA) ispitivanih ekstrakata izračunata je u postotku (%) prema sljedećem izrazu (Benvenuti i sur., 2004):

$$\% \text{ inhibicije DPPH} = \left[ \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{eks.}}}{A_{\text{DPPH}}} \right] \cdot 100 \quad (6)$$

S obzirom na to da se za kompleksne sustave kao što su biljni ekstrakti preporučuje da se rezultati izraze po masi materijala, postotak (%) inhibiranog DPPH· radikala je preračunat na masu inhibiranog DPPH izraženu po masi suhe tvari tropa grožđa, odnosno:

$$AA = \frac{m_{\text{inh.DPPH}}}{m_{\text{s.t.}}} [\text{mg}_{\text{inh.DPPH}}/\text{g}_{\text{s.t.}}] \quad (7)$$

Antioksidacijska aktivnost je određena u dva paralelna ponavljanja, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti.

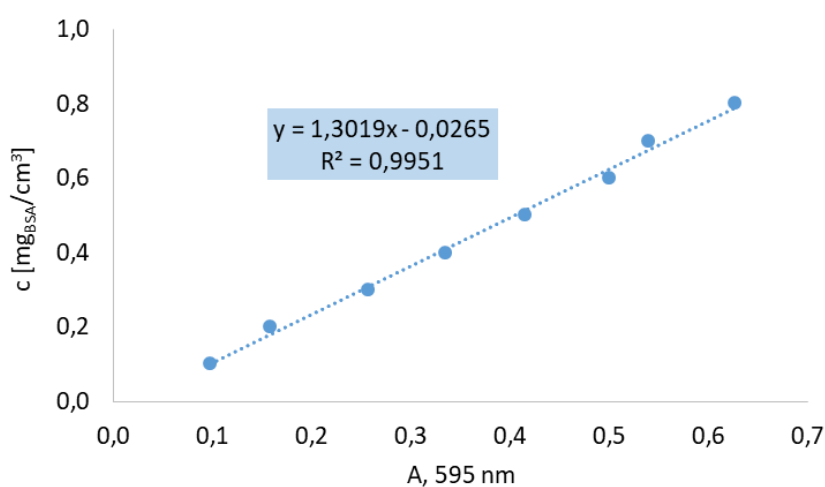
### 3.3.9. Određivanje ukupnih proteina

Određivanje ukupni proteina Bradfordčinom metodom temelji se na nespecifičnom vezanju anionskog oblika boje Coomassie Brilliant Blue G-250 za bazične i aromatske bočne ogranke proteina, uslijed čega dolazi do stvaranja kompleksa protein:boja, koji u kiselom mediju pokazuje maksimum apsorbancije pri 595 nm (Strelec i Kovač, 2013).

#### **Postupak izrade kalibracijske krivulje u određivanju proteina**

Iz otopine BSA (goveđi serumski albumin) masene koncentracije 1 mg/cm<sup>3</sup>, u kivetama je pripremljen niz otopina proteina poznate koncentracije (standardni niz) volumena 100 mm<sup>3</sup>. Standardni niz je u rasponu koncentracija 0,1 – 0,6 mg/cm<sup>3</sup>, na način daje u kivete otpipetirano po 10 mm<sup>3</sup>; 20 mm<sup>3</sup>; 30 mm<sup>3</sup>; 40 mm<sup>3</sup>; 50 mm<sup>3</sup> i 60 mm<sup>3</sup> otopine BSA te zatim nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

U kivete standardnog niza dodano je 2 cm<sup>3</sup> Bradfordčinog reagensa, reakcijska smjesa je ostavljena 5 minuta na sobnoj temperaturi, nakon čega je određena apsorbancija pri valnoj duljini od 595 nm. Iz dobivenih rezultata izrađena je kalibracijska krivulja (**slika 4**), tj. krivulja ovisnosti vrijednosti apsorbancija o koncentraciji BSA.



**Slika 4** Baždarna krivulja za određivanje ukupnih proteina – ovisnost koncentracije standardnog goveđeg serumskog albumina (BSA) o apsorbanciji pri 595 nm

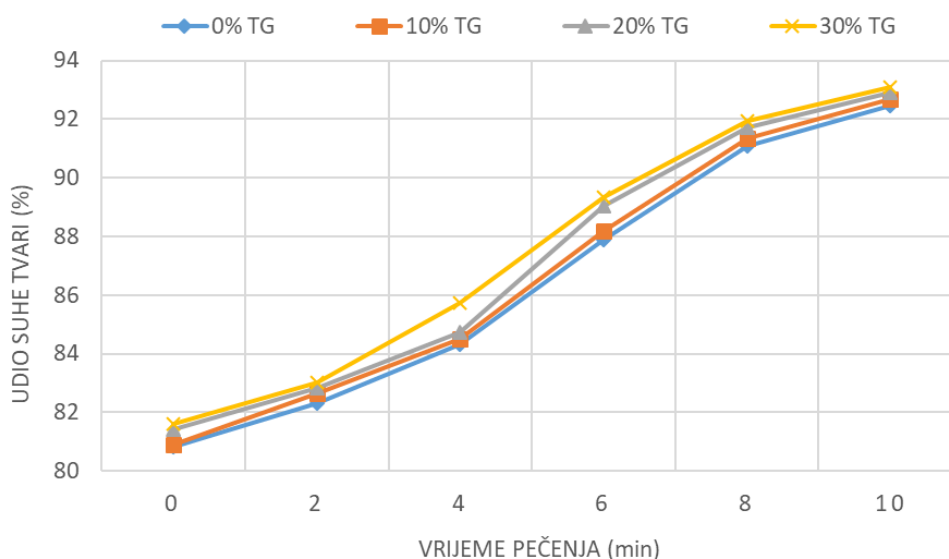


### ***Postupak za određivanje ukupnih proteina***

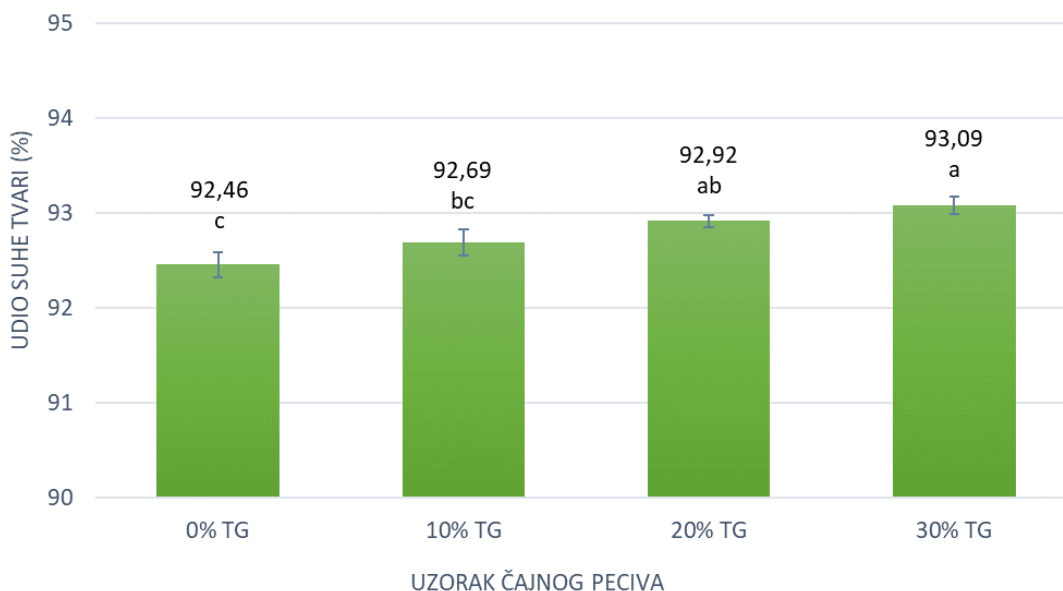
U kivete je dodano  $100 \text{ mm}^3$  uzorka i  $2 \text{ cm}^3$  svježe pripremljenog Bradfordičinog reagensa (razrijeđen s destiliranom vodom u omjeru 1:4). Pripremljena reakcijska smjesa je ostavljena 5 minuta na sobnoj temperaturi, zatim je očitana apsorbancijom pri 595 nm. Koncentracija proteina u uzorcima određena je u odnosu na standardnu krivulju BSA te preračunata na suhu tvar uzorka ( $\text{mg}_{\text{BSA}}/\text{g}_{\text{s.t.}}$ ). Uzorci su analizirani u tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednje vrijednosti.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

## 4.1. Udio suhe tvari



**Slika 5** Udio suhe tvari u čajnom pecivu s različitim udjelom tropa grožđa u ovisnosti o vremenu pečenja (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)



**Slika 6** Udio suhe tvari gotovog čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

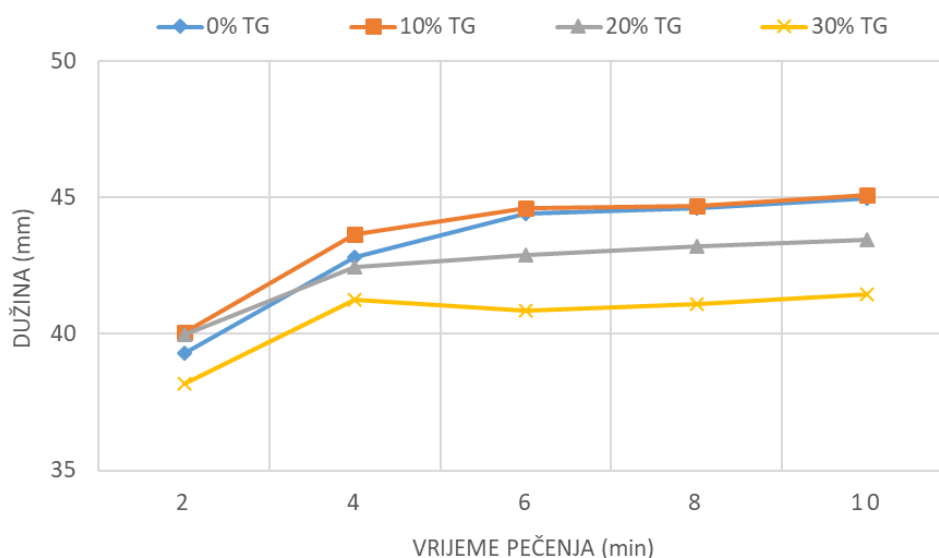
**Slika 5** prikazuje koliko se povećava udio suhe tvari u određenom vremenu pečenja. Plava linija označava čajna peciva od pšeničnog brašna i vidljivo je da sadrži najmanje suhe tvari. Nešto više suhe tvari vidi se u čajnom pecivu koje sadrži 10 % tropa grožđa Cabernet Sauvignon što je označeno crvenom linijom. Uočeno je da se povećanjem tropa grožđa povećava i udio suhe tvari pa tako čajno pecivo s 30 % tropa grožđa sadrži najveći udio suhe tvari.

Udio suhe tvari raste s povećanjem udjela tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon kako je vidljivo na **slici 6**. Između svih ispitivanih uzoraka čajnog peciva, dakle čajnog peciva od pšeničnog brašna te onog s dodatkom 10, 20 i 30 % tropa grožđa, vidljivo je da u čajnom pecivu od pšeničnog brašna ima najmanji udio suhe tvari, dok u onom s 30 % tropa grožđa sadržan je najveći udio suhe tvari. Između uzoraka od pšeničnog brašna i uzorka sa dodatkom 10 % tropa grožđa kao i između uzorka s 20 % i uzorka s dodatkom 30 % tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon ne postoji statički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu najmanje značajne razlike. Razlika je utvrđena između uzoraka od pšeničnog brašna i uzoraka s dodatkom 20 % i 30 % tropa.

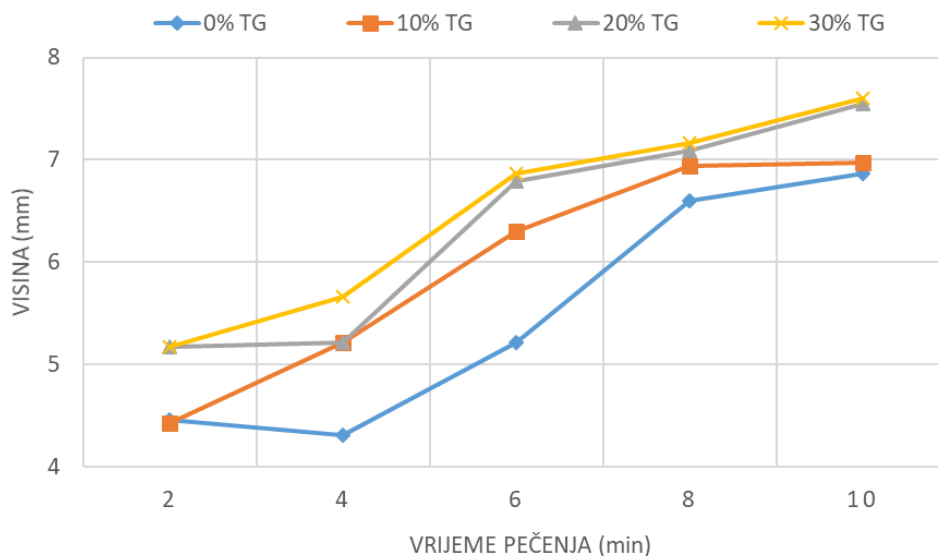
## 4.2. Dužina, visina i koeficijent širenja čajnog peciva



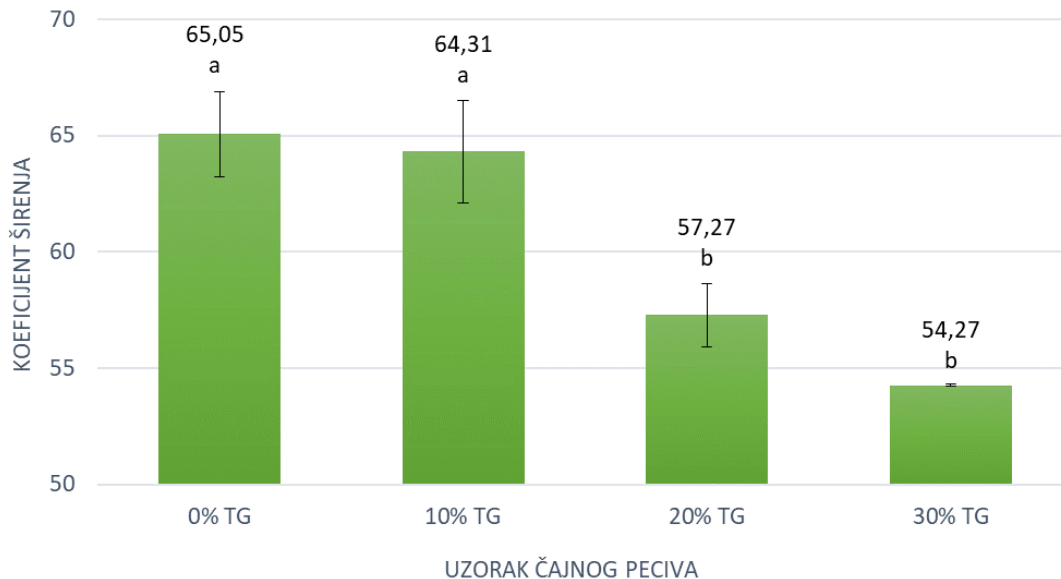
**Slika 7** Fotografija uzoraka gotovog čajnog peciva s različitim udjelima tropa grožđa (slijeva na desno: čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)



**Slika 8** Dužina čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa u ovisnosti o vremenu pečenja (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)



**Slika 9** Visina čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa u ovisnosti o vremenu pečenja (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)



**Slika 10** Koeficijent širenja gotovog čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

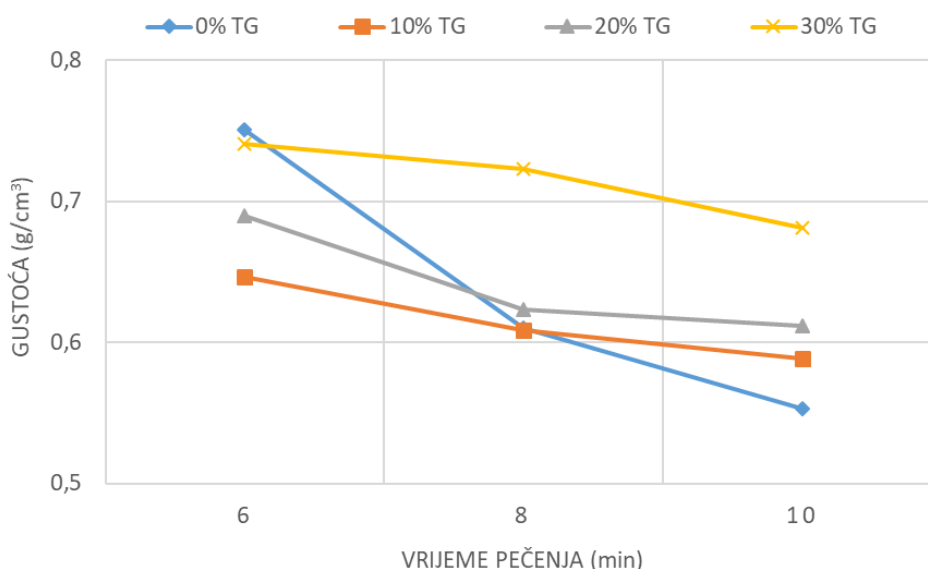
Uzorci gotovog čajnog peciva (**slika 7**) s različitim udjelima tropa grožđa međusobno se vizualno razlikuju s obzirom da dužinu, širinu i boju. Povećanje udjela dodanog tropa grožđa rezultiralo je smanjivanjem promjerom gotovog (pečenog) čajnog peciva.

Na **slici 8** vidljiva je dinamička promjena dužine čajnog peciva te kako se ona povećava s povećanjem vremena pečenja. Najmanju dužinu ima čajno pecivo s dodatkom 30 % tropa grožđa, a najveću uzorak s dodatkom 10 % tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon. Na početku pečenja vidljivo je da uzorak od pšeničnog brašna ima manju dužinu od onog s dodatkom 20 %, ali nakon 6 min pečenja dužina mu postaje veća te skoro poprima vrijednost dužine čajnog peciva koji ima najveću dužinu.

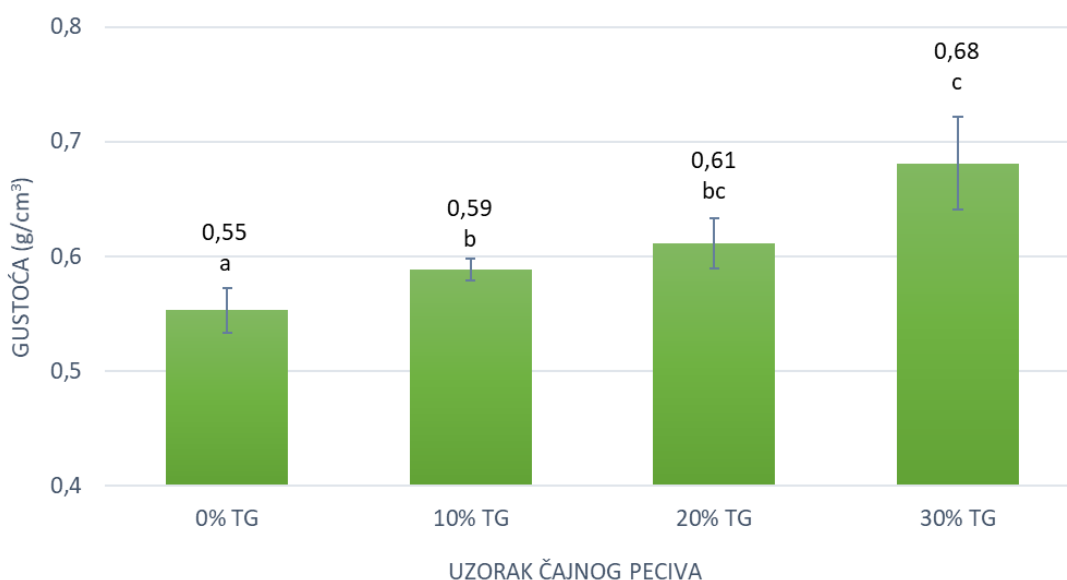
**Slika 9** prikazuje da visina čajnog peciva od pšeničnog brašna i onih s dodatkom tropa grožđa također raste tijekom pečenja. Najveću visinu dostiglo je pecivo s dodatkom 30 % tropa, a najmanju čajno pecivo od pšeničnog brašna. Dakle, kako se povećava udio tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon u čajnom pecivo od pšeničnog brašna tako se i povećava visina čajnog peciva. Acun i Gül (2014) u svojem istraživanju dobili su rezultate suprotnim ovima. Dakle, njima je visina čajnog peciva opadala povećanjem udjela tropa, ali ta promjena nije bila statički značajna.

Na **slici 10** rezultati mjerenja prikazuju kako koeficijent širenja opada s povećanjem udjela tropa grožđa u čajnom pecivo od pšeničnog brašna. Između čajnog peciva od pšeničnog brašna i uzorka s dodatkom 10 % tropa grožđa te između uzoraka s dodatkom 20 % i 30 % tropa grožđa ne postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu najmanje značajne razlike.

### 4.3. Gustoća čajnog peciva



**Slika 11** Gustoća čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa u ovisnosti o vremenu pečenja (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)



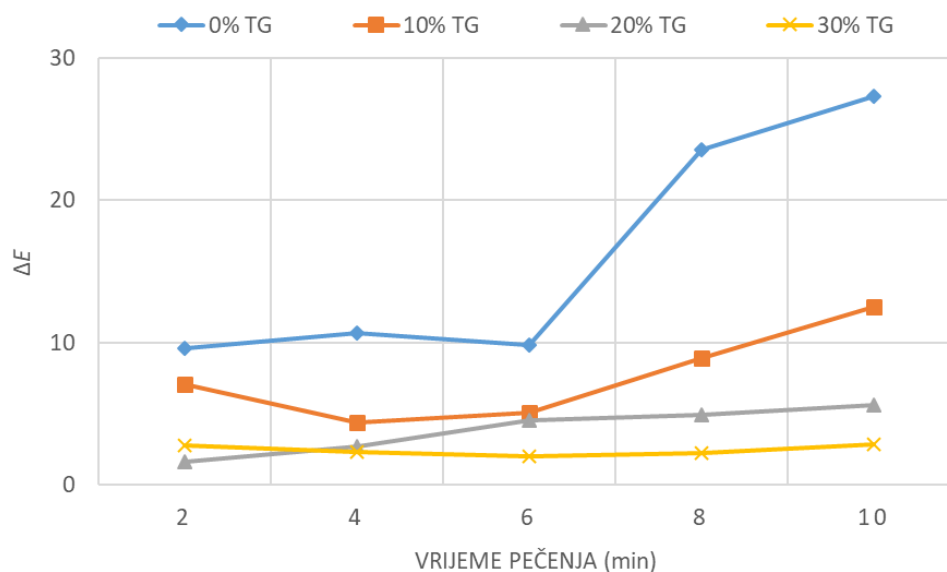
**Slika 12** Gustoća gotovog čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)



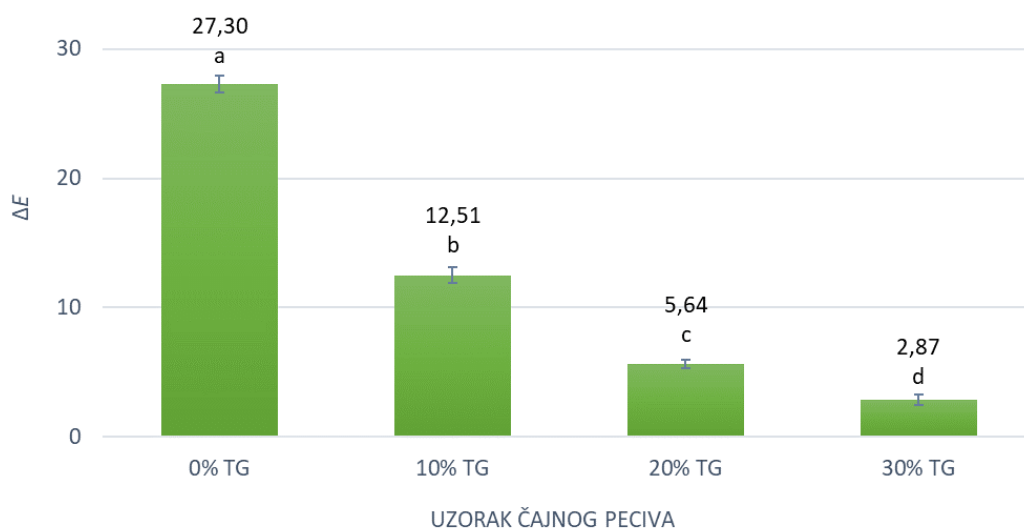
Na **slikama 11 i 12** prikazani su rezultati određivanja gustoće čajnog peciva od pšeničnog brašna i s dodatkom različitih udjela tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon (10, 20 i 30 %) za uzorke čajnog peciva nakon 6, 8 i 10 minuta pečenja. Kako je za određivanje gustoće uzoraka čajnog peciva (prema izrazu (4)) bilo potrebno prethodno odrediti volumen čajnog peciva za što je bio korišten uređaj VolScan Profiler (**slika 1**), pomoću kojeg nije bilo moguće odrediti volumen uzoraka tjestaste konzistencije, gustoća je određivana za uzorke nakon 6. minute pečenja kada su već poprimili krutu konzistenciju. Na obje slike je jasno vidljivo da čajno pecivo sa dodatkom 30 % tropa grožđa ima najveću gustoću. Na **slici 11** je vidljivo kako se gustoća smanjuje povećanjem vremena pečenja. Na početku je čajno pecivo od pšeničnog brašna imalo najveću gustoću, koja je najviše i opala pa iz oba grafa vidimo da čajno pecivo od pšeničnog brašna ima najmanju gustoću. Između uzorka od pšeničnog brašna i ostalih s dodatkom tropa grožđa postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu najmanje značajne razlike. Također, ne postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu, najmanje značajne razlike između uzoraka s dodatkom 10 i 20 % tropa te između uzoraka s dodatkom 20 i 30 % tropa grožđa.

Navedeni rezultati za vrijednost gustoće ispitivanih uzoraka čajnog peciva su bili očekivani s obzirom na prethodne rezultate (**slike 2 – 10**). Povećanje udjela tropa grožđa, odnosno smanjenje mase pšeničnog brašna u zamjesu čajnog peciva rezultiralo je smanjenjem gubitak vlage, tj. mase tijekom pečenja, ali i manjim koeficijentom širenja, odnosno volumenom gotovog čajnog peciva, što je u konačnici utjecalo i na povećanje gustoću.

#### 4.4. Ukupna promjene boje



**Slika 13** Ukupna promjena boje čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa u ovisnosti o vremenu pečenja (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)



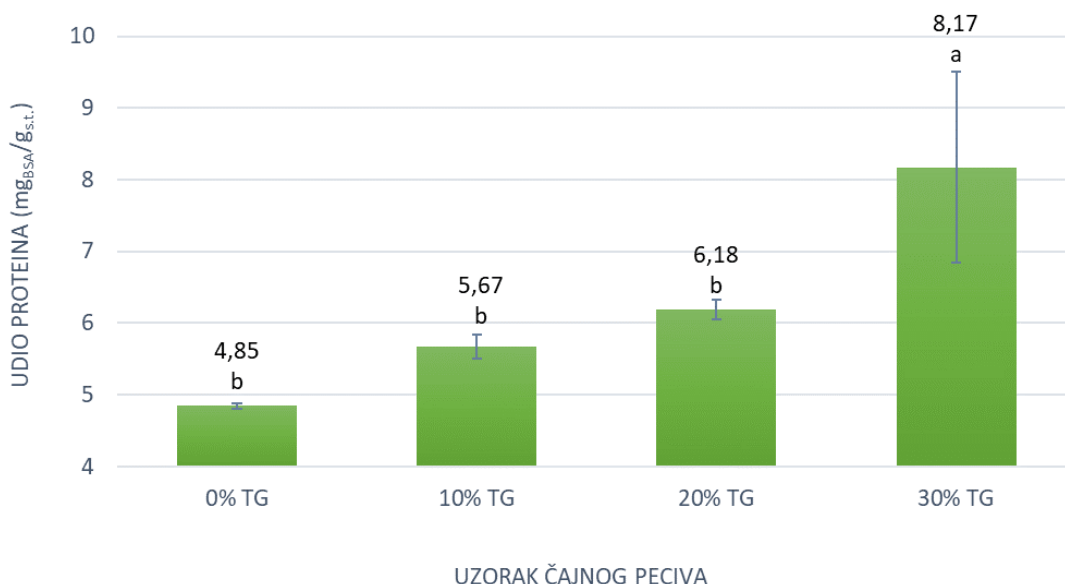
**Slika 14** Ukupna promjena boje gotovog čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa u odnosu na odnosni uzorak čajnog pecivo prije pečenja (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

Rezultati ukupne promjene boje čajnog peciva u odnosu na boju sirovog čajnog peciva (oblikovano tijesto prije pečenja) prikazani su na **slici 13 i 14**. Kao što se vidi u oba prikaza ukupna promjena boje se smanjuje s dodatkom tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon. Povećanjem udjela tropa grožđa, početni uzorak je tamniji, odnosno drugačije boje u odnosu na standardno čajno pecivo te je na njemu manje vidljiva ukupna promjena boje uvjetovana pečenjem. Na **slici 13** prikazano je kako čajno pecivo od pšeničnog brašna ima najveću promjenu boje što pokazuje plava linija na grafu, a najmanju promjenu ima čajno pecivo s najvećim udjelom tropa grožđa te su te promjene međusobno statistički značajno različite za sve ispitivane uzorke (**slika 14**) prema Fisher-ovom LSD testu najmanje značajne razlike ( $p < 0,05$ ).

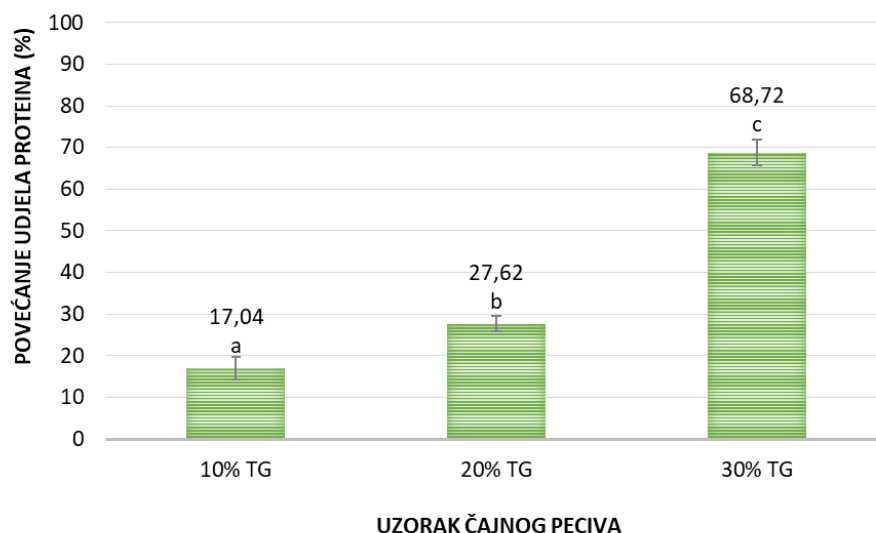
## 4.5. Udio proteina



**Slika 15** Udio proteina u uzorcima tijesta (prije pečenja) čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)



**Slika 16** Udio proteina u uzorcima tijesta (prije pečenja) čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)



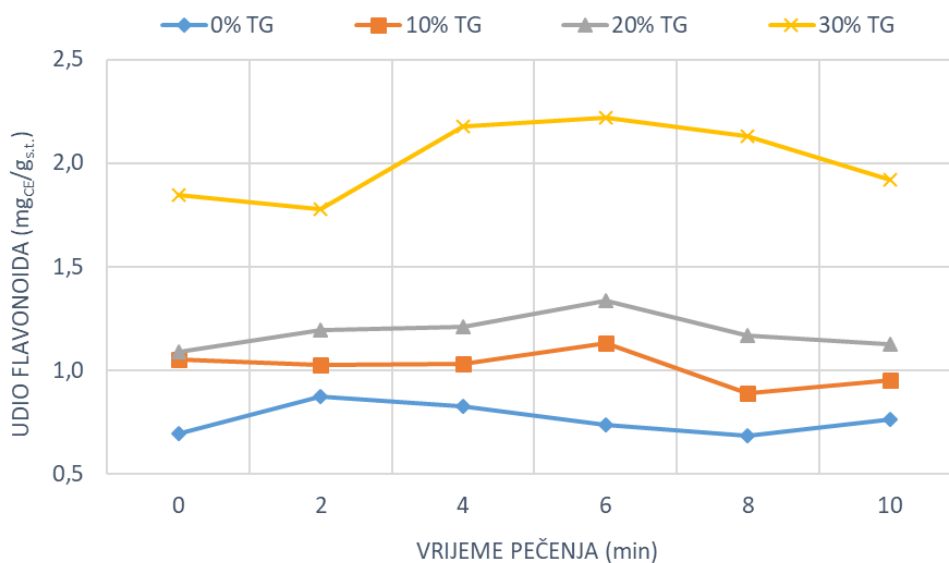
**Slika 17** Povećanja udjela proteina u gotovom čajnom pecivu s različitim udjelima tropa grožđa u odnosu na čajno pecivo od pšeničnog brašna bez dodatka tropa grožđa (10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

**Slika 15** prikazuje udio proteina u tijestu izražen u postotcima. Javno je vidljiva razlika između tijesta od pšeničnog brašna koji ima najmanje proteina i tijesta sa dodatkom 30 % tropa grožđa koji sadrži najveći udio proteina, čak 8,51%. Između tijesta od pšeničnog brašna i tijesta s dodatkom 10 % tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon ne postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu najmanje značajne razlike, kao i između tijesta sa dodatkom 20 i 30 % tropa grožđa.

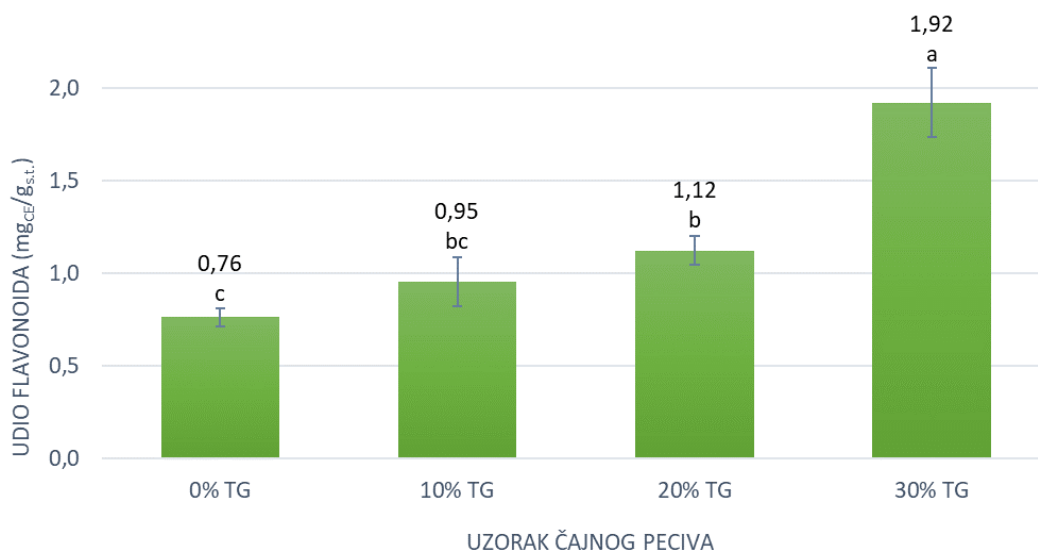
Najveći udio proteina ima čajno pecivo sa dodatkom 30 % tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon, a najmanji udio ima čajno pecivo od pšeničnog brašna bez dodatka tropa grožđa, kako je prikazano na **slici 16**. Ne postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu najmanje značajne razlike između čajnog peciva od pšeničnog brašna i čajnog peciva s udjelom 10 % te 20 % tropa grožđa, dok između svih nabrojanih i čajnog peciva sa dodatkom 30 % tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu.

Na **slici 17** je prikazano za koliko posto se povećao udio proteina u čajnom pecivu dodatkom tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon. Dakle, s dodatkom samo 10 % tropa grožđa udio proteina se poveća za 17,04 %, dodatkom 20 % tropa udio proteina se poveća za 27,62 % dok se dodatkom 30 % tropa udio proteina povećao do čak 68,72 % što bi značilo da postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu.

## 4.7. Udio ukupnih flavonoida



**Slika 18** Udio ukupnih ekstraktibilnih flavonoida u čajnom pecivu s različitim udjelom tropa grožđa u ovisnosti o vremenu pečenja (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

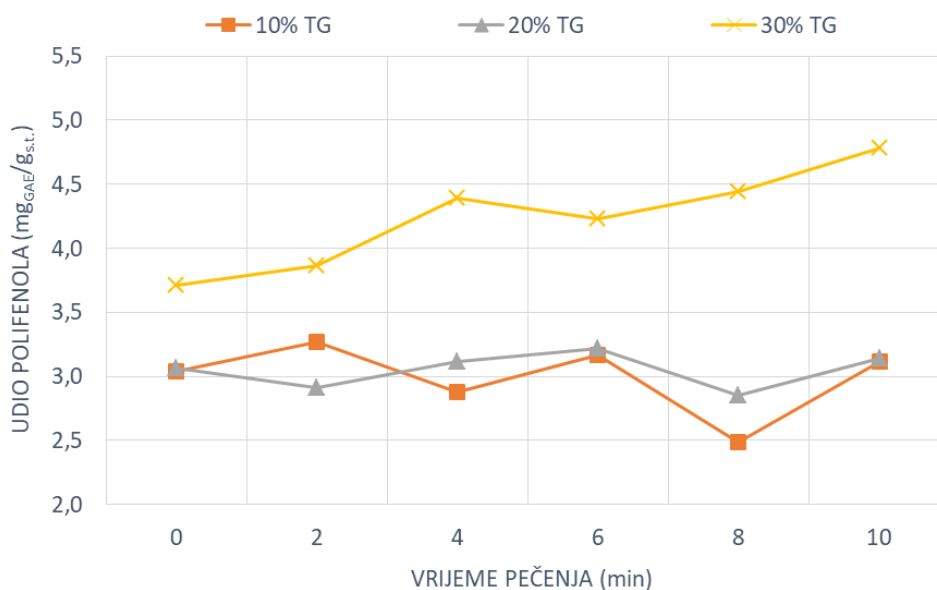


**Slika 19** Udio ukupnih ekstraktibilnih flavonoida u gotovom čajnom pecivu s različitim udjelom tropa grožđa (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

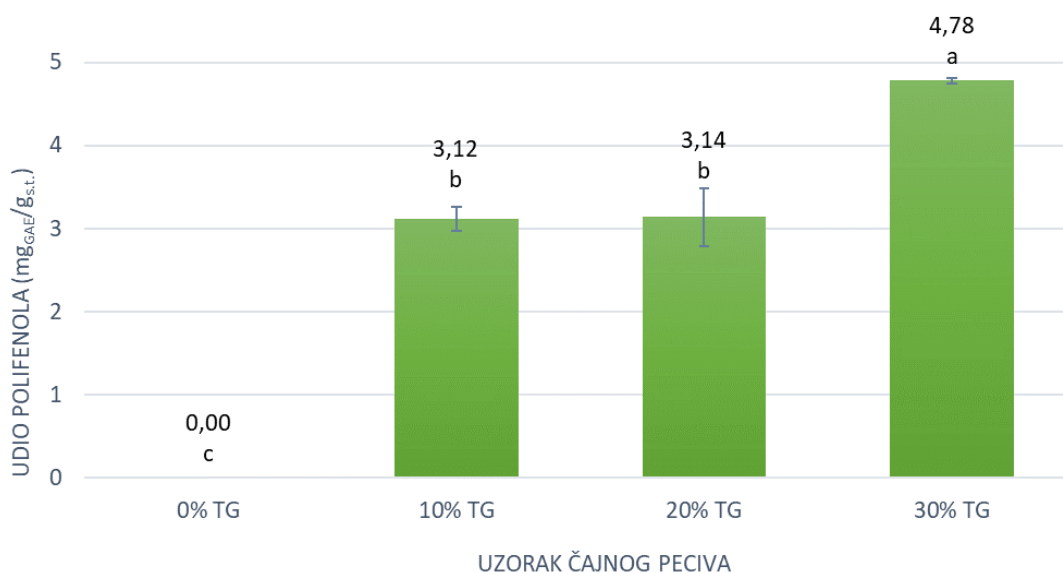
Na **slici 18** narančastom linijom prikazano je čajno pecivo sa dodatkom 30 % tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon, koje ujedno i sadrži najveći udio flavonoida. Najmanji udio flavonoida sadrži čajno pecivo od pšeničnog brašna dok čajno pecivo sa dodatkom 10 i 20 % tropa u početku imaju približan sadržaj flavonoida, kasnije se ipak vidi da čajno pecivo s dodatkom 20 % tropa grožđa ima veći udio flavonoida.

**Slika 19** također prikazuje kako najmanji udio proteina ima čajno pecivo sa pšeničnim brašnom, a najveći udio ima čajno pecivo s dodatkom 30 % tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon što jasno pokazuje da postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu najmanje značajne razlike između svakog čajnog peciva sa različitim dodatkom tropa grožđa. Između uzoraka od pšeničnog brašna i uzorka s dodatkom 10 % tropa grožđa kao i između uzoraka s dodatkom 10 i 20 % tropa grožđa ne postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu najmanje značajne razlike između svakog čajnog peciva sa različitim dodatkom tropa grožđa.

## 4.8. Udio ukupnih polifenola



**Slika 20** Udio ukupnih ekstraktibilnih polifenola u čajnom pecivu s različitim udjelom tropa grožđa u ovisnosti o vremenu pečenja (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

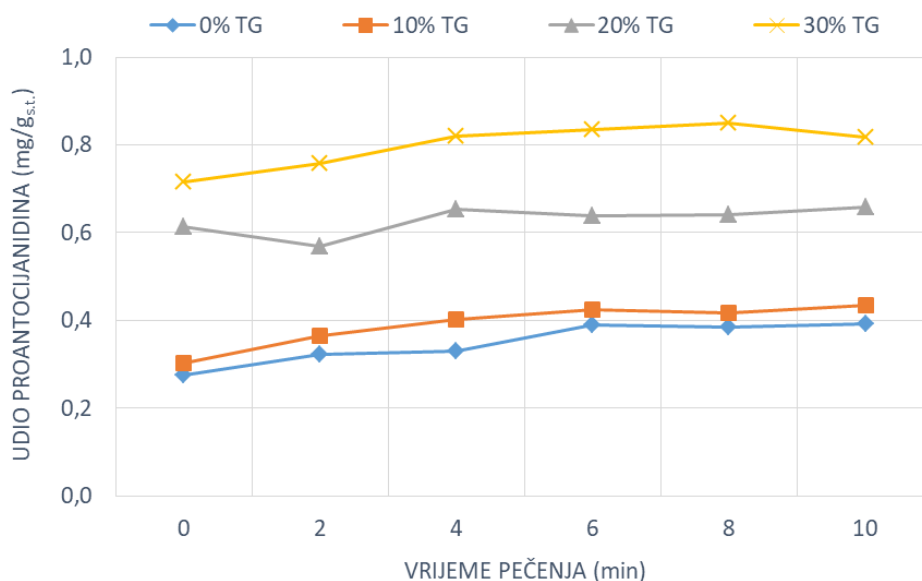


**Slika 21** Udio ukupnih ekstraktibilnih polifenola u gotovom čajnom pecivu s različitim udjelom tropa grožđa (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

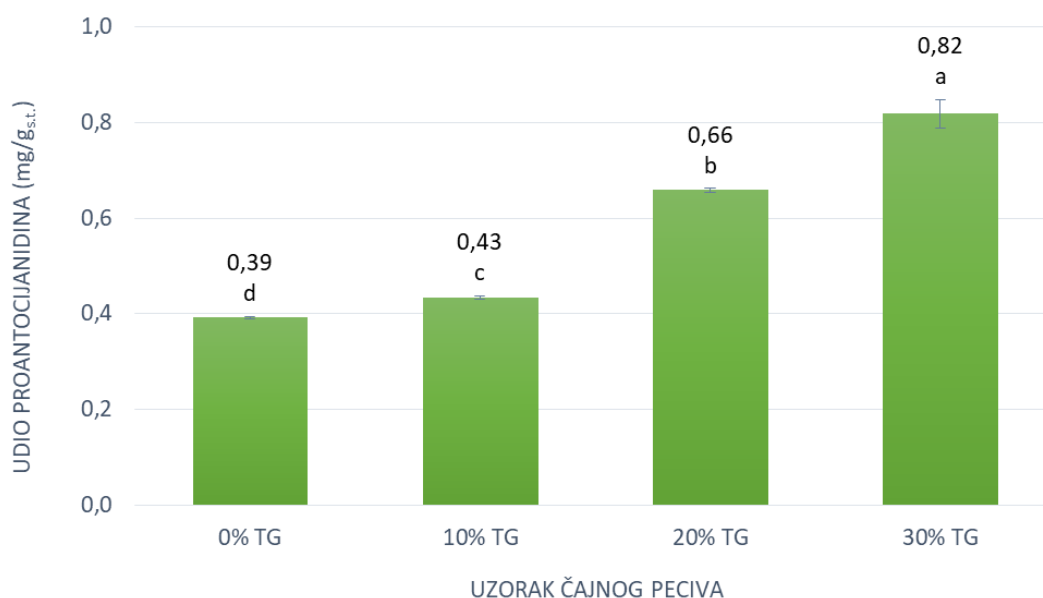


Prisutnost ukupnih polifenola u čajnom pecivu od pšeničnog brašna nije dokazana primijenjenom Folin-Ciocalteu metodom, dok je istom metodom najveći udio ukupnih polifenola dokazan u čajnom pecivu s dodatkom 30 % tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon (**slika 20**). Na **slici 21** vidljivo je kako je na početku pečenja udio polifenola bio veći kod uzorka sa 10 % tropa u odnosu na uzorak sa 20 % tropa grožđa. Na kraju pečenja sadržaj polifenola u uzorcima s 10 % i 20 % tropa je gotovo isti što znači da između njih ne postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu. Dok između njih i čajnog peciva sa dodatkom 30 % tropa grožđa postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu. Karnopp i sur. (2015) u svojim su rezultatima također dobili da se udio polifenola povećava povećanjem udjela tropa grožđa.

## 4.9. Udio ukupnih proantocijanidina



**Slika 22** Udio ukupnih ekstraktibilnih proantocijanidina u čajnom pecivu s različitim udjelom tropa grožđa u ovisnosti o vremenu pečenja (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

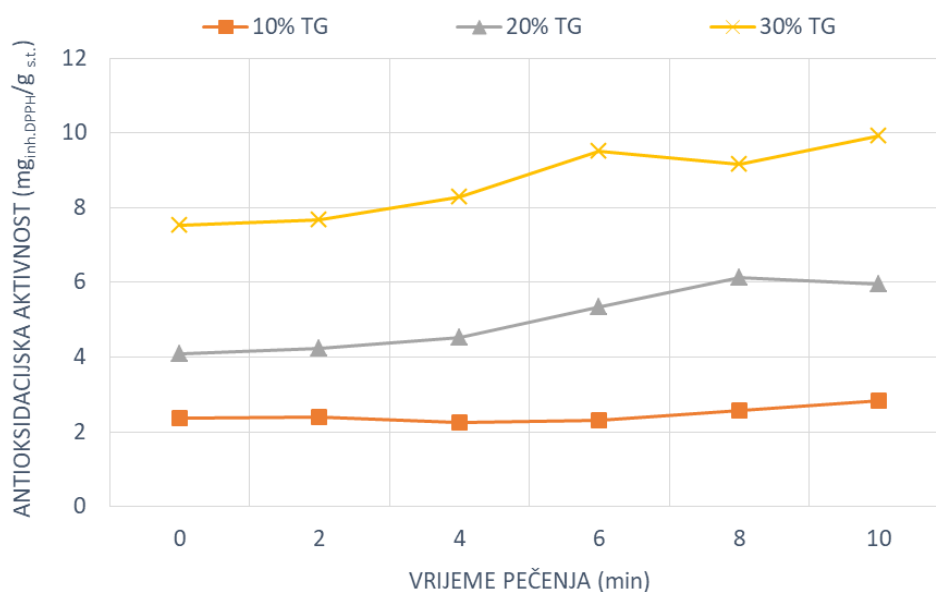


**Slika 23** Udio ukupnih ekstraktibilnih proantocijanidina u gotovom čajnom pecivu s različitim udjelom tropa grožđa (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

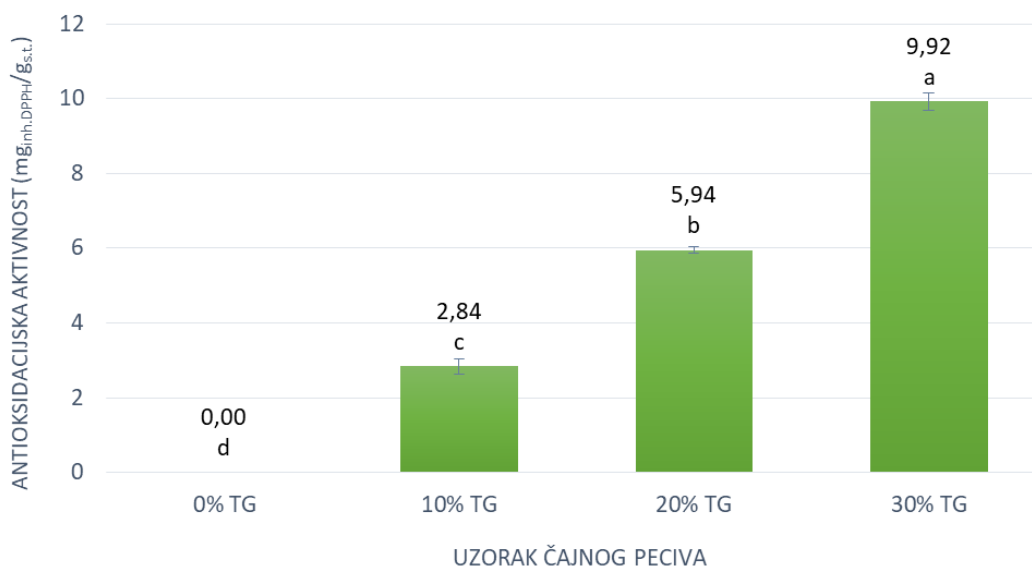
Čajno pecivo s dodatkom 30 % tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon sadrži najveći udio proantocijanidina kako je prikazano na **slici 22**, dok uzorak od pšeničnog brašna sadrži najmanje.

Povećanjem dodatka tropa grožđa povećava i udio proantocijanidina u čajnom pecivu pa tako najviše ima u uzorku u koji je dodano 30 % tropa grožđa, a najmanje se nalazi u čajnom pecivu od pšeničnog brašna bez dodataka tropa. Tako između uzorka s 30 % tropa grožđa i ostalih uzoraka (uzorak od pšeničnog brašna i uzorci s dodatkom 10 i 20 % tropa grožđa) postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu najmanje značajne razlike (**slika 23**).

## 4.10. Antioksidacijska aktivnost



**Slika 24** Antioksidacijska aktivnost čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa u ovisnosti o vremenu pečenja (10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)



**Slika 25** Antioksidacijska aktivnost čajnog peciva s različitim udjelom tropa grožđa (0% TG – čajno pecivo bez zamjene pšeničnog brašna tropom grožđa; 10% TG – čajno pecivo s 10 % udjela tropa grožđa; 20% TG – čajno pecivo s 20 % udjela tropa grožđa; 30% TG – čajno pecivo s 30 % udjela tropa grožđa)

Iz rezultata određivanja antioksidacijske aktivnosti na **slici 24** vidljivo je da se povećanjem tropa grožđa u čajnom pecivu povećava i antioksidacijska aktivnost. Dakle, uzorak s 30 %

tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon ima najveću antioksidacijsku aktivnost dok je uzorak bez dodatka tropa odnosno samo čajno pecivo od pšeničnog brašna uopće nema. Karnopp i sur. (2015) su u svojim rezultatima također dobili da se povećanjem udjela tropa povećava i antioksidacijska aktivnost.

Na **slici 25** su prikazani rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti u čajnom pecivu od pšeničnog brašna te čajnog peciva sa dodatkom različitim udjelom tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon. Iz slike je vidljivo da uzorak od pšeničnog brašna nema antioksidacijsku aktivnost, dok se povećanjem dodatka tropa grožđa povećava i antioksidacijska aktivnost. Uzorci s 30 % tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon imaju najveću antioksidacijsku aktivnost dok uzorci s 20 i 10 % tropa grožđa imaju manju što znači da između uzoraka postoji statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) prema Fisher-ovom LSD testu najmanje značajne razlike.

## **5. ZAKLJUČAK**

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu doneseni su zaključci navedeni u nastavku.

- Zamjena dijela pšeničnog brašna T-550 (10 %, 20 % ili 30 %) u zamjesu standardnog čajnog peciva (AA CC 10 50.05) s usitnjenim tropom grožđa sorte Cabernet Sauvignon imala je utjecaj na fizikalna, nutritivna i bioaktivna svojstva gotovog čajnog peciva. Može se reći da su se uglavnom navedena svojstva mijenjala proporcionalno s povećanjem udjela tropa grožđa, te da su te promjene bile značajnije izražene kod uzoraka s 30 %-tnim udjelom tropa grožđa.
- Udio suhe tvari i gustoća gotovog čajnog peciva su se povećavali, dok se koeficijent širenja smanjivao s povećanjem udjela tropa grožđa sorte Cabernet Sauvignon u zamjesu.
- Boja čajnog peciva jasno upućuje na prisutnost nekog tamnije obojenog sastojka u zamjesu standardnog čajnog peciva, a razlika boje između standardnog čajnog peciva i peciva s dodatkom tropa grožđa je izrazita.
- Ukupna promjena boje uvjetovana 10-minutnim pečenjem čajnog peciva bila je izrazitija kod standardnog uzorka, dok je kod uzoraka s tropom grožđa ona bila manje uočljiva i smanjivala s povećanjem udjela tropa grožđa.
- Zamjena pšeničnog brašna s usitnjenim tropom grožđa imala je značajniji i izrazito pozitivan utjecaj na promjenu nutritivnih i bioaktivnih svojstava čajnog peciva u odnosu na utjecaj na fizikalna svojstva. Tako je zamjena 30 % pšeničnog brašna tipa T-550 s usitnjenim tropom grožđa rezultirala, kako slijedi:
  - povećanjem udjela proteina za 68,7 %
  - povećanjem udjela ukupnih flavonoida za 152,6 %
  - povećanjem udjela ukupnih ekstraktibilnih proantocijanidina za 110,3 %
  - povećanje udjela ukupnih fenola, koji nisu dokazani u standardnom čajnom pecivu, na vrijednost od 4,78 mg<sub>GAE</sub>/g<sub>s.t.</sub>
  - povećanje antioksidacijske aktivnosti, koja također nije dokazana u standardnom čajnom pecivu, na vrijednost od 9,92 mg<sub>inh.DPPH</sub>/g<sub>s.t.</sub>

## **6. LITERATURA**



- AACCI Method 10-50.05, *Baking Quality of Cookie Flour*, Approved Methods of Analysis, 11th Edition.
- Acun S, Gül H (2014) Effects of grape pomace and grape seed flours on cookie quality. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 6 (1), 81-88.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S (2006) Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99 (1), 191-203.
- Baumgartner B, Özkaya B, Saka I, Özkaya H (2018) Functional and physical properties of cookies enriched with dephytinized oat bran. *Journal of Cereal Science*, 80, 24-30
- Benvenuti S, Pellati F, Melegari M, Bertelli D (2004) Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. *Journal of Food Science*, 69, 164-169.
- Bucić-Kojić A (2008) Utjecaj procesnih uvjeta i načina kruto-tekuće ekstrakcije na ekstraktibilnost fenolnih tvari iz sjemenki grožđa. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek.
- Bucić-Kojić A, Planinić M, Tomas S, Tišma M (2017) Trop grožđa otpad i visokovrijedna sirovina. U *Neke mogućnosti iskorištenja nusproizvoda prehrambene industrije*. D. Šubarić (ur.), Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.
- Cedilak A (2016) Antioksidacijska svojstva vina. *Prvostupnički rad*. Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
- Ćurko N, Tomašević M, Cvjetko Bubalo M, Gracin L, Radojčić Redovniković I, Kovačević Ganić K (2017) Extraction of Proanthocyanidins and Anthocyanins from Grape Skin by Using Ionic Liquids. *Food Technology and Biotechnology*, 55 (3), 429-436.
- Deng Q, Penner MH, Zhao Y (2011) Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of winegrape pomace skins. *Food Research International*, 44 (9), 2712-2720.
- García-Lomillo J, González-SanJosé ML (2016) Applications of Wine Pomace in the Food Industry: Approaches and Functions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 1-22.
- Karnopp AR, Figueroa AM, Los PR, Teles JC, Simões DR, Barana AC, Kubiaki FT, Oliveira JB, Granato D (2015) Effects of whole-wheat flour and bordeaux grape pomace (*Vitis*

- labrusca* L.) on the sensory, physicochemical and functional properties of cookies. *Food Science and Technology*, 35(4), 750-756.
- Koceva Komlenić D, Jukić M, Kosović I, Kuleš A (2014) Upute za laboratorijske vježbe. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek.
- Kurtagić H (2017) Polifenoli i flavonoidi u medu. *Hrana u zdravlju i bolesti*, 6 (1), 28-35.
- Ljevar A (2016) Polifenolni sastav i antioksidacijski kapacitet voćnih vina. *Doktorski rad*. Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
- Marinova D, Ribarova F, Atanassova M (2005) Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3) 255-260.
- Stratil P, Klejdus B, Kubán V (2006) Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables - Evaluation of spectrophotometric methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 607-616.
- Strelec I, Kovač T (2013) *Praktikum iz biokemije*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek.
- Teixeira A, Baenas N, Dominguez-Perles R, Barros A, Rosa E, Moreno DA, Garcia-Viguera C (2014) Natural Bioactive Compounds from Winery By-Products as Health Promoters: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(9),15638-15678
- Yu J, Ahmedna M (2013) Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. *International Journal of Food Science & Technology*, 48 (2), 221-237,