

PREGLEDNI RAD / REVIEW

# Kiselo tijesto – tradicionalna i prirodna metoda za povećanje kvalitete pekarskih proizvoda

## Sourdough - Traditional Methods for Improving Quality of Bakery Products

Jasna Mrvčić<sup>1</sup>, Krunoslav Mikelec<sup>2</sup>, Damir Stanzer<sup>1</sup>, Stela Križanović<sup>1</sup>, Slobodan Grba<sup>1</sup>,  
Višnja Bačun-Družina<sup>1</sup>, Vesna Stehlik-Tomas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Pekarna Dubravica, Sutlanske doline 4, 10 293 Dubravica

### Sažetak

Kruh je od pamtivijeka neizostavni dio ljudske prehrane i kulture. Svaki korak u njegovoj proizvodnji, od pažljivog izbora sirovina do pripreme i obrade tijesta te procesa pečenja, predstavlja dio umjetnosti koja u konačnici osigurava neograničeno bogatstvo boje, okusa i arome kruha. Raznolikost pekarskih proizvoda rezultat je različitosti tradicije, kulture te geografskog podrijetla. Međutim, san svakog pekara, primamljivi i mirisni pekarski proizvodi diljem svijeta, uvijek sadržavaju kiselo tijesto. Kiselo tijesto je kompleksni mikrobni ekosustav kojeg čine bakterije mliječne kiseline i kvasci. Upotreba bakterija mliječne kiseline u pripremi kruha ima dugu tradiciju, od spontanijih fermentacija gdje je njihova uloga bila samo dizanje tijesta, preko definiranih starter kultura, do razvoja i primjene funkcionalnih starter kultura. U ovom radu dat je prikaz tehnologije proizvodnje kiselog tijesta s naglaskom na proizvodnju pšeničnog kruha povećane nutritivne vrijednosti i trajnosti, bogatijeg okusa i arome.

Ključne riječi: kiselo tijesto, starter kulture, kruh, bakterije mliječne kiseline

### Summary

Bread has been an essential part of human nutrition and culture for thousands of years. Every step of its production, from careful raw material selection to dough preparation, processing and baking, could be considered as art that ensure unlimited abundance of color, taste and aroma. Diversity of bakery products is result of the diversities in tradition, culture and geographic origin. All around the world alluring and aromatic bakery products always contain sourdough. Sourdough is a complex microbial ecosystem that is composed of lactic acid bacteria and yeasts. The use of lactic acid bacteria in the bread production has long tradition, from spontaneous fermentations (leavening the dough only), to the development and use of defined and functional starter cultures. This review covers the sourdough technology, with major emphasis on production of wheat bread with enhanced nutritional value, prolonged shelf life, better taste and aroma.

Keywords: sourdough, starter cultures, bread, lactic acid bacteria

### Povijest kiselog tijesta

Nepoznato je kada i gdje je kiselo tijesto upotrijebljeno prvi put. Iako je u literaturi dominantna hipoteza da primjena kiselog tijesta započinje u nekadašnjem Egiptu u 26. stoljeću pr. K., nije isključeno da su kiselo tijesto uz pivski kvasac koristili i Sumerani u drevnoj Mezopotamiji (Schickentanz i Davidson, 1996). Vještinu pripreme kiselog tijesta od Egipćana i Židova u mediteranskoj regiji preuzeli su Grci, koji su kruh pripremljen s kiselim tijestom, zbog njegove posebnosti, konzumirali samo u posebnim prilikama. U Europi, u području sjeverno od Alpa, kiselo tijesto bilo je poznato na kraju brončanog doba, a gotovo u cijelom svijetu u 1. stoljeću pr. K. (Spicher i Stephan, 1993). Tadašnje kiselo tijesto nije bilo ništa drugo nego kiselo tijesto nastalo spontanom fermentacijom bakterija i kvasaca prirodno prisutnih u brašnu. Upotreba prirodnog kiselog tijesta kao jedinog sredstva za dizanje tijesta prestaje početkom 15. st. kada je čovjek naučio koristiti pivski kvasac koji je kao nusproizvod pivovara bio dostupan u dovoljnim količinama (Spicher i Stephan, 1993). S vremenom se prodaja pivskog kvasca razvila u proizvodnju današnjeg prešanog pekarskog kvasca, pri čemu se priprema krušnog tijesta razvila od nekadašnjeg indirektnog postupka sa višestupanjskim osvježavanjem „kvasa“, preko vođenja jednostupanjskog predtijesta, do danas najčešćeg

direktnog postupka proizvodnje kruha bez predtijesta, s pekarskim kvascem kao monokulturom.

Današnji visokoaktivan i stabilan pekarski kvasac omogućava jednostavan proces dizanja tijesta i automatsku industrijsku proizvodnju kruha s brzim zamjesom i kratkom fermentacijom. Skraćivanjem tehnološkog procesa proizvodnje kruha bitno se skraćuje i vrijeme fermentacije, što se nepovoljno odražava na aromu i okus kruha te uzrokuje njegovo veće mrvljenje i brže starenje. Povećana osviještenost i želja potrošača za kvalitetnijim kruhom potiče mnoge pogone da ponovno koriste izvorni (prirodni) način proizvodnje kruha pomoću kiselih tijesta i predtijesta. Uvođenje predtijesta ili kiselog tijesta u proizvodnju pšeničnog kruha trebalo bi danas biti shvaćeno kao odlučujući korak za postizanje visoke kvalitete ove vrste kruha budući da je primjena kiselog tijesta uglavnom ograničena na proizvodnju raženog kruha. Raženo brašno ne sadrži gluten koji kod pšeničnog brašna tvori glutensku mrežu odgovornu za vezanje vode i zadržavanje plinova. Ovu ulogu kod raženog brašna imaju pentozani čija se topivost i bubrenje povećavaju u kiselom mediju (Hammes i Ganzle, 1998). Također se u kiselom mediju smanjuje aktivnost amilaza što smanjuje ljepljivost sredine te povećava volumen kruha (Hammes i Ganzle, 1998). Stoga je za proizvodnju raženog kruha obavezna primjena kiselog tijesta ili nekog drugog sredstava

Corresponding author: jmrvcic@pbf.hr



za zakiseljavanje (organske kiseline), dok je kod proizvodnje bijelog kruha to stvar izbora. Zahvaljujući brojnim znanstvenim istraživanjima i rješenjima, prije svega proizvodnji funkcionalnih starter kultura, prisutan je trend povratka tehnologije kiselog tijesta u proizvodnju pšeničnog kruha. Primjena kiselog tijesta u proizvodnji pšeničnog kruha udomačila se u Italiji, Njemačkoj, Španjolskoj i Francuskoj, dok je u (R) Hrvatskoj primjena tehnologije kiselog tijesta tek u začetcima.

## Mikroflora kiselog tijesta

Kao što je već navedeno, mikrofloru kiselog tijesta čine bakterije mliječne kiseline (BMK) i kvasci u aktivnom stanju. BMK su dominantni mikroorganizmi u kiseloj tijestu (omjer kvasaca/BMK  $\approx$  1:100, Gobbetti i sur., 1994a) pa reologija, okus i miris te nutritivne karakteristike kruha proizvedenog uz dodatak kiselog tijesta ovise o njihovoj aktivnosti. BMK koje se koriste u kiseljenju tijesta potječu iz samih žitarica, kontaminacije pekarskog kvasca ili same mlinarske i pekarske industrije. Najzastupljenije su vrste iz rodova *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* *Weissella* i *Leuconostoc* (Damiani i sur., 1996; De Vuyst i Neysens, 2005; Corsetti i Settanni,

**Tablica 1.** Vrste BMK koje se najčešće nalaze u kiseloj tijestu (Corsetti i Settanni, 2007)  
**Table 1.** Species of lactic acid bacteria the most frequently present in sourdough (Corsetti and Settanni, 2007)

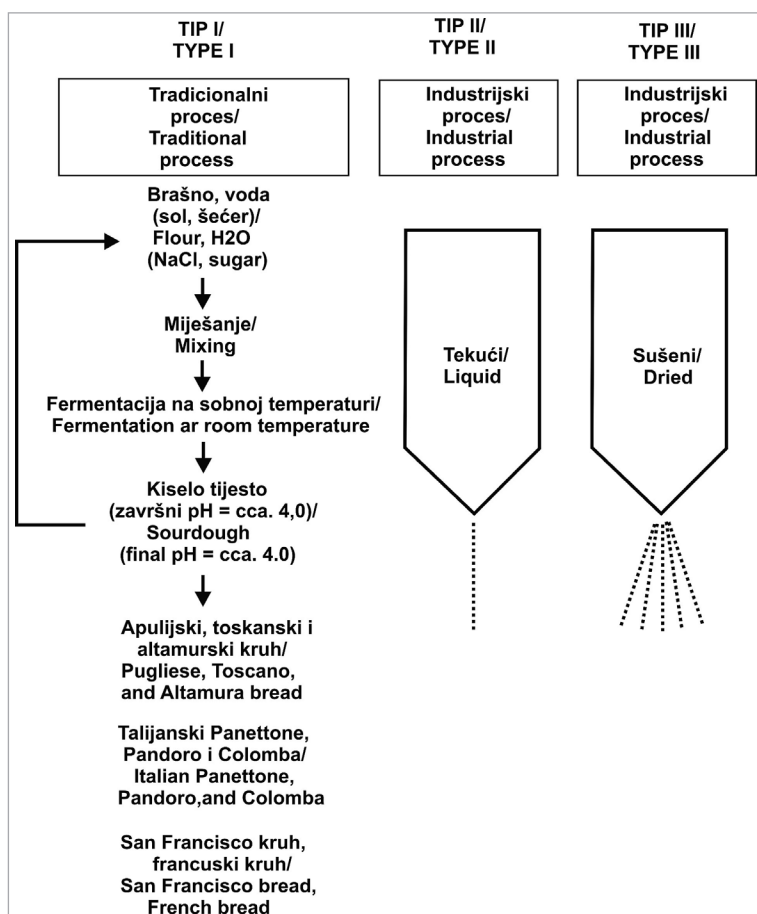
Obligatno heterofermentativne/ Strict heterofermenters		Fakultativno heterofermentativne/ Facultative heterofermenters	Obligatno homofermentativne/ Strict homofermenters
<i>L. acidifarinae</i>	<i>L. pontis</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. amylovorus</i>
<i>L. brevis</i>	<i>L. reuteri</i>	<i>L. pentosus</i>	<i>L. acidophilus</i>
<i>L. buchneri</i>	<i>L. rossiae</i>	<i>L. alimentarius</i>	<i>L. delbrueckii</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>L. sanfranciscensis</i>	<i>L. paralimentarius</i>	<i>L. farciminis</i>
<i>L. fructivorans</i>	<i>L. siliginis</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. mindesis</i>
<i>L. frumenti</i>	<i>L. spicheri</i>		<i>L. crispatus</i>
<i>L. hilgardii</i>	<i>L. zymae</i>		<i>L. johnsonii</i>
<i>L. panis</i>			<i>L. amyolyticus</i>

2007; De Vuyst i Vancanneyt, 2007; De Vuyst i sur., 2009, Grba i sur., 2010). Kao starter kulture u pekarstvu koriste se i homofermentativne i heterofermentativne BMK (Tablica 1). Tijekom fermentacije tijesta BMK proizvode mliječnu i octenu kiselinu te druge metabolite (alkohol, aldehide, estere) što gotovom pekarskom proizvodu daje specifičan kiseli okus i aromu te pozitivno djeluje na tehnološke, mikrobiološke, nutritivne i organoleptičke karakteristike pekarskih proizvoda (Gobbetti i sur., 2005; Katina 2005; Katina i sur., 2005; Clarke i Arendt, 2005; Arendt i sur., 2007; Corsetti i Settanni, 2007; Poutanen i sur., 2009).

Osim BMK u kiseloj tijestu može se naći više od 20 vrsta kvasaca (Gobbetti i sur., 1994a; Gobbetti, 1998; Stolz, 1999; Gullo i sur., 2002). Dominantan je pekarski kvasac *S. cerevisia*, dok su najčešći pratitelji BMK u kiseloj tijestu *Saccharomyces exiguius*, *Candida humilis* (*Candida milleri*), *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) (Gobbetti i sur., 1994a; Gullo i sur., 2002). Detektirane su i vrste *Pichia anomala* (*Hansenula anomala*), *Pichia saitoi*, *Pichia membranifaciens*, *Torulaspora delbrueckii* i *Debaryomyces hansenii*. Broj BMK u kiseloj tijestu je oko  $10^8$ - $10^9$  CFU/g, dok je broj kvasaca oko  $10^6$ - $10^7$  CFU/g. BMK su odgovorne za proces zakiseljavanja tijesta dok su kvasci odgovorni za dizanje tijesta. Dizanju tijesta mogu doprinijeti i heterofermentativne BMK pa je posebno bitan stabilan kometabolizam BMK i kvasaca (Gobbetti, 1998).

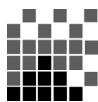
Raznolikost i održivost mikrobnih vrsta u kiseloj tijestu znatno ovisi o iskorištenju tijesta (IT=masa tijesta/masa brašna), vrsti brašna i temperaturi, a na osnovu procesa proizvodnje razlikuju se tri vrste kiselog tijesta: Tip I, Tip II, Tip III (slika 1, Böcker i sur., 1995).

Fermentacija i kiseljenje u tijestu mogu nastupiti spontano (zbog prirodno prisutnih mikroorganizama u brašnu) ili dodatkom startera kultura. Ovisno o tome razlikuju se prirodna kisela tijesta (*njem. „Naturesauer“*) i definirana kisela tijesta (*njem. „Reinzuchtsauer“*) (Spicher i Stephan, 1993). Prirodno kiselo tijesto (kiselo tijesto tipa I) može se dobiti tako da se tijesto pripremljeno od brašna i vode ostavi stajati na temperaturi od 25 do 35 °C 24-48 h. Vidljiv početak fermentacije su stvaranje



**Slika 1.** Prikaz proizvodnje različitih tipova kiselog tijesta (prema Böcker i sur., 1995)

**Figure 1.** Scheme of sourdough production processes (Böcker et al., 1995)



**Tablica 2.** Oblici kiselog tijesta i sredstava za zakiseljavanje (Brandt, 2007)  
**Table 2.** Types of sourdough products and dough acidifiers (Brandt, 2007)

Produkti/ Products	Sirovine/ Raw materials	Svojstva/ Characteristics	Ukupna kiselost/Total acidity (TTA)	Doziranje, na brašno/Dosage, on four (%)
Suho kiselo tijesto/Dried sourdough	raž, pšenica, zob, riža, sladno brašno, durum pšenica/ rye, wheat, oat, rice, malt flour, durum wheat	koncentrirane tvari arome, nisko doziranje/ concentrated aroma compounds, low dosage	40-220	1-6
Pastozno kiselo tijesto/Pasty sourdough	raž, pšenica, zob, riža, sladno brašno, klice, hidrokoloide/ rye, wheat, oat, rice, malt flour, germs, hydrocolloids	sadrži tvari arome, visoki udio fermentiranog tijesta u kruhu/ contains aroma compounds, high proportion of fermented dough in bread	25-100	3-30
Tekuće kiselo tijesto/Liquid sourdough	raž, pšenica, zob, riža, sladno brašno, durum pšenica/ rye, wheat, oat, rice, malt flour, durum wheat	pogodno za prepumpavanje, sadrži tvari arome/pumpable, contains aroma compounds	30-150	1-10
Suho sredstvo za zakiseljavanje/Dried acidifier	preželatizirano brašno, organske kiseline, suho kiselo tijesto/pregelatinized flour, organic acids, dry sourdough	koncentrirane kiseline, nisko doziranje/concentrated acids, low dosage	Do/Up to 1000	0.5-1.5
Tekuće sredstvo za zakiseljavanje/Liquid acidifier	raženo ili pšenično brašno, organske kiseline, hidrokoloide, kiselo tijesto/ rye or wheat flour, organic acids, hydrocolloids, sourdough	koncentrirane kiseline, nisko doziranje, mogućnost prepumpavanja/concentrated acids, low dosage, pumpable	Do/Up to 400	0.5-3.0

20 sati, a ponekad i do 2 dana, često pri temperaturama višim od 30°C. Glavna karakteristika ovog tipa kiselog tijesta je visoko iskorištenje tijesta (IT ≈ 200) pa se to tijesto lako prepumpava i pogodno je za industrijsku primjenu. Bakterije *L. reuteri*, *L. points*, *L. panis* i *L. fermentum* najzastupljenije su vrste u ovom tipu tijesta (Böcker i sur., 1995).

Kiselo tijesto tipa III je osušeno kiselo tijesto. Najčešće se koristi u industrijskoj proizvodnji jer osigurava standardnu kvalitetu krajnjih pekarskih proizvoda. Proizvodi se s BMK koje su otporne na sušenje, a najčešće se koriste *L. brevis*, *L. Plantarum* i *P. pentosaceus*, također pri visokom IT (Böcker i sur., 1995). Na tržištu su prisutne različite varijante s obzirom na način sušenja (Decock i Cappelle, 2005; Brandt, 2007). Moguća je i stabilizacija pasterizacijom ili hlađenjem, pri čemu se zadrže mnoge tvari arome koje se izgube sušenjem, kao i izbjegavanje prašine koja nastaje tijekom doziranja suhog kiselog tijesta.

Za razliku od kiselog tijesta tipa I koje sadrži i "divlje" kvasce, kisela tijesta tipa II i III zahtijevaju dodatak pekarskog kvasca (u istoj ili manjoj količini od uobičajene) kao sredstva za dizanje tijesta. Osim ovih vrsta aktivnog kiselog tijesta na tržištima su prisutni još neki neaktivni oblici sredstava za zakiseljavanje (tablica 2), koji se dodaju direktno u brašno i ne zahtijevaju produžene fermentacije.

plina i pojava kiselog okusa. Ako je miris ugodan, takvom se tijestu doda nova količina brašna i vode te se tijesto ponovno ostavlja fermentirati od 12 do 16 sati pri istoj temperaturi. Nakon nekoliko ponavljanja tog postupka razvije se prirodno kiselo tijesto sa pH vrijednošću oko 4. U svijetu su poznati slijedeći nazivi za prirodno dobivena kisela tijesta kao što su: Chef, Levain (Francuska), Sourdough (SAD), Ansteltgut, Naturesauer (Njemačka) i Desem (Nizozemska) (Grba i sur., 2010). *L. sanfranciscensis* je dominantni mikroorganizam ovog tipa kiselog tijesta, a talijanski Panettone i San Francisco kruh najpoznatiji su tradicionalni proizvodi proizvedeni s ovim tipom kiselog tijesta (Gobetti i Corsetti, 1997). Međutim, ukoliko su u brašnu prisutni nepoželjni mikroorganizmi, takva prirodna fermentacija tijesta može otići u krivom smjeru što nepovoljno utječe na kvalitetu gotovog proizvoda. Stoga se u većini pogona prednost ipak daje upotrebi komercijalnih startera, definiranog sastava i karakteristika mikroorganizama (kiselo tijesto tipa II i III). Njihov broj pri naciepljivanju mora biti znatno veći od onog u brašnu kako bi odabrane mikrobne kulture u tijestu postale dominantne.

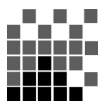
Proizvodnja kiselog tijesta tipa II provodi se u fermentorima u jednostupanjskom procesu, u trajanju od 15-

## Mehanizam djelovanja mikroflora tijekom kiseljenja tijesta

Kako bi se mogle razumjeti promjene te povećanje kvalitete kruha proizvedenog uz dodatak kiselog tijesta, potrebno je objasniti mehanizam djelovanja kiselog tijesta dodanog u zamjes. Naime, tijekom fermentacije, uslijed metaboličke aktivnosti mikroflora kiselog tijesta, događaju se brojne biokemijske promjene ugljikohidrata i proteina brašna, kao i promjene aktivnosti enzima brašna (Gänzle i sur., 2007). Brzina i intenzitet ovih promjena direktno utječu na kvalitetu krajnjih pekarskih proizvoda. Mehanizam djelovanja BMK na strukturu tijesta i kruha vrlo je kompleksan i može se podijeliti na primarni i sekundarni efekt zakiseljavanja (Clarke i Arendt, 2005):

### A) primarni efekt zakiseljavanja

Vrijednost pH zrelog kiselog tijesta je oko 3,5 – 4,3 (Collar i sur., 1994). Uobičajenim dodatkom oko 20 % kiselog tijesta u glavni zamjes pH vrijednost tijesta smanji se na oko 4,7-5,5 (Collar i sur., 1994), što ima za posljedicu povećanje topivosti glutena. Naime, Osborne je još 1907. g. dokazao



da se topivost i bubrenje glutena povećava u kiselom mediju zbog prisutnosti velike količine pozitivnog naboja (Maher Galal, 1978; Thiele i sur., 2004). Ukupni rezultati tih procesa su bitne promjene reoloških svojstava tijesta i posredno volumena kruha i strukture sredine. Povećanje topivosti glutena ima za posljedicu slabljenje strukture tijesta te lakše i kraće miješanje tijesta, povećanu obradivost i elastičnost tijesta, što omogućuje lakše dizanje tijesta i povećanje volumena kruha (Collar i sur., 1994; Clarke i sur., 2002; Clarke i sur., 2004; Katina i sur., 2006; Arendt i sur., 2007). Također je povećana mogućnost vezanja vode što produžuje svježinu kruha (Maher Galal, 1978).

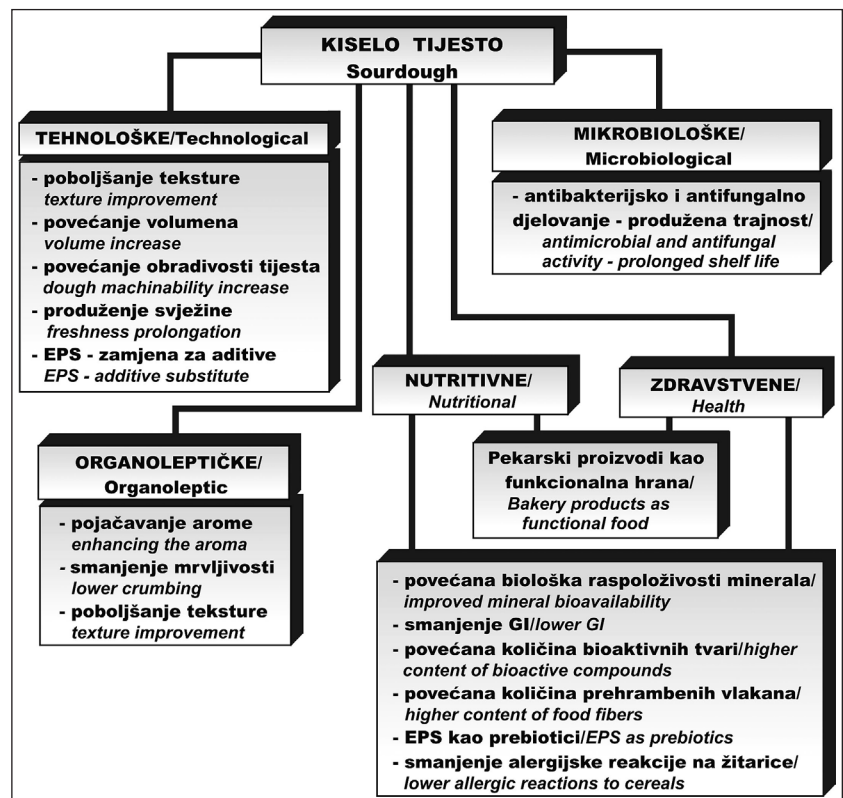
#### B) sekundarni efekt zakiseljavanja

Sintezom kiselina tijekom fermentacije odnosno zaki-seljavanjem tijesta mijenja se aktivnost enzima prisutnih u brašnu. Smanjenjem pH vrijednosti tijesta povećava se aktivnost proteaza (Kawamura i Yonezawa, 1982; Gobetti i sur., 1994b; Kunji i sur., 1996) čime se povećava koncentracija slobodnih aminokiselina (Thiele i sur., 2002, 2004; Thiele, 2003), što povoljno utječe na aromu pekarskih proizvoda. Pri nižem pH povećava se i aktivnost fitaza što povećava biološku dostupnost minerala (Lopez i sur., 2001, 2003; Reale, 2007). S druge strane, smanjenjem pH vrijednosti tijesta smanjuje se aktivnost amilaza što povećava svježinu sredine kruha te smanjuje glikemijski indeks pekarskih proizvoda (Östman i sur., 2002; Muralikrishna i Nirmala, 2005; Goesaert i sur., 2009; Scazzina i sur., 2009; Lappi i sur., 2010).

Ukupni rezultat primarnog i sekundarnog efekta zaki-seljavanja tijesta dijelovanjem mikroflora kiselog tijesta je povećanje kvalitete kruha i drugih pekarskih proizvoda (slika 2).

### Tehnološke prednosti proizvodnje kruha uz dodatak kiselog tijesta

Gluten je najvažnija proteinska komponenta pšeničnog brašna koja tijekom pripreme tijesta veže vodu i tvori glutensku mrežu. S obzirom da glutenska mreža ima svojstvo i zadatak da zadržava CO<sub>2</sub> koji nastaje tijekom fermentacije, gluten je direktno odgovoran za teksturu i volumen kruha. Zakiseljavanjem tijesta povećava se topivost glutena, što znatno mijenja reologiju tijesta. Glutenska mreža je slabija, tijesto je elastičnije i stabilnije te je volumen kruha veći. Ukoliko se proces kiselenja provede neadekvatno dolazi do pretjerane razgradnje glutena što uzrokuje smanjenje volumena kruha. Kiselo tijesto utječe i na teksturu kruha. Tekstura je općenito označena kao multi-parametarsko svojstvo. Najčešća senzorska svojstva teksture sredine kruha koja se opisuju i kvantificiraju su: elastičnost, čvrstoća, mekoća, ljepljivost, vlažnost i mrvljivost kruha, dok se kod kore kruha najčešće opisuju žilavost i hrskavost. Sredina kruha s kiselim tijestom je čvršća, elastičnija i manje mrvljiva, dok je kora kruha duže vremena hrskavija, zahvaljujući smanjenoj migraciji vode iz sredine prema kori. Zbog smanjene migracije vode kruh s kiselim tijestom zadržava i vlažnost sredine tijekom skladištenja što je povezano s procesom starenja kruha. Naime, pekarski proizvodi imaju vrlo kratko vrijeme trajanja i njihova kvaliteta ovisi o vremenskom periodu između pečenja i konzumacije. U tom periodu odvijaju se brojne fizikalno-kemijske promjene



Slika 2. Prednosti proizvodnje pekarskih proizvoda s dodatkom kiselog tijesta  
Figure 2. The advantages of using sourdough for bakery products

sredine i kore kruha, zajednički nazvane starenje kruha (Gray i Bemiller, 2003). Tijekom starenja, sredina kruha postaje tvrđa, čvršća i više mrvljiva, a kora mekana i žilava. I dok je starenje kore povezano s migracijom vode iz sredine prema kori, starenje sredine kruha je kompleksan proces najviše ovisan o promjenama u škrobnoj frakciji. Starenjem kruha škrob se iz želiranog oblika u kojem se nalazi u svježem kruhu, vraća u uređeni, kristalinični oblik. Ovaj proces nazvan je retrogradacija škroba, pri čemu amiloza retrogradira neposredno nakon pečenja, dok amilopektin retrogradira postupno tijekom 5 dana (Gray i Bemiller, 2003) i smatra se odgo-vornom za efekt starenja kruha. BMK cijepaju bočne lance amilopektina i ne dozvoljavaju nje-govo vraćanje u kristaliničnu strukturu. Stoga je uz dodatak kiselog tijesta brzina retrogradacije amilopektina smanjena, a time i brzina sta-renja kruha (Armero i Collar, 1998; Corsetti i sur., 1998, 2000; Crowley, 2002; Mrvčić i sur., 2009).

Nadalje, pojedine BMK kiselog tijesta proizvode razne vrste egzopolisaharida (EPS), glukane (reuteran, dekstran, mutan) i fruktane (levan, inulin) (De Vuyst i sur., 2001; Tiekling i Gänzle, 2005; Bounaix i sur., 2009, Mrvčić i sur., 2010). EPS u tijestu djeluju isto kao i hidrokoloidi (guar guma, ksantan, alginat, pektin) koji su u sastavu aditiva, a koriste se u pekarskoj industriji da bi poboljšali vezanje vode u tijestu, što povoljno utječe na volumen, teksturu, svježinu i rok trajanja kruha. Pozitivan učinak *in situ* sintetiziranih EPS na reologiju tijesta, teksturu i starenje kruha opisali su neki autori (Tiekling i sur., 2003; Tiekling i sur., 2005; Decock i Capelle, 2005; Katina i sur., 2006, 2009; Lacaze i sur., 2007; Ketabi i sur., 2008; Kaditzky i Vogel, 2008).

Drugi pozitivni učinak djelovanja kiselog tijesta na teksturu i starenje kruha zasniva se na sinergističkom djelovanju kiselog tijesta s endogenim i egzogenim enzimima i ostalim sastojcima pekarskih poboljšivača kao što su  $\alpha$ -amilaze, proteinaze, pentozani i pentozanaze (Gray i Bemiller, 2003).

## Organoleptičke prednosti proizvodnje kruha uz dodatak kiselog tijesta

Okus i miris kruha te drugih proizvoda od žitarica glavne su karakteristike u ocjenjivanju njihove kvalitete. Aromu pšeničnog kruha određuje kvaliteta brašna te proces fermentacije i pečenja kruha. Proces pečenja utječe na aromu kore, dok je proces fermentacije odgovoran za aromu sredine kruha. Spojevi koji znatno doprinose aromi kruha su organske kiseline, alkoholi, esteri i karbonilni spojevi. Kruhovi s dodatkom kiselog tijesta iskazuju u usporedbi s direktno proizvedenim kruhovima znatno bolju aromu (Hansen i Hansen 1996; Hansen, 2002; Katina i sur., 2004, 2006; Katina 2005; Gänzle i sur., 2007). To poboljšanje arome kruha dodatkom kiselog tijesta ostvaruje se na nekoliko načina:

a) sniženjem pH vrijednosti zbog mliječno kisele fermentacije aktiviraju se cerealne proteaze što dovodi do povećanja koncentracije slobodnih aminokiselina kao važnih prekursora arome

b) stvaranjem tvari arome i prekursora tvari arome kao produkata metabolizma BMK i kvasaca u kiselom tijestu

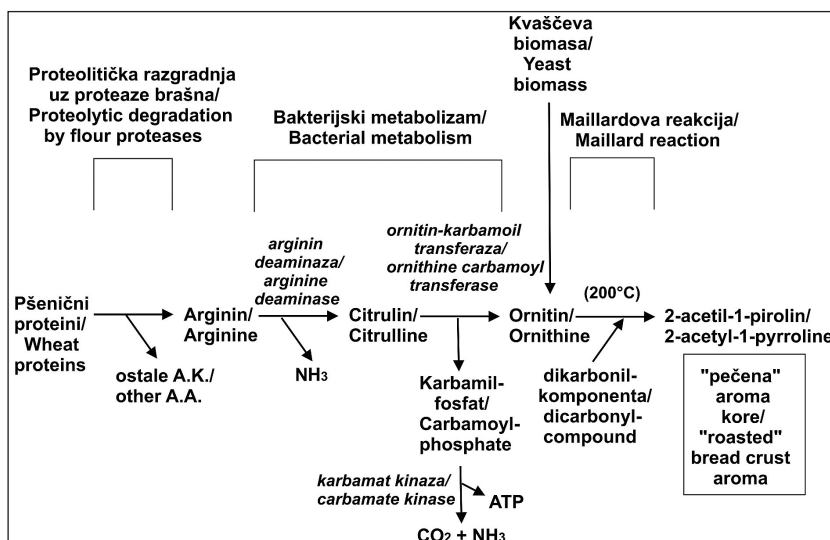
c) modifikacijom negativnih tvari arome brašna uz pomoć mikroflora kiselog tijesta

Pšenična i ražena brašna sadrže male količine slobodnih aminokiselina, u pravilu manje od 1 g AK/kg brašna. Tijekom fermentacije kiselog tijesta povećava se koncentracija aminokiselina unutar 24 sata za 100 – 500 %, naročito hidrofobnih aminokiselina kao što su leucin, izoleucin i fenilalanin (Thiele i sur., 2002, Gänzle i sur., 2008). Laktobacili kiselog tijesta u pravilu imaju slabu proteolitičku aktivnost (Gobbetti i sur., 2005). Mnogo važnije za količinu slobodnih aminokiselina u tijestu su proteaze brašna, koje imaju optimalnu aktivnost pri pH vrijednosti od 3 – 4 (Kawamura i Yonezawa, 1982). Dakle, smanjenjem pH vrijednosti tijekom fermentacije kiselog tijesta aktiviraju se prisutne proteaze brašna koje oslobađaju peptide i slobodne aminokiseline, prije svega iz proteina glutena (Thiele i sur., 2002; Thiele 2003). Nakupljena količina slobodnih aminokiselina tijekom fermentacije kiselog tijesta pretvara se u hlapljive aromatske tvari pomoću dva mehanizama konverzije (Gänzle i sur., 2007):

1) konverzija aminokiselina u hlapive tvari uz pomoć BMK i pekarskog kvasca tijekom fermentacije tijesta (arome sredine)

2) termalna degradacija tijekom pečenja – Maillardova reakcija aminokiselina i reducirajućih šećera za vrijeme pečenja (arome kore) (Thiele i sur., 2002).

Kvasci kiselog tijesta kao i pekarski kvasac za vrijeme fermentacije pretvaraju aminokiseline u aroma-aktivne više alkohole, npr. 3-metilbutanol iz leucina ili feniletanol iz fenilalanina. Laktobacili razgrađuju aminokiseline preko  $\alpha$ -keto-kiseline specifično za pojedini soj redukcijom do  $\alpha$ -hidroksi-kiseline, ili dekarboksilacijom do aldehida, koji dalje oksidacijom može preći u karboksilnu kiselinu. Dominantni produkti izmjene tvari leucina i fenilalanina kod *L. sakei* i *L. plantarum* su  $\alpha$ -hidroksikiseline; hidroksi-izo-kapronska kiselina tj. fenil-laktat, te karboksilne kiseline 3-metil-maslačna kiselina tj. fenil-acetat. I dok su  $\alpha$ -hidroksi-kiseline nevažne za aromu kruha, 3-metil-maslačna kiselina i fenil-acetat imaju važnu ulogu u aromi sredine pšeničnog i raženog kruha (Gänzle i sur., 2007).



Slika 3. Shematski prikaz nastajanja 2-acetil-1-pirolina. (prema Gänzle i sur, 2007)

Figure 3. Schematic presentation of the 2-Acetyl-1-pyrroline (Gänzle et al., 2007)

Ključna tvar arome kore pšeničnog kruha je 2-acetil-1-pirolin (Schieberle, 1996). Acetil-pirolin nastaje za vrijeme pečenja u Maillardovoj reakciji iz ornitina i dikarbonil komponente i osigurava ugodnu „aromu pečenja“ kore kruha („roasty aroma“). Ornitin nije proteinogena aminokiselina i ona ne ulazi u tijesto putem pšeničnog ili raženog brašna, već se manjim dijelom unosi putem biomase pekarskog kvasca, dok se većim dijelom sintetizira u tijestu metabolizmom nekih vrsta laktobacila. Tako npr. *L. pontis*, *L. amylolyticus*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. frumenti*, *L. reuteri*, *L. sakei* i nekoliko sojeva *L. sanfranciscensis* sintetiziraju ornitin iz arginina preko arginin-deiminaza-puta (slika 3)

Najvažniji produkti metabolizma ugljikohidrata heterofermentativnih laktobacila su laktat,  $\text{CO}_2$ , acetat i etanol. Među njima samo acetat djeluje kao mirisna tvar važna za aromu sredine i kore raženog kruha (Schieberle, 1996), dok je mliječna kiselina zbog svoje slabe hlapljivosti kao mirisna tvar irelevantna. U fakultativno heterofermentativnoj izmjeni tvari pentoze se prevode u laktat ili acetat. Taj se metabolički put može iskoristiti kako bi se dodatkom pentoza ksiloze i arabinoze ili dodatkom enzima pentozanaza povećao udio acetata u kiselom tijestu (Gobbetti i sur., 2000). Dodatak fruktoze, saharoze, citrata ili uvođenje kisika u kiselu tijesto vodi do povišene sinteze acetata. I dok je za aromu raženog kruha poželjno nastajanje octene kiseline, kod pšeničnog kruha je ona manje poželjna jer kruhu daje kiselu, rezak i oštar okus. Koliko će octene kiseline nastati, ovisi ponajprije o sastavu mikroflora i uvjetima fermentacije kiselog tijesta (temperatura i iskorištenje tijesta). Ostale važne tvari arome koje su identificirane u višim koncentracijama u sredini kruha koji je proizveden uz dodatak kiselog tijesta su: alkoholi (2-propanol, 3-metil-propanol, 2-feniletanol itd.), diacetil, acetaldehid itd. (Damiani i sur., 1996; Hansen i Hansen, 1996; Hansen, 2002).

Slobodne masne kiseline brašna oksidiraju u aroma-aktivne više aldehide tijekom skladištenja brašna autooksidacijom, uz pomoć lipoksigenaza brašna ili lipoksigenaza iz aditiva. Naročito kod tamnijih tipova brašna i integralnih brašna može u vrlo kratkom vremenu skladištenja nastati značajna količina takvih aldehida koji daju negativnu aromu sredine kruha. Heterofermentativni laktobacili posjeduju enzim alkohol-dehidrogenazu koji reducira više aldehide do odgovarajućih alkohola s boljim aromatskim karakteristikama. Na taj način se tijekom fermentacije kruha s kiselim tijestom koncentracija aroma-negativnih aldehida reducira čak do 85 %.



## Povećanje nutritivne i zdravstvene vrijednosti pekarskih proizvoda

Opisano pozitivno djelovanje kiselog tijesta na tehnološke, mikrobiološke i organoleptičke karakteristike pekarskih proizvoda poznato je već duže vrijeme, dok su rezultati novijih znanstvenih istraživanja pokazali da kruh proizveden uz dodatak kiselog tijesta ima i znatno povećanu nutritivnu i zdravstvenu vrijednost (Katina i sur., 2005; Poutanen i sur., 2009). Naime, kruh proizveden uz dodatak kiselog tijesta ima niži glikemijski indeks (GI, Lijeberg i Bjorck, 1994; Östman i sur., 2002; Muralikrishna i Nirmala, 2005; Goesart i sur., 2009; Sczzina i sur., 2009; Lappi i sur., 2010), povećanu biološku raspoloživost minerala (Lopez i sur., 2001, 2003; Chaoui i sur., 2006; Reale, 2007), povećanu količinu bioaktivnih komponenti (Liukkonen, 2003) te hidrolizirane frakcije proteina što posredno smanjuje alergijske reakcije na žitarice (Di Cagno i sur., 2002; De Angelis, 2005; Rizzello i sur., 2006).

Smanjenje GI kruha koji se proizvodi s kiselim tijestom dokazali su Lijeberg i Bjorck još 1994. g. Međutim, mehanizam smanjenja GI za sada je još uvijek nerazjašnjen. Sczzina i sur., (2009) navode da organske kiseline nastale tijekom kiseljenja usporavaju prolazak hrane kroz želudac i na taj način postepeno doziraju razinu glukoze u krv. S druge strane, Östman i sur. (2002) navode da BMK pridonose specifičnom vezenju škroba i glutena i time smanjuju brzinu razgradnje i biološku dostupnost škroba, a time i manji GI. Osim toga, moguće je da se zbog smanjenja pH vrijednosti i manje aktivnosti amilaza smanjuje hidroliza škroba, čime se smanjuje i GI (Layer, 1986).

Kruh proizveden s kiselim tijestom ima povećanu biološku raspoloživost minerala. Naime, dobro je poznato da fitinska kiselina (mio-inozitol-1,2,3,4,5,6-heksakis-dihidrogenfosforna kiselina) odnosno heksafosfoinozitol, kao važan dio rezervnih organa biljaka, ima sposobnost vezanja važnih mineralnih tvari i esencijalnih elemenata u tragovima (Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu) u čvrste komplekse. Ti kompleksi su jako slabo topivi u vodi pa su biološki nedostupni ljudskom metabolizmu. Fitinska je kiselina nadalje u mogućnosti preko svojih viševalentnih kationa sa negativnim nabojima proteina stvarati tercijarne fitinska kiselina-protein komplekse te na taj način reducirati čak i biodostupnost proteina. Razgradnja nepoželjnih fitata iz brašna se u procesu pripreme tijesta provodi uglavnom uz pomoć cerealnih enzima fitaza, pri čemu je pH vrijednost najvažniji faktor aktivnosti fitaze odnosno hidrolize fitinskih spojeva. U raženom i pšeničnom brašnu je optimalna pH vrijednost između 4,6 - 4,3 što se postiže upravo dodatkom kiselog tijesta. Pri toj pH vrijednosti tijekom 4 sata moguće je razgraditi 96-97 % ukupnih fitata (Spicher i Stephan, 1993).

Kiseljenjem tijesta povećava se i količina bioaktivnih komponenti u žitaricama (Liukkonen, 2003; Katina i sur., 2005; Katina i sur., 2007). Bioaktivne komponente žitarica, lignani, fenoli, fitosteroli, tokoferoli, tokotrienoli, kao i minerali, smješteni su u ovojnici zrna. Katina i sur. (2007) pokazali su da se kiseljenjem tijesta povećava biološka raspoloživost lignana, ferulinske kiseline te drugih fitokemikalija iz aleuronskog sloja. Kiseljenjem tijesta, zbog niskog pH, stabiliziraju se labilne bioaktivne komponente, posebice  $\beta$ -glukan kojim je bogato zobeno brašno. Neki sojevi BMK sintetiziraju riboflavin i niacin te aminokiseline, posebice lizin, triptofan i metionin *in situ* i na taj način povećavaju nutritivnu i zdravstvenu vrijednost pekarskih proizvoda (Hugenholtz i Smid, 2002). Također, kiseljenjem tijesta moguće je u proizvodnji kruha koristiti znatno veću količinu posija (grubih ljuštura zrnja žitarica) bogatih vlaknima koja su u zapadnjačkoj prehrani nedovoljno zastupljena. To smanjeno korištenje prehrambenih vlakana često se povezuje s pojavom karcinoma debelog crijeva, srčanih bolesti te dijabetesom. Potrebno je naglasiti da korištenje prirodnih vlakana u kruhu uzrokuje neke negativne

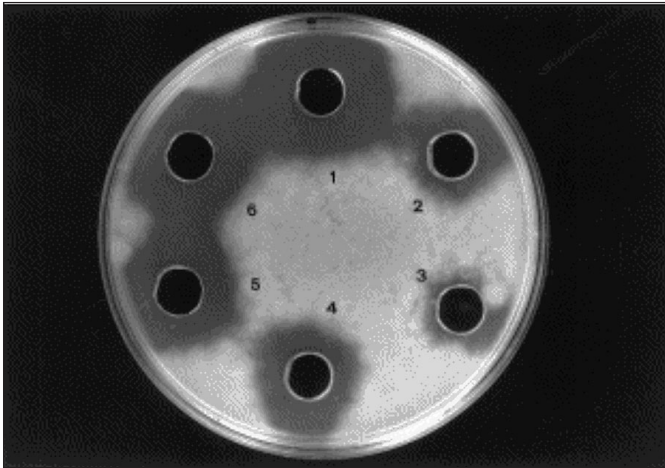
pojave kao što su: smanjenje volumena, stvaranje krute i neelastične kore, promjenu okusa kruha itd. Ovi tehnološki problemi mogu se prevladati fermentacijom tijesta sa starterima koji sadrže BMK. Osim toga, BMK također pozitivno djeluju i na mikrobiološku ispravnost takvih vrsta tijesta i kruha obzirom da se u vanjskom sloju zrna često nalazi mnogo veća koncentracija nepoželjnih mikroorganizama, čiji se broj znatno reducira primjenom kiselog tijesta tijekom proizvodnje kruha.

Utvrđeno je da je 6-10 % dječje i 1-4 % odrasle populacije zahvaćeno raznim alergijama na hranu, pri čemu su kao alergeni znatno zastupljeni i pšenični i raženi proteini (Anonymus (2009). Naime, današnjim brzim procesima proizvodnje pekarskih proizvoda cerealni alergeni podvrgnuti su vrlo blagoj degradaciji, i kao takvi pokazuju veliku otpornost na gastrointestinalne enzime (pepsin, pankreatin, tripsin) te nepromijenjeni dolaze u crijevni trakt gdje izazivaju imunološku tj. alergijsku reakciju. Povećana aktivnost proteaza pri nižim pH vrijednostima uz dodatak kiselog tijesta, kao i proteolitički sustav selektiranih BMK, smanjuje koncentraciju cerealnih alergena (Gobbett i sur., 2006; Rizzello i sur., 2006). Celijakija je jedna od češćih kroničnih gastroenteroloških bolesti, a doživotna bezglutenska dijeta jedina je potrebna i sigurna terapija. Međutim, mnoga škrobno bazirana bezglutenska brašna kontaminirana su glutenom u koncentracijama od 10 do 200 ppm (Collin i sur., 2004), što nije poželjno. Studije Di Cagno i sur. (2004) te De Angelis i sur. (2006) pokazale su da mješavine BMK, pri specifičnim procesnim uvjetima, mogu značajno hidrolizirati frakcije pšeničnog gliadina i na taj način smanjiti rizik od glutske kontaminacije bezglutenskih proizvoda.

BMK koje proizvode EPS mogu zamijeniti hidrokoloide koji se u sastavu aditiva dodaju za poboljšanje strukture i svježine kruha (Galle, 2011). Sintetizirani egzopolisaharidi, glukani, fruktani te gluko- i frukto - oligosaharidi također mogu djelovati i kao prebiotici (Tiekling i Ganzle, 2005; Semjonovs i sur., 2008). Bakterija *L. sanfranciscensis* proizvodi levan koji pomaže rast bifidobakterija u probavnom traktu, što pozitivno djeluje na zdravlje čovjeka (Dal Bello i sur., 2001; Korakli i sur., 2003). Također, dekstran može biti razgrađen do propionske kiseline za koju je dokazano da smanjuje razinu kolesterola i triglicerida (Jann i sur., 2006). I dok mliječni proizvodi blagotvorno djeluju na zdravlje čovjeka putem dva mehanizma: neposredno probiotičkim djelovanjem i posredno sintezom metabolita („biogena“), kod kruha je moguće samo posredno djelovanje biogena. Ova istraživanja su u vrlo ranoj fazi, a primjer je proizvodnja kruha s pomoću BMK, obogaćenog s  $\gamma$ -aminobutiričnom kiselinom (GABA) (Coda i sur., 2010).

## Mikrobiološke prednosti proizvodnje kruha uz dodatak kiselog tijesta

Prema rezultatima GfK agencije za istraživanje tržišta iz srpnja 2010. g. tek u 39 % hrvatskih kućanstava pojede se sav kupljeni kruh, dok se ostale količine većinom bacaju, a kao osnovni razlog tome navode se loša kvaliteta kruha i kratak rok uporabe. Naime, uz već spomenuti problem starenja kruha, kontaminacija plijesnima i nitavo bakterijsko kvarenje kruha najčešći su problemi pekarske industrije koji u cijelom svijetu uzrokuju vrlo značajne ekonomske gubitke. Plijesni kvarenja pekarskih proizvoda spadaju u rodove *Fusarium Penicillium*, *Aspergillus*, *Monilia*, *Mucor*, *Endomyces*, *Cladosporium* i *Rhizopus* (Corsetti i sur., 1998) dok nitavost kruha uzrokuju bakterije *B. subtilis* i *B. licheniformis* (Mentes i sur., 2007). Srećom, BMK pokazuju i antibakterijsko i antifungalno djelovanje pa je dodatak kiselog tijesta u kruh pouzdan biološki postupak sprječavanja njegovog kvarenja (Corsetti i sur., 1996, 1998; Rizzello i sur., 2011). Naime, BMK produciraju



**Slika 4.** Inhibicija rasta *Fusarium graminearum* s različitim smjesama kiselina ukupne koncentracije 16 mM (disk 1 - octena, kapronska, mravlja, propionska, butirična, valerijanska kiselina; disk 2-bez octene, disk 3-bez kapronske, disk 4-bez mravlje, disk 5-bez butirične, disk 6-bez propionske kiseline, Corsetti i sur., 1998).

**Figure 4.** Inhibition of *Fusarium graminearum* by different mixtures of acids (total concentration 16 mM). Well 1 - acetic, caproic, formic, propionic, butyric, and valeric acids; well 2 - the mixture without acetic; well 3 - the mixture without caproic; well 4 - the mixture without formic; well 5 - the mixture without butyric; well 6 - the mixture without propionic acid (Corsetti et al., 1998).

široki spektar spojeva s antimikrobnim djelovanjem (organske kiseline, bakteriocini, fenolni spojevi, vodikov peroksid, dipeptidi, Dalić sur., 2010). Kao najvažniji spojevi odgovorni za antifungalno djelovanje označeni su kapronska, mliječna, octena, mravlja, butirična i valerijanska kiselina (Corsetti i sur., 1998, slika 4) te fenil-mliječna kiselina (Lavermicocca i sur., 2003), kao i ciklički dipeptidi: ciklo (Gly-Leu), ciklo (Phe-Pro), (Phe-OH-Pro), (Phe-4-OH-Pro), (Magnusson i sur., 2003). Primjer inhibicije prikazan je na slici 4.

BMK kiselog tijesta proizvode i bakteriocine te bakteriocinima slične inhibitorne spojeve (BLIS). Do danas su okarakterizirani bavaricin A (*L. bavaricus*), plantaricin (*L. plantarum*), reuterin (*L. reuteri*) te BLIS: C57 (*L. sanfranciscensis*); 2MF8, 8CF (*L. pentosus*); 4DE, 3DM (*L. plantarum*) i CS1 (*Lactobacillus sp.*) (Gänzle i Vogel, 2002; Gobetti i sur., 2005; Dal Bello i sur., 2007). Neki od bakteriocina proizvode se i komercijalno (nisin).

## Tehnološki procesi u pripremi kiselog tijesta

Postoji mnogo prijedloga za vođenje procesa kiseljenja tijesta. Ono se može proizvoditi ručno u plastičnim posudama ili posudama za zamjes, ili automatizirano u fermentoru, pri čemu iskorištenje tijesta mora iznositi minimalno 200. Za proizvodnju kiselog tijesta od raženog brašna najviše se primjenjuju višestupanjske metode, od kojih je najčešća trostupanjaska, dok se pšenična kisela tijesta proizvode u jednostupanjskom, a vrlo rijetko u dvostupanjskom ili višestupanjskom procesu. Kiselo tijesto može se proizvoditi tradicionalno spontanom fermentacijom ili uz

dotatak komercijalnih startera, od kojih je prvi komercijalno dostupan starter („Böcker Reinzuchtsauerteig“) proizveden još 1910. godine (Brandt, 2007). Komercijalni starteri obavezno sadrže jednu ili više vrsta BMK, a mogu sadržavati i određene vrste kvasaca. Na slici 5 prikazana je opća shema proizvodnje kiselog tijesta i kruha uz dodatak kiselog tijesta.

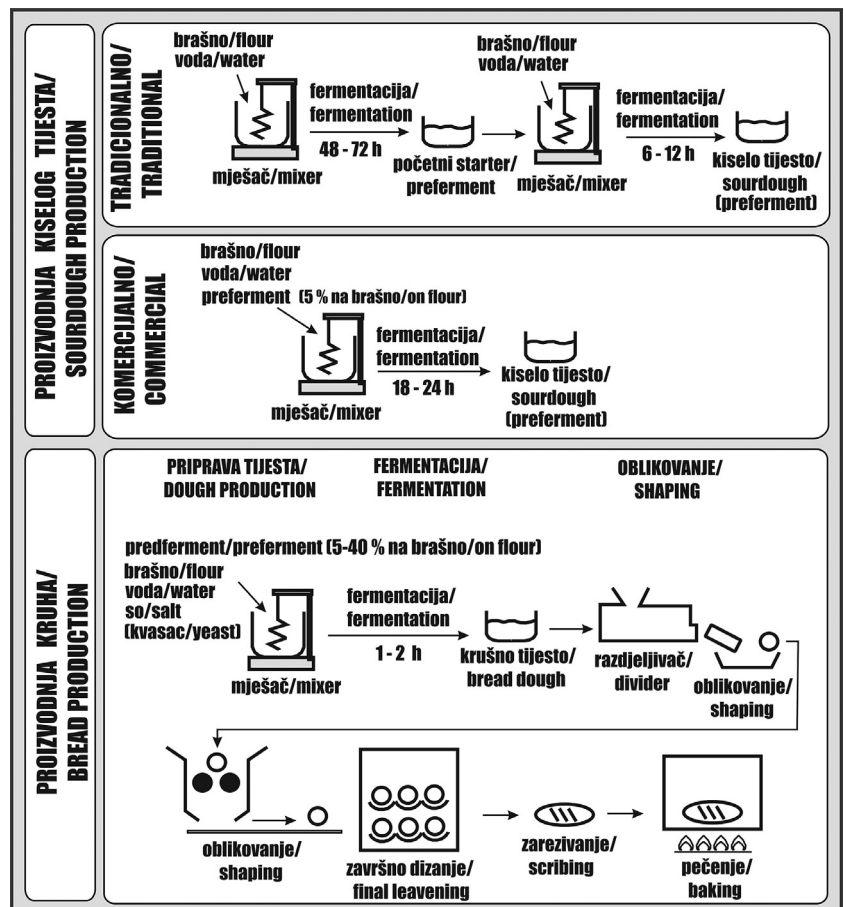
Raženo kiselo tijesto proizvodi se najčešće u tri faze (svježa kiselost, osnovna kiselost i puna kiselost). Aktivnost mikroflora održava se dodavanjem brašna i vode, a ukupno vrijeme fermentacije sva tri stupnja iznosi oko 18 h. Preporučeno doziranje kiselog tijesta u glavni zamjes, zbog tehnoloških zahtjeva, iznosi i do 40 % na brašno.

Pšenično kiselo tijesto proizvodi se najčešće u jednom ili dvostupanjskom procesu (tablica 3).

Tijekom proizvodnje kiselog tijesta djelovanje mikroflora kiselog tijesta na supstrat i razvoj kiselosti u većoj ili manjoj mjeri pod utjecajem je niza faktora koji se prema Arendtu i sur. (2007) mogu podijeliti na:

1. Procesne parametre kao što su: temperatura i vrijeme fermentacije, koncentracija O<sub>2</sub>, udio vode (iskorištenje tijesta), udio soli, količina i sastav startera
2. Endogene faktore tj. karakteristike brašna: vrsta i tip brašna (sastav i koncentracija ugljikohidrata, dušika, minerala, lipida i masnih kiselina), aktivnost cereálnih enzima
3. Biološke faktore koji proizlaze iz mikroflora kiselog tijesta: faza rasta mikroflora, interakcije između mikroorganizama, prisustvo kontaminacija, proizvodnja antimikrobnih supstanci

Optimalna temperatura za razmnožavanje BMK kiselih tijesta je 30-35 °C. Temperatura kao i iskorštenje tijesta utječe na vrijeme fermentacije, razvoj kiselosti i na relativne količine



**Slika 5.** Opća shema proizvodnje kiselog tijesta i kruha uz dodatak kiselog tijesta  
**Figure 5.** Production of sourdough and bread with sourdough



**Tablica 3.** Kriteriji vođenja pšeničnog kiselog tijesta (Spicher i Stephan, 1993)

**Table 3.** Parameters for wheat sourdough production (Spicher i Stephan, 1993)

Način vođenja/ Procedure	Vrijeme fermentacije/ Time of fermentation (h)	Tip pšeničnog brašna u kiseloj tijesti/ Type of wheat flour in sourdough	Stupanj kiselosti kiselog tijesta/ Sourdough acidity degree	Udio kiselog tijesta u kruhu/Sourdough in bread (%)	Stupanj kiselosti kruha/Bread acidity degree
jednostupanjsko/one-step	15 – 20 h	550	5-7	20	3,5
jednostupanjsko/one-step		812	8-10	10	3,5
jednostupanjsko/one-step		1050	11-13	5	3,5
dvostupanjsko/two-step	1. st: 15-20 h 2. st: 3 h	550	4-6	20	3,0
dvostupanjsko/two-step		812	5-7	20	3,5
dvostupanjsko/two-step		1050	6-8	20	4,0

stvorene mliječne i octene kiseline. Povećanjem udjela vode u kiseloj tijesti ubrzava se nastajanje kiselina tj. razvoj stupnja kiselosti. Viša temperatura i/ili veće iskorištenje kiselog tijesta potiču nastajanje mliječne kiseline te takva kisela tijesta daju snažan i aromatičan, ali ne i prekiseli okus kruha. S druge strane, niža temperatura procesa i manje iskorištenje kiselog tijesta vode k povećanom stvaranju octene kiseline, što rezultira bljutavim i prekiselim okusom kruha. Porastom iskorištenja tijesta pomiče se omjer prisutnog broja bakterija i kvasaca u korist kvasaca. Za BMK su općenito mali parcijalni tlakovi kisika podnošljivi, djelomice čak i stimulirajući. Dodatak male količine NaCl (0,1 % na masu brašna) pospješuje fermentaciju tijesta, dok veće količine djeluju inhibitory na sintezu kiselina i umnažanje mikroflora kiselog tijesta. To se može iskoristiti za produžetak vremenske tolerancije upotrebe zrelog kiselog tijesta (do 80 h).

BMK za svoj rast i razvoj trebaju cijeli niz mineralnih tvari kao što su kalij, natrij, kalcij, magnezij, mangan te fosfor i sumpor. Zbog toga, što je veći udio pepela u brašnu (tamnija brašna T-850, T-1100), to je intenzivniji rast bakterija i kvasaca i stvaranje kiselina i drugih metabolita fermentacije. Mliječna i octena kiselina sintetizirane tijekom kiseljenja povratno djeluju na mikrofloru kiselog tijesta. Naime, ukoliko je smanjenje pH vrijednosti rezultat djelovanja heterofermentativnih bakterija uz dobivanje 1 ml octene kiseline/100 g supstrata (pH 3,6) inhibicija rasta kvasca je mala, dok kod homofermentativnih bakterija sa stvaranjem mliječne kiseline (0,5-2 ml/100 g supstrata; pH 3,25-2,65) dolazi do potpune inhibicije rasta kvasca.

Zato je važno naglasiti da optimizacija procesnih parametara omogućuje proizvodnju kiselog tijesta visoke aktivnosti, što osigurava proizvodnju svih vrsta kruha poboljšanih tehnoloških, mikrobioloških i organoleptičkih karakteristika sa znatno uvećanom nutritivnom i zdravstvenom vrijednošću.

## Literatura

Anonymus (2009) Celijakija ili glutenska enteropatija, <<http://plivazdravlje.hr>>. Pristupljeno 12. veljače 2009.

Arendt E.K., Ryan L.A.M., Dal Bello F. (2007) Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology*, 24, 165-174.

Armero E., Collar C. (1998) Crumb Firming Kinetics of Wheat Breads With Anti-Staling Additives. *Journal of Cereal Science*, 28, 165-174.

Böcker G., Stolz P., Hammes W.P. (1995) Neue Erkenntnisse zum Ökosystem Sauerteig und zur Physiologie des sauergetypischen Stämme *L. sanfrancisco* und *L. points*. *Getreide Mehl und Brot*, 49, 370-374.

Bounaix M.S., Gabriel V., Morel S., Robert H., Rabier P., Remaud-Siméon M., Gabriel B., Fontagné-Faucher C. (2009) Biodiversity of exopolysaccharides produced from sucrose by sourdough lactic acid bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22, 89-97.

Brandt M. (2007) Sourdough products for convenient use in baking. *Food Microbiology*, 24, 161-164.

Chaoui A., Faid M., Belahsen R. (2006) Making bread with sourdough improves iron bioavailability from reconstituted fortified wheat flour in mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20, 217-220.

Clarke C., Schober T.J., Arendt E.K. (2002) Effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures in rheological properties of wheat dough and bread quality. *Cereal Chemistry*, 79, 640-647.

Clarke C.I., Schober T.J., Dockery P., O'Sullivan K., Arendt E.K. (2004) Wheat sourdough fermentation: Effects of time and acidification on fundamental rheological properties. *Cereal Chemistry*, 81, 409-417.

Clarke C., Arendt E.K. (2005) A review of the application of sourdough technology to wheat breads. *Advances in Food and Nutrition Research*, 49, 138-161.

Coda R., Rizzello C.G., Gobbetti M. (2010) Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of gamma-aminobutyric acid (GABA). *International journal of food microbiology*, 137, 236 - 245.

Collar C., Benedito de Barber C., Martinez-Anaya M.A. (1994) Microbial sourdoughs influence acidification properties and bread - making potential of wheat dough. *Journal of Food Science*, 59, 629-633.

Collin P., Thorell L., Kaukinen K., Mäki M. (2004) The safe threshold for gluten contamination in gluten-free products. Can trace amounts be accepted in the treatment of coeliac disease? *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 19, 1277-1283.

Corsetti A., Gobbetti M., Smacchi E. (1996) Antibacterial activity of sourdough lactic acid bacteria: isolation of a bacteriocin-like inhibitory substance from *L. sanfrancisco* C57. *Food Microbiology*, 13, 447-456.





- Corsetti A., Gobbetti M., Rossi J., Damiani P. (1998) Antimould Activity of Sourdough LAB: Identification of a Mixture of Organic Acids Produced by *L. sanfrancisco* CBI. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50, 253–256.
- Corsetti A., Gobbetti M., Balestrieri F., Paoletti F., Russi L., Rossi J. (1998) Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling. *Journal of Food Science*, 63, 347-351.
- Corsetti A., Gobbetti M., De Marco B., Balestrieri F., Paoletti F., Russi, L. (2000) Combined effect of sourdough lactic acid bacteria and additives on bread firmness and staling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3044-3051.
- Corsetti A., Settanni L. (2007) Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Research International*, 40, 539-558.
- Crowley P., Schober T., Clarke C., Arendt E. (2002) The effect of storage time on textural and crumb grain characteristics of sourdough wheat bread. *European Food Research and Technology*, 214, 489-496.
- Dalić D.K.D., Deschamps A.M., Richard F. (2010) Forget Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*, 21, 370-380.
- Dal Bello F., Clark C.I., Ryan L.A.M., Ulmer H, Ström K., Sjögren J., van Sinderen D., Schnürer J., Arendt E.K. (2007) Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by using the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. *Journal of Cereal Science*, 45, 309-318.
- Dal Bello F., Walter J., Hertel C., Hammes, WP. (2001) In vitro study of prebiotic properties of levan-type exopolysaccharides from lactobacilli and non digestible carbohydrates using denaturing gradient gel electrophoresis. *Systematic & Applied Microbiology* 24, 1-6.
- Damiani P., Gobbetti M., Cossignani M., Corsetti A., Simonetti M.S., Rossi, J. (1996) The sourdough microflora: Characterization of hetero- and homofermentative lactic acid bacteria, yeasts and their interactions on the basis of the volatile compounds produced. *LWT – Food Science and Technology*, 29, 63-70.
- De Angelis M., Rizzello C.G., Fasano A., Clemente M.G., De Simone C., Silano M., De Vincenzi M., Losito I., Gobbetti M. (2006) VSL#3 probiotic preparation has the capacity to hydrolyze gliadin polypeptides responsible for celiac sprue. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1762, 80-93.
- Decock P., Cappelle S. (2005) Bread technology and sourdough technology. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 113-120.
- De Vuyst L., Vancanneyt M. (2007) Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 24, 120-127.
- De Vuyst L., Neysens P. (2005) The sourdough microflora: Biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 43-56.
- De Vuyst L., Vrancken G., Ravyts F., Rimaux T., Weckx S. (2009) Biodiversity, ecological determinants and metabolic exploitation of sourdough microbiota. *Food Microbiology*, 26, 666-675.
- De Vuyst L., De Vin F., Vaningelgem F., Degeest B. (2001) Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11, 687–707
- Di Cagno R., De Angelis M., Lavermicocca P., De Vincenzi M., Giovannini C., Faccia M., Gobbetti M. (2002) Proteolysis by Sourdough LAB: Effects on Wheat Flour Protein Fractions and Gliadin Peptides Involved in Human Cereal Intolerance. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 623-633.
- Galle S., Schwab C., Arendt E. K., Gänzle M.G. (2011) Structural and rheological characterisation of heteropolysaccharides produced by lactic acid bacteria in wheat and sorghum sourdough. *Food Microbiology*, Article in Press.
- Gänzle, M.G., Vogel, R.F. (2002) Contribution of reutericyclin production to the stable persistence of *L. reuteri* in industrial sourdough fermentation. *J. Food Microbiol.* 80, 31-45.
- Gänzle M.G., Vermeulen N., Vogel R.F. (2007) Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. *Food Microbiology*, 24, 128-138.
- Gänzle M.G., Loponen J., Gobbetti M. (2008) Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 513-521.
- Gobbetti M., Slmonetti M., Rossi J., Cossignani L., Corsetti A., Damiani P. (1994b) Free D- and L-Amino Acid Evolution During Sourdough Fermentation And Baking. *Journal of Food Science*, 59, 881- 884.
- Gobbetti M., Corsetti A., Rossi J., La Rosa F., De Vincenzi S. (1994a) Identification and clustering of lactic acid bacteria and yeast from wheat sourdoughs of central Italy. *Italian Journal of Food Science*, 6, 85-94.
- Gobbetti M., Corsetti A. (1997) *L. sanfrancisco* a key sourdough lactic acid bacterium: a review. *Food Microbiology*, 14, 175-188.
- Gobbetti M. (1998) The sourdough microflora: Interactions acid bacteria and yeasts. *Trends in Food Science and Technology*, 9, 267-274.
- Gobbetti M., Lavermicocca P., Minervini F., De Angelis M., Corsetti A. (2000) Arabinose fermentation by *Lactobacillus plantarum* in sourdough with added pentosans and  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase: a tool to increase the production of acetic acid. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 317-324.
- Gobbetti M., De Angelis M., Corsetti A., Di Cagno R. (2005) Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 57-69.
- Gobbetti M., Rizzello C.G., Di Cagno R., De Angelis M. (2006) Sourdough lactobacilli and celiac disease. *Food Microbiology*, 24, 187-196.
- Goesaert H., Slade L., Levine H., Delcour J.A. (2009) Amylases and bread firming – an integrated review. *Journal of Cereal Science*, 50, 345-352.
- Gray J.A., Bemiller J.N. (2003): Bread staling, Molecular basis and control Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2, 1-21.
- Grba S. (2010) Kvasci u biotehnoškoj proizvodnji. *Plejada*, Zagreb, 319-325.
- Grba S., Stehlik-Tomas V., Šehović Đ., Romac S. (1995) The Influence of Temperature on Production of Organic Acids in Dough Fermentation with *L. brevis*, *S. uvarum* and *C. krusei* (in Pure and Mixed Cultures). *Prehrambeno-tehnološka i biotehnološka revija*, 33, 43-46.
- Gullo M., Romano A.D., Pulvirenti A., Giudici P. (2002) *Candida humilis* – dominant species in sourdough for the production of durum wheat bran flour bread. *International Journal of Food Microbiology*, 80, 55-59.
- Hughenoltz J., Smid E.J. (2002) Nutraceutical production with food-grade microorganisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 497-507.
- Hammes W.P., Gänzle M.G. (1998) Sourdough breads and related products. In *Microbiology of Fermented foods* (B.J.B. Wood, ed.) 2<sup>nd</sup> Ed., Vol. 2, pp. 199-216. *Blackie Academic & Professional*, London.
- Hansen A., Hansen B. (1996) Flavour of sourdough wheat bread crumb. *Z. Lebensm Unters Forsch.*, 202, 244–249.
- Hansen A., (2002) Crust and Crumb flavor: characterization and contribution. *AACC Short course on understanding bread flavour*, Belgium, March 2002, 12-16.



- Jann A., Arrigoni E., Rochat F., Schmid D., Bauche A. (2006) Method for increasing the production of propionate in the gastrointestinal tract. *United States Patent* 7091194.
- Kaditzky S., Vogel R.F. (2008) Optimization of exopolysaccharide yields in sourdoughs fermented by lactobacilli. *European Food Research and Technology*, 228, 291–299.
- Katina K., Poutanen K., Karin A. (2004) Influence and Interactions of Processing Conditions and Starter Culture on Formation of Acids, Volatile Compounds, and Amino Acids in Wheat Sourdoughs. *Cereal Chemistry*, 81, 598–610.
- Katina K., Arendt E., Liukkonen K.H., Autio K., Flander L., Poutanen K. (2005) Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 104–112.
- Katina K. (2005) Sourdough: a tool for the improved flavour, texture and shelf-life of wheat bread. *VTT Biotechnology*, Finland.
- Katina K., Heiniö R., Autio K., Poutanen K. (2006) Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *LWT- Food Science and Technology*, 39, 1189–1202.
- Katina K., Liukkonen K.H., Kaukovirta-Norja A., Adlercreutz H., Heinonen S.M., Lampi A.M., Pihlava J.M., Poutanen K. (2007) Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. *Journal of Cereal Science*, 46, 348–355.
- Katina K., Main N.H., Juvonen R., Flander L., Johansson L., Virkki L., Tenkanen M., Laitila A. (2009) In situ production and analysis of Weissella confusa dextran in wheat sourdough. *Food Microbiology*, 26, 734–743.
- Kawamura Y., Yonezawa D. (1982) Wheat flour proteases and their action on gluten proteins in dilute acetic acid. *Agricultural Biology and Chemistry*, 46, 767–773.
- Ketabi A., Soleimani-Zad S., Kadivar M., Sheikh-Zeinoddin M. (2008) Production of microbial exopolysaccharides in the sourdough and its effects on the rheological properties of dough. *Food Research International*, 41, 948–951.
- Kunji E.R., Mierau I., Hagting A., Poolman B., Konings W.N. (1996) The proteolytic system of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 70, 187–221.
- Korakli, M., Gänzle M.G., Vogel R.F. (2002) Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye and exopolysaccharides produced by *L. sanfranciscensis*. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 958–965.
- Lacaze G., Wick M., Cappelle S. (2007) Emerging fermentation technologies: Development of novel sourdoughs. *Food Microbiology*, 24, 155–160.
- Lappi J., Selinheimo E., Schwab U., Katina K., Lehtinen P., Mykkänen H., Kolehmainen M., Poutanen K. (2010) Sourdough fermentation of wholemeal wheat bread increases solubility of arabinoxylan and protein and decreases postprandial glucose and insulin responses. *Journal of Cereal Science*, 51, 152–158.
- Lavermicocca P., Valerio F., Visconti A. (2003) Antifungal activity of phenilactic acid against molds isolated from bakery products. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 634–640.
- Layer P., Zinsmeister A.R., DiMagno E.P. (1986) Effects of decreasing intraluminal amylase activity on starch digestion and postprandial gastrointestinal function in humans. *Gastroenterology*, 91, 41–48.
- Liukkonen K.H., Katina K., Wilhelmson A., Myllymäki O., Lampi A.M., Kariluoto S., Piironen V., Heinonen S.M., Nurmi T., Adlercreutz H., Peltoketo A., Pihlava J.M., Hietaniemi V., Poutanen K. (2003) Process-induced changes on bioactive compounds in whole grain rye. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 117–122.
- Liljeberg H., Björck I. (1994) Bioavailability of starch in bread products. Postprandial glucose and insulin responses in health subjects and in vitro resistant starch content. *European Journal of Clinical Nutrition*, 48, 151–164.
- Lopez H. W., Krespine V., Guy C., Messenger A., Demigne C., Remesy C. (2001) Prolonged Fermentation of Whole Wheat Sourdough Reduces Phytate Level and Increases Soluble Magnesium. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2657–62.
- Lopez H.W., Duclos V., Coudray C., Krespine V., Feillet-Coudray C., Messenger A., Demigné C., Rémésy C. (2003) Making bread with sourdough improves mineral bioavailability from reconstituted whole wheat flour in rats. *Nutrition*, 19, 524–30.
- Magnusson J., Ström K., Roos S., Sjögren J., Schnürer J. (2003) Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 219, 129–135.
- Maher Galal A., Varriano-Marston E., Johnson J.A. (1978) Rheological dough properties as affected by organic acids and salt. *Cereal Chemistry*, 55, 683–691.
- Mentes Ö., Ercan R., Akcelik M. (2007) Inhibitor activities of two *Lactobacillus* strains, isolated from sourdough, against rope-forming *Bacillus* strains. *Food Control*, 18, 359–363.
- Mrvčić J., Krunoslav M., Križanović S., Stanzer D., Mladen B., Grba S., Stehlik-Tomas V. (2009) Influence of preferment on wheat bread freshness and quality // 5th International Congress and 7th <<Croatian Congress of Cereal Technologists: "Flour - Bread" / Ugarčić Hardi Ž.(ur.), Osijek: Faculty of Food Technology Osijek. *Department of Cereal Processing Technologies*, 93–93.
- Mrvčić J., Hrsto O., Stanzer D., Grba S., Stehlik-Tomas V. (2010) Proizvodnja i primjena bakterijskih egzopolisaharida u pekarstvu/XIII Ružičkini dani. "Danas znanost-sutra industrija"-zbornik sažetaka, Drago Šubarić (ur.). Vukovar, xx-xx.
- Muralikrishna G., Nirmala M. (2005) Cereal  $\alpha$ -amylases - an overview. *Carbohydrate Polymers*, 60, 163–173.
- Östman E.M., Liljeberg H.G. M., Björck E., Björck I.M. E. (2002) Barley Bread Containing Lactic Acid Improves Glucose Tolerance at a Subsequent Meal in Healthy Men and Women. *Journal of Nutrition*, 132, 1173–1175.
- Poutanen K., Flander L., Katina K. (2009) Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiology*, 26, 693–699.
- Reale A., Konietzny U., Coppola R., Sorrentino E., Greiner R. (2007) The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 2993–7.
- Rizzello C.G., De Angelis M., Coda R., Gobbetti M. (2006) Use of selected sourdough lactic acid bacteria to hydrolyze wheat and rye proteins for cereal allergy. *European Food Research and Technology*, 223, 405–411.
- Rizzello C.G., Cassone A., Coda R., Gobbetti M. (2011) Antifungal activity of sourdough fermented wheat germ used as an ingredient for bread making. *Food Chemistry*, xx, xx-xx.
- Scazzina F., Del Rio D., Pellegrinia N., Brighenti F. (2009) Sourdough bread: Starch digestibility and postprandial glycemic response. *Journal of Cereal Science*, 49, 419–421.
- Schickentanz D.M., Davidson S. (1996) Bread and travel: Travelling sourdough. *Proceedings of Oxford Symposium on Food and Cookery*, p. 280.



Schieberle P. (1996) Intense aroma compounds –useful tools to monitor the influence of processing and storage on bread aroma. *Advances in Food Sciences* 18, 237-244.

Semjonovs, P., Jasko, J., Auzina, L., Zikmanis, P. (2008) The Use of Exopolysaccharide-Producing Cultures of Lactic Acid Bacteria to Improve the Functional Value of Fermented Foods. *Journal of Food Technology*, 6, 101-109.

Spicher G., Stephan H. (1993) Handbuch Sauerteig. *Biologie-Biochemie-Technologie* Hamburg.

Stolz P. (1999) Mikrobiologie des Sauerteiges. In G. Spicher & H. Stephan (Eds.), Handbuch Sauerteig: Biologie, Biochemie. *Technologie* (pp 35-60). Hamburg: Behr's Verlag.

Thiele C. (2003) Hydrolysis of gluten and the formation of flavor precursors during sourdough fermentation. *T.U.M.*, 93-111.

Thiele C., M.G. Ganzle, Vogel R.F. (2002) Contribution of sourdough lactobacilli, yeast and cereal enzymes to the

generation of amino acids in dough relevant for bread flavour. *Cereal Chemistry*, 79, 45-51.

Thiele C., Grassl S., Gänzle M.G. (2004) Gluten hydrolysis and depolymerisation during sourdough fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1307-1314.

Tieking M., Gänzle M.G. (2005) Exopolysaccharides from cereal-associated lactobacilli. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 79-84.

Tieking M., Kühnl W., Gänzle M.G. (2005) Evidence for formation of heterooligosaccharides by lactobacillus sanfranciscensis during growth in wheat sourdough. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2456-2461.

Tieking M., Korakli M., Ehrmann M.A., Gänzle M.G., Vogel R.F. (2003) *In situ* production of exopolysaccharides during sourdough fermentation by cereal and intestinal isolates of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 945-952.