

# Ugljikohidratni sastav brašna rogača s različitih lokaliteta hrvatskog priobalja

---

Žilić, Darja

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:404246>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Darja Žilić**

**Ugljikohidratni sastav brašna rogača s različitim  
lokaliteta hrvatskog priobalja**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Biokemija prehrane Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i izrađen na Zavodu za kemiju prehrane pod stručnim vodstvom dr.sc. Lovorke Vujić.

Zahvaljujem dr.sc. Lovorki Vujić na stručnoj pomoći, razumijevanju i savjetima tijekom izrade i pisanja ovog diplomskog rada. Također se zahvaljujem svim djelatnicima Zavoda za kemiju prehrane, osobito gospođi Blažinić na potpori i pomoći prilikom rada u laboratoriju.

Veliko hvala i mojoj obitelji, dečku i prijateljima bez čije potpore bi sve ovo bilo puno teže.

## Sadržaj

1.	UVOD.....	1
1.1.	MAKRONUTRIJENTI I PRAVILNA PREHRANA .....	1
1.2.	UGLJIKOHIDRATI.....	2
1.2.1.	MONOSAHARIDI.....	2
1.2.2.	DISAHARIDI.....	4
1.2.3.	OLIGOSAHARIDI.....	4
1.2.4.	POLISAHARIDI.....	5
1.3.	METABOLIZAM UGLJIKOHIDRATA.....	7
1.4.	PROBAVLJIVOST UGLJIKOHIDRATA .....	7
1.5.	GLIKEMIJSKI INDEKS (GI).....	9
1.5.1.	NAMIRNICE VISOKOG I NISKOG GI.....	10
1.5.2.	GLIKEMIJSKO OPTEREĆENJE.....	10
1.5.3.	ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA GLIKEMIJSKI INDEKS.....	10
1.6.	METODE ODREĐIVANJA UGLJIKOHIDRATA .....	11
1.6.1.	KROMATOGRAFSKO ODREĐIVANJE UGLJIKOHIDRATA.....	12
1.6.2.	KOMPLEKSOMETRIJSKO ODREĐIVANJE UGLJIKOHIDRATA .....	13
1.6.3.	SPEKTROFOTOMETRIJSKE METODE.....	13
1.6.4.	VOLUMETRIJSKO-TALOŽNE METODE.....	14
1.6.5.	POLARIMetriJA.....	14
1.6.6.	GRAVIMetriJA.....	15
1.6.7.	ENZIMSKE METODE ZA ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE GLUKOZE .....	15
1.6.8.	BIOKEMIJSKE METODE .....	16
1.7.	PODRIJETLO I GEOGRAFSKA RAŠIRENOST ROGAČA ( <i>Ceratonia siliqua</i> L.).....	16
1.7.1.	IZGLED I KEMIJSKI SASTAV PLODA ROGAČA .....	17
1.7.2.	UPOTREBA ROGAČA .....	19
1.7.3.	DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA O ROGAČU U SVIJETU .....	20
2.	OBRAZLOŽENJE TEME.....	22
3.	MATERIJALI I METODE.....	23

3.1.	MATERIJALI .....	23
3.2.	APARATURA I PRIBOR.....	23
3.3.	REAGENSI .....	23
3.4.	METODE .....	25
3.4.1.	VOLUMETRIJSKO ODREĐIVANJE PRIRODNOG I UKUPNOG INVERTA METODOM PO LUFF- SCHOORLU .....	25
3.4.2.	ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE GLUKOZE ENZIMSKOM GOD-PAP METODOM.....	28
3.4.3.	ODREĐIVANJE VLAGE U UZORCIMA.....	30
3.4.	STATISTIČKA OBRADA PODATAKA .....	30
4.	REZULTATI I RASPRAVA.....	31
4.1.	UDIO VODE U ISPITIVANIM UZORCIMA .....	31
4.2.	UDIO PRIRODNOG INVERTA U ISPITIVANIM UZORCIMA.....	32
4.3.	UDIO UKUPNOG INVERTA U ISPITIVANIM UZORCIMA .....	34
4.4.	UDIO SAHAROZE U ANALIZIRANIM UZORCIMA .....	36
4.5.	UDIO GLUKOZE U ISPITIVANIM UZORCIMA.....	38
4.6.	UDIO FRUKTOZE U ISPITIVANIM UZORCIMA.....	40
4.7.	UGLJIKOHIDRATNI SASTAV DALMATINSKOG ROGAČA .....	42
4.8.	USPOREDBA REZULTATA S PREPORUČENIM DNEVNIM UNOSOM UGLJIKOHIDRATA.....	43
5.	ZAKLJUČAK.....	45
6.	LITERATURA .....	46
7.	SAŽETAK / SUMMARY .....	50

# 1. UVOD

## 1.1. MAKRONUTRIJENTI I PRAVILNA PREHRANA

Uravnotežena i raznolika prehrana, koja osigurava nutrijente potrebne za ljudski organizam, ključna je za očuvanje dobrog zdravlja odraslih osoba i neophodna za pravilni rast i razvoj djece i adolescenata. Danas je poznato da se neadekvatna prehrana i nedovoljna tjelesna aktivnost povezuju s bolestima kao što su dijabetes tipa 2, dislipidemija, kardiovaskularne bolesti, osteoporoza, pretilost te neke vrste raka. Prehrambene smjernice preporučuju hranu koja bi trebala osigurati nutrijente važne za razvoj, pravilan rast i očuvanje organizma. Također naglašavaju da svi potrebni nutrijenti trebaju biti uneseni u organizam prvenstveno hranom, jer hrana osim što sadrži vitamine, minerale, makronutrijente, sadrži i ostale prirodne tvari koje štite organizam od raznih kroničnih bolesti (Alebić, 2008).

Nutrijenti su tvari koje organizam iskorištava iz hrane za svoj rast i metabolizam te se dijele na esencijalne i neesencijalne (Vranešić Bender i Krstev, 2008). Esencijalni su oni nutrijenti koje ljudski organizam nije sposoban sintetizirati te se moraju osigurati putem hrane. Vitamini, minerali, neke aminokiseline, masne kiseline te neki ugljikohidrati koji osiguravaju energiju su esencijalni. Nasuprot tome, neesencijalni nutrijenti, npr. masti, ugljikohidrati, proteini, su oni koje organizam može sintetizirati iz drugih sastojaka, kao i osigurati hranom (Štalić, 2008).

Nutrijenti se općenito dijele u dvije kategorije: makronutrijente i mikronutrijente. Naziv mikronutrijenti proizlazi iz činjenice da su potrebni u relativno malenim količinama (vitamini i minerali) te imaju brojne važne uloge u očuvanju zdravlja. Vitamini su organske tvari koje unosimo hranom, a djeluju kao katalizatori, odnosno supstancije koje pomažu aktivirati druge reakcije u organizmu. Minerali su anorganske tvari koje imaju važne uloge u nizu metaboličkih procesa te pridonose sintezi molekula poput glikogena, bjelančevina i masti. S druge strane, makronutrijenti čine veći dio prehrane pojedinca, svojom razgradnjom u organizmu osiguravaju energiju i esencijalne nutrijente nužne za održavanje funkcija, rast i aktivnost. U skupinu makronutrijenata pripadaju ugljikohidrati koji uključuju prehrambena vlakna, masti i masne kiseline, proteini te voda. "Prema preporukama Instituta za medicinu u Washingtonu, zdravim odraslim osobama ugljikohidrati trebaju osigurati 45-65%, masti 20-35%, a proteini 10-35% ukupne dnevne energije" (Vranešić Bender i Krstev, 2008).

## 1.2. UGLJIKOHIDRATI

Ugljikohidrati su vrlo rasprostranjena i raznolika skupina organskih spojeva koji nastaju u prirodi. Oni su široko rasprostranjeni prvenstveno u biljnim (voće, krumpir, riža, žitarice) i manje u životinjskim tkivima. Odigrali su ključnu ulogu u uspostavljanju i razvoju života na Zemlji jer su uspostavili izravnu vezu između Sunca i kemijske energije (Cui, 2005). Kod biljaka ugljikohidrati su proizvedeni u toku procesa fotosinteze i to iz ugljikova dioksida i vode te se pohranjuju kao škrob ili se iskorištavaju za sintezu celuloze koja izgrađuje biljne stanične stijenke. Životinje mogu sintetizirati ugljikohidrate iz aminokiselina, ali glavnina ih ipak potječe od biljaka (Murray i sur., 2011).

Ugljikohidrati sudjeluju u regulaciji metabolizma masti i proteina. Ako ih ima dovoljno da zadovolje energetske potrebe organizma, proteini i masti se neće trošiti za proizvodnju energije, nego će biti iskorišteni za izgradnju tkiva ili pohranjeni kao rezerve energije (Warlaw i Smith, 2009). Ugljikohidrati su najvažniji izvor energije od svih prehrambenih tvari koje svakodnevno unosimo u organizam. Jedan gram ugljikohidrata izgaranjem daje, poput proteina, približno 4 kcal (Vranešić Bender i Krstev, 2008).

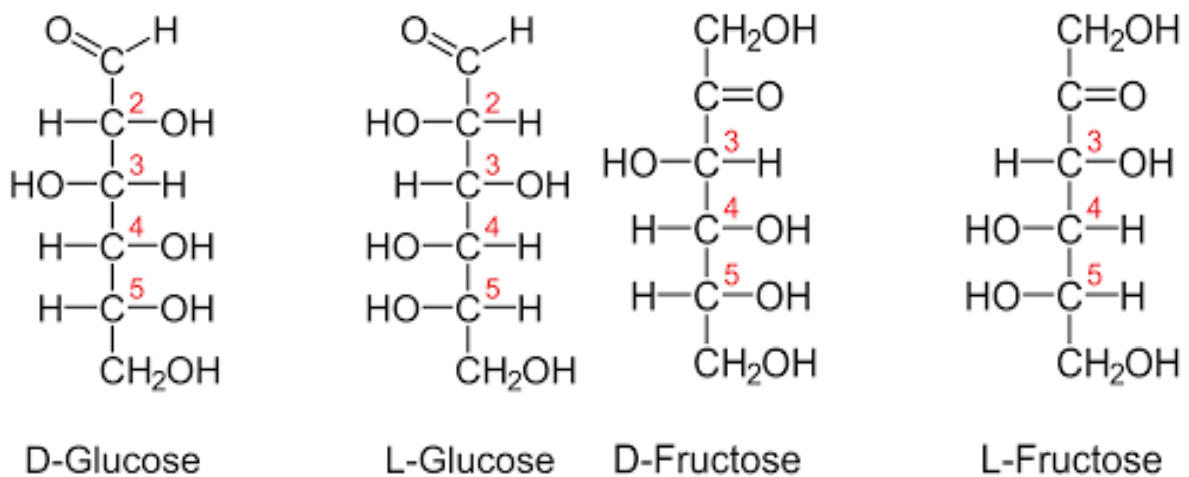
### Kemijske osobine ugljikohidrata

Prvi istraživani ugljikohidrati sadržavali su samo ugljik, vodik i kisik s omjerom H:O 2:1 isto kao i u vodi pa im otuda i potječe ime ugljikohidrati ili hidrati ugljika (Cui, 2005). To su polihidroksi-aldehidi i ketoni, a opća im je formula  $C_n(H_2O)_n$ . Dije se na jednostavne ugljikohidrate odnosno monosaharide (npr. glukoza, fruktoza, galaktoza) koji se sastoje od samo jedne molekule i ne mogu se cijepati u manje jedinice, te složene ugljikohidrate odnosno disaharide (npr. saharoza, laktoza, maltoza) i polisaharide (npr. škrob, celuloza, glikogen, inulin) koji se sastoje od više međusobno povezanih jednostavnih ugljikohidrata (Štraus, 1991).

#### 1.2.1. MONOSAHARIDI

Monosaharidi su oni ugljikohidrati koji se ne mogu hidrolizirati u jednostavnije ugljikohidrate. To su aldehidi ili ketoni s dvije ili više hidroksilnih skupina. Njihova empirijska formula je  $(CH_2O)_n$ . Dije se na temelju broja ugljikovih atoma na trioze, tetraze, pentoze, heksoze, heptoze te na aldoze ili ketoze ovisno imaju li aldehidnu ili ketonsku skupinu (Murray i sur., 2011). Najjednostavniji monosaharidi ( $n=3$ ) jesu gliceraldehid i

dihidroksiaceton. Monosaharidi dolaze u dvama izomernim oblicima (L i D), a u organizmu se nalaze većinom monosaharidi D-reda. Oni koji imaju OH skupinu do zadnjeg C atoma s desne strane su D-izomeri, a oni kojima je OH skupina do zadnjeg C atoma s lijeve strane su L-izomeri (Štraus, 2011). Dvije česte heksoze su D- glukoza i D- fruktoza koje su prikazane na slici 1.



Slika1. D i L izomeri glukoze i fruktoze

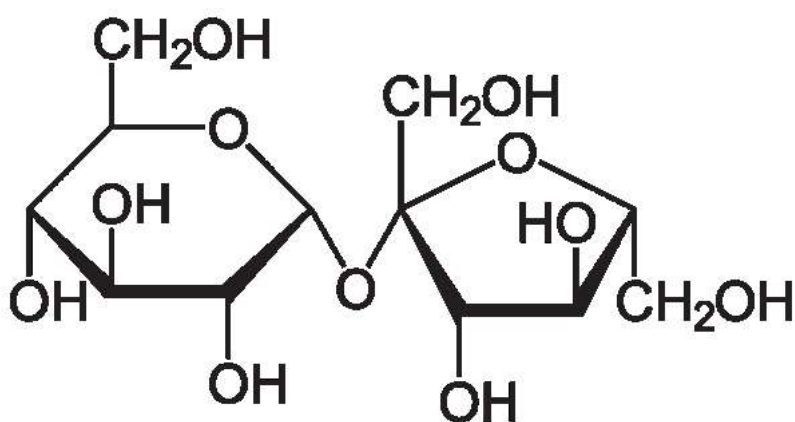
Karakteristično svojstvo monosaharida je sposobnost redukcije, a uvjetovano je poluacetalnom hidroksilnom skupinom na položaju C-1 kod aldoza, odnosno keto skupinom na C-2 kod ketoza. S obzirom da su kod monosaharida sve poluacetalne hidroksilne skupine slobodne oni pokazuju jaku reduktivnu sposobnost (Šebečić i Vedrina Dragojević, 2007). U hrani od monosaharida nalazimo uglavnom glukoza koja se nalazi prvenstveno u kukuruzu i drugom povrću te fruktozu koja se nalazi u medu, raznom voću, voćnim proizvodima, a naziva se još i voćni šećer ( Vranešić Bender i Krstev, 2008).

Glukoza je najvažniji ugljikohidrat. Ona je glavno metaboličko gorivo u sisavaca i univerzalno gorivo za fetus. Preteča je za sintezu svih drugih ugljikohidrata u tijelu, uključujući i glikogen, ribozu i deoksiribozu u nukleinskim kiselinama, galaktozu i laktozu te je bitna za sintezu glikolipida i glikoproteina (Murray et al., 2011). Glukoza je i glavni monosaharid u našoj krvi i njena koncentracija uvijek mora biti unutar određenih granica (3,5– 5,5 mmol/l) kako bi sva tkiva imala dovoljan izvor hrane i energije. Neki organi, poput mozga, gotovo isključivo ovise o glukozi kao metaboličkom gorivu. Razina glukoze u krvi se regulira hormonima, inzulinom koji snižava njenu razinu u krvi, i glukagonom koji je povećava (Cui, 2005).



### 1.2.2. DISAHARIDI

Disaharidi su ugljikohidrati sastavljeni od dvaju ostataka monosaharida povezanih glikozidnom vezom. Aldehydna ili ketonska skupina jednog monosaharida se veže s aldehydnom, ketonskom ili hidroksilnom skupinom drugog monosaharida. Fiziološki značajni disaharidi su maltoza, saharoza i laktoza. Vezanjem aldehydne skupine glukoze s keto skupinom fruktoze nastaje saharoza čija je struktura prikazana na slici 2. Laktoza nastaje povezivanjem alkoholne skupine glukoze i aldehydne skupine galaktoze, dok maltozu čini glikozidna veza između aldehydne skupine glukoze i alkoholne skupine maltoze (Štraus, 1991).



Slika 2. Strukturni prikaz saharoze

Reducirajuća svojstva disaharida ovise o broju slobodnih aldehydnih ili ketonskih skupina. Laktoza i maltoza sadržavaju po jednu slobodnu aldehydnu skupinu pa one još uvijek zadržavaju sposobnost redukcije, iako puno manje od odgovarajućih monosaharida. Saharozu, za razliku od laktoze i maltoze, ima vezane obje reducirajuće skupine, aldehydnu glukoze i ketonsku fruktoze, pa nema sposobnost reduciranja (Štraus, 1991).

### 1.2.3. OLIGOSAHARIDI

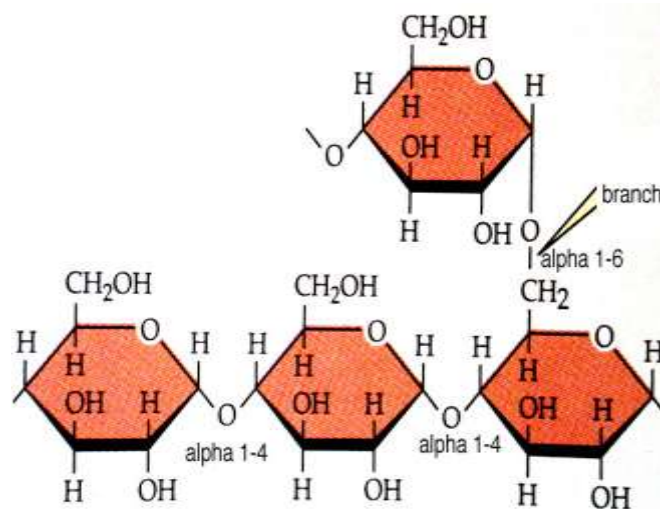
Oligosaharidi se sastoje od 2-10 monosaharidnih jedinica kovalentno povezanih glikozidnom vezom. Njihova zajednička svojstva su relativno dobra topljivost u vodi, a time i dobra probavljivost te slatkoća. Najvažniji su rafinoza koja se sastoji od glukoze, fruktoze i galaktoze te melizitoze koja se sastoji od jedne jedinice fruktoze i dvije jedinice glukoze. Ostali važni oligosaharidi pronađeni u hrani su dekstrini ili hidrolizati škroba (Warlaw i Smith, 2009).

#### 1.2.4. POLISAHARIDI

Polisaharidi nastaju međusobnim povezivanjem većeg broja monosaharida. U polisaharide spadaju rezervni ugljikohidrat biljaka škrob i rezervni ugljikohidrat životinja glikogen, celuloza kao gradivna struktura biljaka te polifruktozan inulin. Škrob, celuloza i inulin pripadaju posebnoj skupini ugljikohidrata koji se nazivaju prehrambena vlakna. Njima se pripisuju različite funkcije korisne za zdravlje, uključujući bolju peristaltiku crijeva te niže koncentracije glukoze i kolesterola ( Vranešić Bender i Krstev, 2008).

#### Škrob

Glavni oblik pohranjenih ugljikohidrata u biljaka je škrob, homopolimer glukoze koji se sastoji od alfa glukozidnog lanca koji se naziva glukozan ili glukan. Sastoji se od amiloze (13-20%) koja ima nerazgranatu strukturu, a formira heliks zbog kutova veza među jedinicama glukoze te od amilopektina (80-85%) koji čini razgranati lanci sastavljeni od 24-30 ostataka glukoze. Slika 3 prikazuje da su molekule glukoze unutar lanca povezane  $\alpha$ 1-4 glikozidnim vezama, a na mjestima granjanja su prisutne  $\alpha$ 1-6 veze ( Murray i sur., 2011).



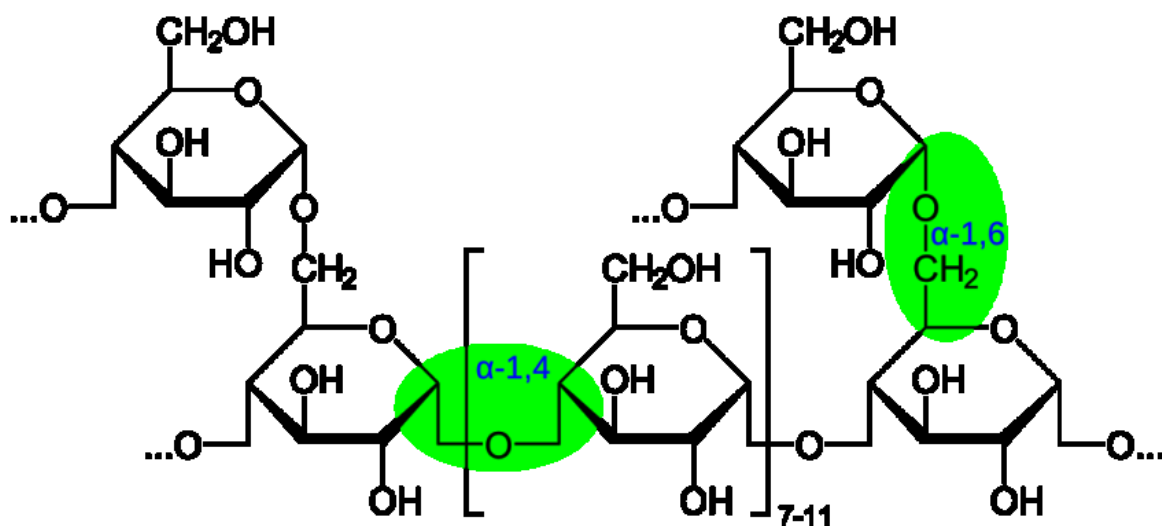
Slika 3. Strukturni prikaz škroba

Škrob se u hrani dijeli na brzo i sporo probavljivi te rezistentni škrob. Brzo probavljivi škrob svojom razgradnjom daje u kratkom vremenu velike količine glukoze. Nasuprot tome, sporo probavljivi škrob odgađa proces razgradnje, pa glukozu oslobođenu iz ove vrste škroba nazivamo sporo dostupna glukoza ( K. Englyst i sur. 1999). Rezistentni škrob se sastoji od škroba i razgradnih produkata škroba koji su neprobavljivi u tankom crijevu. On nije podložan razgradnji amilazama tankog crijeva, ali se razgrađuje amilazama mikroflora debelog crijeva čime se svrstava u prehrambena vlakna (Šebečić i Vedrina Dragojević, 2007).

## Glikogen

Glikogen je polisaharid glukoze koji u životinjskim stanicama služi kao rezerva ugljikohidrata. Glikogen primarno nastaje u stanicama jetre i mišića, ali je lokaliziran i u bubrezima. Molekula jetrenog glikogena (5000 kDa) je veća od molekule mišićnog glikogena (1000 kDa). Slika 4 prikazuje molekulu glikogena koja je eliptičnog oblika, s obzirom da na svakih 10-14 ostataka glukoze vezane u lanac 1,4 vezama dolazi do grananja lanca tako da se glukoza glikozidno veže između C1 i C6-atoma (Štraus, 1991).

U mišićnim stanicama glikogen ima ulogu izravnog izvora glukoze. Stanice mišića nemaju enzim glukoza-6-fosfataza, što znači da se stvorena glukoza ne može otpustiti u krvotok nego se koristi samo unutar stanice (Stryer, 1991).



Slika 4. Strukturni prikaz glikogena

## Celuloza

Celuloza je vlaknasta, tvrda tvar netopljiva u vodi, koja se nalazi u stabljici, deblu i svim drvenastim dijelovima biljaka. Celuloza je primarna gradivna komponenta staničnih membrana, građena je od glukoznih jedinica, a po kemijskom sastavu je poliglukan. Molekule glukoze su vezane  $\beta$ -1,4 glikozidnim vezama, a  $\beta$ -glikozidni lanci su postavljeni paralelno jedan prema drugome te su međusobno unakrsno povezani vodikovim vezama, što učvršćuje strukturu (Murray et al., 2011). Lanac celuloze ima oko 8000-12000 glukoznih jedinica, a molekularna masa mu je oko 2000000 te ima micelarnu strukturu. Sisavci ne mogu probavljati celulozu, jer nemaju enzime za cijepanje  $\beta$ -1,4 glikozidnih veza u polisaharidima (O'Sullivan, 1997).

## **Inulin**

Inulin je polifruktozan, relativno male molekulske mase, građen od furanoznih jedinica D-fruktoze povezanih  $\beta$ -1,2-vezom i glukoznog ostatka na kraju linearnog lanca. Inulin je neprobavljiv u tankom crijevu, ali je podložan razgradnji bakterijama u debelom crijevu te pripada skupini prehrambenih vlakna (Šebečić i Vedrina Dragojević, 2007). Iz organizma se izlučuje isključivo bubregom, glomerularnom filtracijom, pa se pomoću klirensa inulina određuje stupanj bubrežne funkcije (Štraus, 1991).

## **1.3. METABOLIZAM UGLJIKOHIDRATA**

Ugljikohidrati se razgrađuju do monomerne jedinice glukoze, a zatim do acetil CoA koji ulazi u ciklus limunske kiseline te se na taj način dobiva metabolička energija. Metabolizam ugljikohidrata započinje glikolizom, odnosno slijedom reakcija u kojima glukoza prelazi u piruvat uz istodobno stvaranje ATP-a. Uloga glikolize, osim razgradnje glukoze za stvaranje ATP-a, je također i osiguravanje građevnih elemenata za sintezu staničnih sastojaka. Intermedijeri u glikolizi imaju 6 C (glukoza, fruktoza) ili 3 C atoma (dihidroxiaceton, glicerat piruvat, gliceraldehid). Svi glikozidni intermedijari između glukoze i piruvata su fosforilirani, a fosforilne skupine su vezane esterskom ili anhidridnom vezom.

U aerobnim uvjetima nakon glikolize slijedi ciklus limunske kiseline i lanac prijenosa elektrona koji zajedno iscrpe najveći dio energije sadržan u glukozi. U prisutstvu kisika piruvat ulazi u mitohondrije gdje se potpuno oksidira u  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$ . Ako nema dovoljno kisika kao u mišiću koji se aktivno steže, piruvat prelazi u laktat (Stryer, 1991).

## **1.4. PROBAVLJIVOST UGLJIKOHIDRATA**

Prema probavljivosti ugljikohidrate dijelimo na probavljive, npr škrob, koji se u tijelu hidroliziraju na monosaharide glukoze, fruktoze ili galaktoze te neprobavljive ugljikohidrate, odnosno prehrambena vlakna (Jeličić i Lisak, 2012).

### **Prehrambena vlakna**

Thebaudin (Thebaudin i sur., 1997) definira prehrambena vlakna kao „oligosaharide, polisaharide i hidrofилne derivate koje probavni enzimi humanog probavnog sustava ne mogu razgraditi na sastojke koji se mogu apsorbirati u gornjem probavnom traktu“, te u ovu

definicija uključuje i lignine. S druge strane, anaerobne bakterije nastanjene u debelom crijevu razgrađuju prehrambena vlakna svojim metaboličkim putovima.

Pod prehrambenim vlaknima se uobičajeno podrazumijevaju sastojci koji potječu uglavnom iz staničnih stijenki biljnih stanica (celuloza, hemiceluloza, lignin, pektin), ali obuhvaćaju i polisaharide poput sluzi, guma i polisaharida podrijetlom od morskih plodova i bakterija (Jeličić i Lisjak, 2012).

Fermentacija u debelom crijevu je učinkovit probavni proces u kojem se neprobavljivi ili slabo probavljivi nutrijenti poput alkoholnih šećera i fruktana gotovo potpuno razgrađuju (Jeličić i Lisak, 2012). Prehrambena vlakna koja podliježu fermentaciji ulaze u debelo crijevo neprobavljiva, a tamo ih autohtona mikroflora razgrađuje do piruvata koji se kasnije prevodi u kratkolančane masne kiseline (acetati, butirati i propionati) i plinove kao što su vodik, ugljikov dioksid, metan (Crittenden i sur., 2002).

Prehrambena vlakna imaju čitav niz pozitivnih učinaka na zdravlje čovjeka. Ona snizuju razinu ukupnog kolesterola u krvi te koncentraciju „lošeg“ LDL-kolesterola, štite od kardiovaskularnih bolesti srca, pomažu u kontroli razine glukoze u krvi jer usporavaju njezinu apsorpciju. Također reguliraju tjelesnu masu s obzirom da povećanjem volumena u želucu daju osjećaj sitosti. Prehrambena vlakna pospješuju funkciju gastrointestinalnog sustava i normaliziraju probavu tako što povećavaju volumen fecesa i omekšavaju ga, čime se smanjuje pojava konstipacije (Vranešić Bender i Krstev, 2008).

Neka istraživanja su pokazala da visok unos vlakana dovodi do povećanja izlučivanja estrogena putem fecesa te se ova činjenica povezuje s protektivnim učinkom prehrambenih vlakna na pojavu raka dojke (Lambo i sur., 2005).

Smanjena razina kratkolančanih masnih kiselina povećava mogućnost razvoja patoloških procesa kao što su oštećenja crijevne sluznice, kolitis, pa čak i rak debelog crijeva. Stoga su kratkolančane masne kiseline, nastale kao produkti fermentacije u debelom crijevu, zaslužne za povoljno djelovanje prehrambenih vlakna na smanjenje učestalosti raka crijeva (Crittenden i sur., 2002).

Prehrambena vlakna spadaju u kategoriju prebiotika koji selektivno potiču rast bifidobakterija i laktobacila u kolonu čovjeka. Povoljno djelovanje bifidobakterija uključuje inhibiciju rasta patogenih bakterija, stimulaciju komponenata imunskog sustava te pomoć u apsorpciji određenih iona, posebice kalcija (Crittenden i sur., 2002).

Za odrasle osobe preporučeni dnevni unos prehrambenih vlakna kreće se između 20 – 35 grama, odnosno 10 -13 g/ 1000 unesenih kcal. Preporučeni unos prehrambenih vlakana za djecu i adolescente iznosi količinu koja je u gramima jednaka broju njihovih godina uvećanoj

za 5 i ta preporuka se nastavlja dok se ne postigne dnevni unos od 25 - 35 g dnevno (Vranešić i Alebić, 2006).

Prehrambenim vlaknima su bogate cjelovite žitarice, povrće, voće i orašasti plodovi, a količina i vrsta prehrambenih vlakna varira od namirnice do namirnice. Žitarice su glavni izvor prehrambenih vlakna i predstavljaju 50 % ukupnog unosa u zapadnim zemljama (Vranešić i Alebić, 2006).

## **1.5. GLIKEMIJSKI INDEKS (GI)**

Praćenje razine glukoze u krvi važno je zbog načina na koji glukoza djeluje u organizmu, a posebno je važno kod osoba koje boluju od dijabetesa (Jenkins i sur., 2002). Dijabetes je poremećaj metabolizma karakteriziran kroničnom hiperglikemijom (povišenom razinom glukoze u krvi) zbog poremećaja izlučivanja inzulina, djelovanja inzulina ili oboje. Pri liječenju, prepoznavanje ranih simptoma hiperglikemije može odigrati ključnu ulogu, a neki od najčešćih ranih simptoma hiperglikemije su učestalo mokrenje, povećana žeđ, zamagljen vid, umor i glavobolja. Ako se hiperglikemija ne liječi, ona može uzrokovati povećanje koncentracije otrovnih kiselina (ketona) u krvi i urinu (ketoacidoza). Znakovi i simptomi teže hiperglikemije su voćni zadah, mučnina i povraćanje, plitko disanje, suha usta, zbunjenost, koma te bolovi u truhu. Također, osim hiperglikemije, dijabetičari su skloni i hipoglikemiji. Ona se najčešće javlja kao posljedica uzimanja inzulina ili drugih lijekova (sulfonilureja) za snižavanje koncentracije glukoze u krvi. Ako je doza lijeka previsoka za količinu unesenih ugljikohidrata, lijek može previše sniziti koncentraciju glukoze u krvi. Teža hipoglikemija smanjuje opskrbu mozga glukozom uzrokujući vrtoglavicu, zbunjenost, umor, slabost, glavobolje, nemogućnost koncentracije, nenormalnosti vida, napade i komu. Produljena hipoglikemija može trajno oštetiti mozak. Komplikacije šećerne bolesti uključuju mikrovaskularne (npr, retinopatija, neuropatija, nefropatija) i makrovaskularne (koronarne arterijske te cerebrovaskularne bolesti, gastrointestinalni problemi, erektilna disfunkcija, infekcija itd.) Danas je dijabetes vodeći uzrok neutraumatske amputacije donjih ekstremiteta, glavni je uzrok sljepoće u odraslih, a dijabetička nefropatija je vodeći uzrok renalnih bolesti (Klein R, 1995).

Glikemijski indeks je mjera probavljivosti ugljikohidratne hrane, a temelji se na određivanju koliko pojedina namirnica povećava koncentraciju glukoze u krvi u usporedbi s

kontrolnom namirnicom poput bijelog kruha ili ekvivalentnom količinom glukoze koja se boduju sa 100 (Jenkins i sur., 2002).

### **1.5.1. NAMIRNICE VISOKOG I NISKOGE GI**

Vrijednosti glikemijskog indeksa nisu izravan odraz količine ugljikohidrata prisutne u hrani, pa tako namirnica s niskim sadržajem ugljikohidrata može imati visoki GI. Hrana visokog glikemijskog indeksa brzo se razgrađuje do glukoze i apsorbira, a time se i brzo povećava razina glukoze u krvi te lučenje inzulina iz gušterače. S druge strane, hranu niskog GI karakterizira spora razgradnja i manje povećanje razine glukoze i inzulina u krvi. Slika 5 prikazuje da su zeleno povrće i nekonzervirano voće te hrana bogata proteinima primjeri hrane niskog GI-a, dok slatkiši, rafinirane žitarice te voćni sokovi imaju visoki GI. Preporučuje se izbjegavanje hrane visokog glikemijskog indeksa osobito kod osoba s kroničnim bolestima kao npr. dijabetes, srčane bolesti, povišena razina kolesterola, inzulinska rezistencija (Štimac i Turk, 2008).

### **1.5.2. GLIKEMIJSKO OPTEREĆENJE**

Povećanje razine glukoze u krvi nije određeno samo glikemijskim indeksom, već i količinom te kvalitetom i kvantitetom ugljikohidrata u pojedinoj namirnici. Glikemijsko opterećenje je produkt glikemijskog indeksa i sadržaja ugljikohidrata, a vrijednosti glikemijskog opterećenja pojedine namirnice su važne u samokontroli dijabetesa, što naročito vrijedi za namirnice sa niskim udjelom ugljikohidrata kada vrijednosti GI ne daju dobru pretpostavku o razini glukoze u organizmu nakon konzumacije (Prašek, 2004).

### **1.5.3. ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA GLIKEMIJSKI INDEKS**

Glikemijski indeks ovisi o strukturi i tipu škrobnih granula koji se razgrađuju, prisutstvu drugih makronutrijenata (masti, proteina) i prehrambenih vlakana, stupnju zrelosti voća i povrća te prethodnoj obradi hrane. Škrob stvara komplekse s mastima pa visok unos masti može utjecati na smanjenje GI-a. Također, u mahunarkama i cjelovitim žitaricama su škrobna zrnca obavijena prehrambenim vlaknima koja usporavaju oslobađanje te apsorpciju glukoze, te posljedično snizuju glikemijski indeks namirnica (K Englyst i sur., 2003). Primjer za navedenu tvrdnju je rogač, mahunarka koja iako sadrži visok postotak ugljikohidrata, zbog prisutnosti velikih količina tanina i prehrambenih vlakna ima niski glikemijski indeks (15-30) ( Milek dos Santos i sur., 2015).

Hrana	Količina	Glikemijski Indeks (bijeli kruh=100)	Ugljikohidrati u g	Glikemijsko opterećenje u g
Bijela riža	1 šalica	125	53	67
Pečeni krumpir	1	121	51	61
Kukuruzne pahuljice	1 šalica	119	24	29
Med	1 žličica	104	17	18
Lubenica	1 kriška	102	17	17
Mrkva	½ šalice	101	8	8
Bijeli kruh	1 kriška	101	12	12
Sok od naranče	1 šalica	81	20	16
Banana	1	75	27	20
Tjestenina	1 šalica	58	40	23
Mlijeko	1 šalica	38	12	5
Grejp	1/2	36	10	2
Višnje	1 šalica	31	24	7

*1 šalica = 225 mL*

Slika 5. Glikemijsko opterećenje i glikemijski indeks često upotrebljivanih namirnica (Prašek 2004).

## 1.6. METODE ODREĐIVANJA UGLJIKOHIDRATA

Razvijene su mnoge tehnike kojima se može odrediti ukupna koncentracija i koncentracija pojedinih ugljikohidrata u hrani. Udio ugljikohidrata u hrani može se odrediti direktnom analizom pojedinih ugljikohidrata ili izračunavanjem iz razlike gdje se ukupni ugljikohidrati odrede tako da se zbroj masa ostalih komponenata u namirnici, izražen u g/100g i određen prikladnim metodama, odbije od 100 (Šebečić i Vedrina Dragojević, 2007).

S obzirom da se metodom izračunavanja iz razlike dobije samo orijentacijska vrijednost, ova metoda nije preporučljiva jer može dovesti do pogrešnih rezultata zbog eksperimentalnih pogreški u svakoj od drugih metoda, pa se točniji rezultati postižu direktnom analizom pojedinih ugljikohidrata. Postoje brojne metode za njihovo određivanje kao što su kromatografija, enzimske metode, spektrometrija, amperometrija, polarimetrija, kapilarna elektroforeza te mnoge druge metode ([www.it.umass.edu](http://www.it.umass.edu)).



### 1.6.1. KROMATOGRAFSKO ODREĐIVANJE UGLJIKOHIDRATA

Kromatografske metode su najmoćnije analitičke tehnike za analizu vrste i koncentracije monosaharida i oligosaharida u hrani. Tankoslojna kromatografija (TLC), plinska kromatografija (GC) i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) uobičajeno se koriste za identifikaciju i odvajanje ugljikohidrata. Ugljikohidrati se razdvajaju na temelju njihovih različitih karakteristika adsorpcije, propuštanjem otopine koja se analizira kroz kolonu. Ugljikohidrati se mogu razdvojiti na osnovu njihovih koeficijenata raspodjele, polarnosti ili veličine, ovisno o vrsti korištene kolone ([www.it.umass.edu](http://www.it.umass.edu)).

HPLC je trenutno najvažnija kromatografska metoda za analizu ugljikohidrata čije su prednosti brzina, specifičnost, osjetljivost, preciznost i točnost. Ona je metoda izbora za analizu mono i oligosaharida te za određivanje polisaharida nakon hidrolize. Ovisno o primijenjenoj pokretnoj i nepokretnoj fazi razlikuje se više tipova HPLC-a (Trajković i sur., 1983).

U kromatografiji normalnih faza nepokretna faza je polarna, a eluiranje se postiže primjenom pokretne faze veće polarnosti. Nasuprot tome, u kromatografiji obrnutih faza nepokretna faza je hidrofobna, a pokretna uglavnom voda (Šebečić i Vedrina Dragojević, 2007).

Anion-izmjenjivačka kromatografija koristi se za određivanje smjesa složenih oligosaharida u namirnicama. Ugljikohidrati su vrlo slabe kiseline jer imaju  $pK_a$  u području pH 12-14 te u otopinama s visokim pH vrijednostima hidroksilne skupine ugljikohidrata ioniziraju. Upravo ovo svojstvo ionizacije omogućuje odvajanje šećera na anion izmjenjivačkim smolama. Prvo eluiraju šećerni alkoholi i monosaharidi, a zadnji viši oligosaharidi (Trajković i sur., 1983).

U kation-izmjenjivačkoj kromatografiji pokretna faza je voda s različitim udjelom organskog otapala, a nepokretna faza mikročestice sulfonskih smola na koje se pri povišenoj temperaturi nanese različiti metalni protuioni ( $Ca^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Ag^+$ ). Redoslijed eluiranja ugljikohidrata prati smanjivanje molekulske mase tako da oligosaharidi eluiraju prvi, a monosaharidi i šećerni alkoholi zadnji (Šebečić i Vedrina Dragojević, 2007).

Dok je u HPLC-u uzorak često izravno analiziran, kod plinske kromatografije je uzorke potrebno prevesti u hlapljive derivate, odnosno derivatizirati ih, jer su ugljikohidrati nehlapljivi. Identifikacija šećera vrši se na temelju vremena zadržavanja u odnosu na inozitol-heksaacetat kao unutarnji standard (Šebečić i Vedrina Dragojević, 2007). HPLC i GC se obično koriste u kombinaciji s NMR-om i spektrometrom mase, tako da se kemijske strukture molekula lako mogu identificirati ([www.it.umass.edu](http://www.it.umass.edu)).

Ugljikohidrati se također mogu razdvojiti pomoću elektroforeze, nakon što su derivatizirani kako bi bili električki nabijeni, primjerice, reakcijom s boratom. Otopina derivatiziranih ugljikohidrata nanosi se na gel i zatim se preko njega provodi napon. Ugljikohidrati se razdvajaju na temelju njihove veličine po principu da se manje molekule ugljikohidrata brže kreću u električnom polju ([www.it.umass.edu](http://www.it.umass.edu)).

### **1.6.2. KOMPLEKSOMETRIJSKO ODREĐIVANJE UGLJIKOHIDRATA**

Reducirajući šećeri reduciraju bakar ( $\text{Cu}^{2+}$ ) iz alkalnog medija pri čemu nastaje odgovarajuća količina bakar (I) oksida. Istaloženi  $\text{Cu}_2\text{O}$  se otopi u dušičnoj kiselini, a ioni bakra se određuju titracijom s kompleksom III. Kao indikator se koristi mureksid koji s ionima bakra gradi nestabilni kompleks plave boje. Tijekom titracije s kompleksom III, kompleksom reagira najprije sa slobodnim  $\text{Cu}^+$  ionima, a kad se oni utroše sa ionima bakra vezanim za mureksid. Kraj titracije označava plavo ljubičasta boja zbog oslobodjenja indikatora u trenutku kada su svi ioni bakra vezani u stabilni kompleks s kompleksom III (Trajković i sur. 1983).

### **1.6.3. SPEKTROFOTOMETRIJSKE METODE**

Spektrofotometrijske metode određivanja šećera se dijele na tri skupine:

U prvu skupinu spadaju metode koje se temelje na činjenici da se stvoreni  $\text{Cu}_2\text{O}$  u reakciji sa šećerom prevodi u obojeni kompleks ( npr. u bakrov tetraminski kompleks) ili se višak bakar-reagensa određuje fotometrijski.

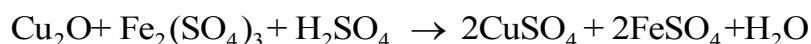
Drugu skupinu metoda karakterizira svojstvo bakrovih (I) iona da reduciraju molibdat u molibdensko modrilo ili da reduciraju odgovarajući organski nitro-spoj u obojeni produkt, čiji se intenzitet obojenja određuje fotometrijski.

Metoda s antronom i sumpornom kiselinom za određivanje heksoza u prisutnosti pentoza, metoda s hidrazinom p-hidroksibenzojeve kiseline za određivanje glukoze, fruktoze i saharoze te metoda sa palidijevim (II) kloridom u lužnatoj otopini, kao i druge metode gdje nastaju obojeni produkti spadaju u treću skupinu spektrofotometrijskih metoda (Trajković i sur. 1983).

#### 1.6.4. VOLUMETRIJSKO-TALOŽNE METODE

##### Metoda po Bertrandu

Direktno reducirajući šećeri fruktoza i glukoza pod određenim uvjetima reduciraju  $\text{Cu}^{2+}$  iz kompleksa u Fehling-ovoj otopini u  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Istaloženi bakrov (I) oksid otapa se u Fe (III) sulfatu ili Fe (III) amonijevom sulfatu u kiselom mediju. Nastala ekvivalentna količina fero-soli odredi se manganometrijski:



Na temelju utroška kalijevog permanganata izračuna se ekvivalentna količina bakra, a iz empirijskih tablica po Bertrandu odgovarajuća količina pojedinih šećera (Kolusheva i Marinova, 2011).

##### Metoda po Luff-Schoorlu

Metoda se temelji na redukciji bakra iz lužnate otopine  $\text{Cu}^{2+}$  kompleksa. S Luffovim reagensom reagiraju aldoze i ketoze, ne reagiraju aldehidi te je metoda vrlo specifična (Trajković i sur. 1983).

#### 1.6.5. POLARIMetriJA

Šećeri u otopini su molekule koje sadrže asimetrični ugljikov atom te imaju sposobnost rotacije ravnine polariziranog svjetla desno ili lijevo. Polarimetar je uređaj koji mjeri kut rotacije ravnine polariziranog svjetlosti pri prolazu kroz otopinu. Mjera za optičku aktivnost je „specifični kut rotacije“ koji predstavlja kut skretanja polarizirane svjetlosti u otopini koja sadrži 1 g otopljene tvari u 1 ml, u cijevi duljine 1 dm. Opseg polarizacije odnosi se na koncentraciju optički aktivnih molekula u otopini pomoću jednadžbe  $\alpha = [\alpha]_D \times l \times c$  gdje je  $\alpha$  izmjereni kut rotacije,  $[\alpha]_D$  je specifični kut rotacije (što je konstantna za svaki tip molekule),  $l$  je dužina cijevi,  $c$  je koncentracija. Ukupni kut rotacije ovisi o temperaturi i valnoj duljini svjetlosti. Koncentracija ugljikohidrata u nepoznatom uzorku može se zatim

odrediti mjerenjem zakretnog kuta i usporedbom s kalibracijskom krivuljom ([www.it.umass.edu](http://www.it.umass.edu)).

Kod polarimetrijskog određivanja je bitna odvaga uzorka jer je najpogodnija koncentracija šećera u otopini za ovakav tip analize 10 %. Polarimetrija se u praksi koristi za određivanje saharoze u čokoladama, sirupima, te za određivanje topivog škroba u žitaricama (Trajković i sur. 1983).

#### **1.6.6. GRAVIMETRIJA**

Ova metoda se temelji na filtraciji dobivenog taloga  $\text{Cu}_2\text{O}$ , nakon čega se filtrirani talog ispere vodom pa etanolom i eterom da se ukloni voda. Potom slijedi sušenje do konstantne mase nakon čega se smjesa hladi i važe. Iz količine  $\text{Cu}^{2+}$  se pomoću empirijskih tablica očita odgovarajuća količina šećera (Šebečić i Vedrina Dragojević, 2007).

#### **1.6.7. ENZIMSKE METODE ZA ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE GLUKOZE**

Određivanje koncentracije glukoze dugo vremena nije bilo zadovoljavajuće, jer metode nisu bile specifične za glukozu budući da su se temeljile na reduktivnim svojstvima šećera koje posjeduju ne samo glukozu, već i drugi šećeri (npr. fruktoza ili galaktoza). Ti su šećeri zajedno s ostalim reduktivnim tvarima reagirali s glukozom i povisivali rezultate. Uvođenjem enzimskih metoda, povećala se specifičnost te se određivanje koncentracije glukoze poboljšalo. Danas postoje tri vrste enzimskih metoda: metoda s glukozom oksidazom, metoda s heksokinazom te s glukozom dehidrogenazom.

Metoda s glukozom oksidazom se temelji na oksidaciji glukoze s glukozom oksidazom u glukonsku kiselinu uz nastajanje  $\text{H}_2\text{O}_2$ , koji uz peroksidazu oksidira bezbojni kromogen u obojeni spoj. Ovom metodom se može glukozu određivati u krvi, plazmi ili serumu. Oksidacija glukoze se može pratiti fotometrijski ili mjerenjem utrošenog kisika za oksidaciju pomoću specifične elektrode za kisik (Štraus, 1991).

Princip metode s heksokinazom je fosforilacija glukoze pomoću ATP-a, a nakon toga oksidacija nastalog glukozom-6-fosfata pomoću glukozom-6-fosfat-dehidrogenaze uz nastajanje  $\text{NADPH}_2$  koji se mjeri. Ova metoda je strogo specifična i to zbog drugog koraka gdje glukozom-6-fosfat-dehidrogenaza oksidira samo glukozom-6-fosfat, a ne i ostale fosforne estere

fruktoze ili manoze. Budući da je ova metoda osjetljiva, točna, brza i specifična, uzima se kao referentna metoda za određivanje koncentracije glukoze.

Metoda s glukoza-dehidrogenazom je također specifična jer enzim katalizira samo prijelaz  $\beta$ -D-glukoze u lakton. Enzim mutarotaza prvo izomerizira  $\alpha$ -D-glukoze u  $\beta$ -D-glukoze, a ona pod djelovanjem glukoza-dehidrogenaze u prisutnosti  $\text{NAD}^+$  prelazi u D-glukono- $\delta$ -lakton, pri čemu iz  $\text{NAD}^+$  nastaje  $\text{NADH}_2$ , koji se mjeri na 339, 334 odnosno 365 nm (Štraus, 1991).

### 1.6.8. BIOKEMIJSKE METODE

Mikrobiološke metode se temelje na fermentativnim sposobnostima ugljikohidrata, tako npr. pomoću pekarskog kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*) fermentiraju glukoza i fruktoza, a nakon hidrolize maltoza i saharoza, dok pentoze i laktoza ne fermentiraju. Stoga se navedene metode koriste za odvajanje pentoza od heksoza i laktoza od drugih šećera. U enzimskim metodama se koriste specifične hidrolaze koje konvertiraju oligo ili polisaharide do osnovnih jedinica, a oni se onda određuju reduktivnim metodama (Šebečić i Vedrina Dragojević, 2007).

## 1.7. PODRIJETLO I GEOGRAFSKA RAŠIRENOST ROGAČA (*Ceratonia siliqua* L.)

Rogač (*Ceratonia siliqua* L.) je samoniklo drvo ili grm iz porodice mahunarki (Fabaceae, Leguminosae; potporodica Caesalpinioideae). Battle i Tous su opisali vrste srodne vrsti *Ceratonia siliqua*. To su vrsta *Ceratonia oreoethauma* koju čine dvije podvrste koje se morfološki dosta razlikuju: *C.somalensis* iz Sjeverne Somalije i *C.oreoethauma* porijeklom iz Arabije (Oman) (Battle i Tous, 1997).

Rogač je biljka poznata od davnina u većini zemalja Sredozemlja, a raste vrlo dobro i u krajevima s temperaturnim rasponima od 30 – 45°C, te je u stanju izdržati niske temperature čak i do -6°C. S obzirom na njegov jak i duboki korijen (do 20 m), proizvodnja rogača je moguća čak i u područjima sa samo 250 mm oborina godišnje (Iipumbu, 2008). Njegovu vrijednost su prepoznali već stari Grci, koji su ga doveli iz Bliskog istoka, odakle i potječe, u Grčku i Italiju, te Arapi, koji su ga rasprostranili duž Sjeverne Afrike, Španjolske i Portugala.

U posljednje vrijeme širi se i na druga područja s klimom sličnoj mediteranskoj kao što su Kalifornija, Arizona, Meksiko, Argentina, Australija i Indija (Battle i Tous, 1997).

Najvažniji proizvođač mahune rogača je Španjolska na koju otpada 40 % cjeloukupne svjetske proizvodnje s prosječnom proizvodnjom od 150.000 TNS/godišnje (Albanell i sur., 1991). Od ostalih proizvođača se ističu Italija, Portugal, Maroko, Grčka, Cipar, te Turska s 13.500 tona godišnje što je 5 % svjetske proizvodnje (Ayaz i sur., 2009).

Popularno zvan“ kruh Svetog Ivana“, zbog vjerovanja da se njime hranio Sv. Ivan Krstitelj u divljini, plod rogača se koristi već preko 4000 godina u prehrani domaćih životinja, kao slatkiš za djecu te je bio vrlo bitan za prehranu ljudi u vrijeme gladi. Rogač ima visoku nutritivnu vrijednost, dugi rok trajanja (2,3 godine) te je relativno jeftin. Zbog visokog postotka šećera ima slatkasti okus, poput čokolade. Za razliku od kakaa ili čokolade rogač ne sadržava kofein, teobromin (stimulansi, alergeni) ni oksalatnu kiselinu koja je toksična u visokim dozama. Nadalje, rogač ne sadrži feniletilamin koji može imati nepovoljan utjecaj na razvoj migrene, porast krvnog tlaka te porast razine glukoze u krvi (Samaržija, 2013). Rogač također ima nisku razinu masnih kiselina što ga svrstava u zdravu hranu te se koristi kao zamjena za čokoladu. Drvo rogača ima dugi životni vijek te zahtijeva minimalnu pažnju pri uzgoju, a u zreloj fazi daje veliku količinu proizvoda, do 800 kg po stablu (Iipumbu, 2008).

Uzgoj rogača u našoj zemlji ograničen je na pojedine manje oaze, a najrašireniji je u području Dubrovačkog primorja, na području poluotoka Pelješca te na otocima Šipanu, Lapudu i Mljetu. Osim južne Dalmacije rogač se uzgaja i u području otoka Korčule, Lastova, Brača, Visa, Šolte i Drvenika (Strikić i sur., 2006).

Stablo rogača je vrlo razgranato, širokog debla, grube smeđe kore, a krošnja je gusta s brojnim zimzelenim i kožastim listovima. Stablo može narasti i preko 10 metara te ima dubok i jak korijen. Vrsta *Ceratonia siliqua* je trodomna biljka, postoje stabla s muškim, ženskim ili s oba cvijeta (Battle i Tous, 1997).

### **1.7.1. IZGLED I KEMIJSKI SASTAV PLODA ROGAČA**

Plod rogača je oko 20-tak cm dugačka mahuna, spužvaste konzistencije, zelene boje, a krajem ljeta nakon berbe počinje tamnjeti i postaje tamno-smeđa. Mahune rogača su duguljaste, spljoštene, ravne ili blago zakrivljene, dužine oko 10 do 20 cm i 1,5-2 cm širine (slika 6). Zrela mahuna je oporog i slatkastog okusa, jer sadrži veliku količinu šećera. Plod mahune rogača sastoji se od pulpe i 4–10 sjemenki poredanih u nizu (Samardžija, 2013). Na

pulpu otpada 90 % ukupne mase, dok ostatak od 10 % otpada na sjemenke ploda rogača. Pulpa se sastoji od perikarpa koji je vanjski kožni dio i mekanog unutarnjeg mezokarpa (Battle i Tous, 1997).



Slika 6. Mahuna i grančica rogača

Rogač je veoma cijenjen zbog kemijskog sastava ploda bogatog polisaharidima te u manjoj mjeri proteinima koji zajedno čine više od 50% sastava rogača. Sastav pojedinog ploda ovisi o sorti, porijeklu i vremenu dozrijevanja, temperaturi, klimatskim uvjetima, atmosferskoj vlažnosti, stupnju zrelosti te načinu prerade (Iumbu, 2008; Strikić i sur., 2006). Ukupna količina svih ugljikohidrata (šećer, škrob, sluz, pektini) iznosi 75–90 %. Prema kemijskom sastavu plod rogača sadrži 48% do 56% ukupnih šećera, 18%-20% kondenziranog tanina, oko 18% celuloze i drugih kemijskih spojeva (slika 7). Od minerala rogač sadrži kalij (1100 mg/100g), kalcij (307 mg/100g), željezo (104 mg/100g), magnezij (42 mg/100g), natrij (13 mg/100g) i druge elemente (Strikić i sur., 2006).

Sjemenke rogača se sastoje od ovojnice (30-33 %), endosperma (42-46 %) te klice (23-25 %) (Battle i Tous, 1997). One su mnogo tvrđe od pulpe, a sadrže mnogo proteina i gumastu masu, koja pomaže smanjenju kolesterola i prekomjerne tjelesne mase (Samaržija, 2013).

UDIO	%
Ukupni šećeri	48-56
Saharoza	32-38
Glukoza	5-6
Fruktoza	5-6
Tanini	18-20
Celuloza	18
Masti	0,2-0,6
Pinitol	5-7

Slika 7. Tablični prikaz sastava mahune rogača (Battle and Tous, 1997)

## **1.7.2. UPOTREBA ROGAČA**

Uporaba mahune rogača u hrani je minimalna s obzirom na vrijednost nutritivnog sastava, a posljedično je niska i tržišna vrijednost rogača. Međutim, na tržištu zdrave hrane rogač u novije vrijeme počinje zauzimati sve važnije mjesto (Iipumbu, 2008).

Ekonomska vrijednost rogača se očituje u njegovoj zimzelenoj ljepoti, rogač se široko sadi kao ukrasna biljka koja stvara hlad svojim gustim lišćem i štiti od vjetrova te se koristi kao zaštita od buke iz tvornica, cesta i željeznica. Često se preporučuje za pošumljavanja degradiranih obalnih područja kojima prijeti erozija tla i širenje pustinja s obzirom da ne zahtjeva puno uzgoja, raste na siromašnim tlima te ima dugi životni vijek (Battle i Tous, 1997).

Od ploda rogača dobivaju se tri glavna komercijalna proizvoda: brašno rogača iz pulpe ili cijelog ploda, zatim ekstrakt rogača iz osušenog ploda (prženog ili neprženog) te guma – karuba, iz endosperma sjemenki (Samaržija, 2013). Svi ovi proizvodi imaju široku primjenu u prehrambenoj, tekstilnoj i farmaceutskoj industriji, kozmetici, građevini itd. U prehrambenoj industriji koristi se kao zgušnjivač, stabilizator, zamjena za kakaov prah, pri proizvodnji alkohola, specijalnih kruhova, slastica i čokolada (Iipumbu, 2008).

Danas se rogač najviše upotrebljava za dobivanje karuba gume ili prehrambenog aditiva E410. Ova guma dolazi iz endosperma sjemenke i kemijski je polisaharid, galaktomanan, a služi kao zgušnjivač, stabilizator, emulgator i sredstvo za geliranje (Batal i sur., 2013). Galaktomanan je polisaharid sastavljen od manoze i galaktoze u omjeru 4:1, a zato što u vodi stvara otopine visoke viskoznosti, upravo on pridonosi visokoj viskoznosti mljevenog rogača sa sjemenkama (Battle i Tous, 1997).

### **1.7.2.1. FARMACEUTSKA UPORABA ROGAČA**

Fenolni spojevi, među kojima se nalaze i tanini, te vitamini i minerali su zaslužni za antioksidativno djelovanje rogačeva brašna. Oni sprečavaju oksidacijske reakcije inhibicijom slobodnih radikala te zbog toga imaju povoljan učinak na ljudsko zdravlje (Iipumbu, 2008).

Rogač sadrži visok udio tanina koji djeluju adstringentno na sluznicu crijeva. Oni na sebe vežu bakterije i njihove toksine i tako ih uklanjaju iz probavnog trakta što je bitno u regulaciji probavnih tegoba (smanjuje se otok i upala sluznice). Adstringentno djelovanje je rezultat taloženja proteina pomoću tanina i stvaranje zaštitnog sloja na sluznici. Rogač zato često koristimo za ublažavanje mučnina i proljeva, posebno kod djece (Samaržija, 2013).



Plod rogača je dobar stabilizator probave. Najviše se koristi kao dobro sredstvo protiv proljeva (dijareje) kod dojenčadi i male djece. Na tržištu se mogu naći različiti ljekoviti pripravci za zaustavljanje proljeva kod djece kao npr. *Rogamil instant prah s bananom* (sadrži rogač s povećanim udjelom tanina i banana u prahu), *Rogamil elektrolit* (napitak od rogača i elektrolita, 150 mL). Kod odraslih se rabi i kod enteritisa (upale intestinalne mukozne membrane) i dispepsije (otežane probave). Koristi se još i za liječenje gastritisa (upale želuca) odnosno gastroenteritisa (upale želuca i crijeva) (Samaržija, 2013).

Rogač sadrži visok udio prehrambenih vlakana te zbog toga podupire sastav crijevnih bakterija i djeluje prebiotički te ima utjecaj na smanjenje kolesterola u krvi. Također većina ugljikohidrata kojima je rogač bogat uključuju sporoprobavljive ugljikohidrate, odnosno škrob, koji snižava postprandijalnu razinu glukoze i inzulina u krvi te štiti od kroničnih bolesti ili poremećaja kao npr pretilost, rak, hiperlipidemija (Iipumbu, 2008).

Rogač se također nalazi i u pripravcima za mršavljenje, »energetskim« pločicama, te surogatima čokolade i kave. U farmaceutskoj industriji se od sjemenki rogača izrađuju ovojnice tableta (Samaržija, 2013).

### **1.7.3. DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA O ROGAČU U SVIJETU**

Uzgoj i proizvodnja rogača u Hrvatskoj nikada nije imala mjesto koje ova kultura zaslužuje s obzirom da rogač vrlo uspješno raste kao samonikla biljka na obali i otocima hrvatskog Jadrana te uzevši u obzir kakvoću i iskoristivost ploda. Posebno je zabrinjavajuća činjenica veoma slabog poznavanja domaćeg sortimenta rogača. U literaturi se spominju sorte Šipanski dugi, Komiški krupni, Moliški, Koštunac, Komiški veliki, Šipanski, Puljiški i Mekiš, koje su opisane s fenološkog, morfološkog, pomološkog i agronomskog aspekta. Istovremeno u svijetu postoji veoma veliki broj sorta, a u literaturi je opisao 26 svjetskih sorta rogača (Batle & Tous, 1997), dok Morton (1987) navodi da postoji više od 80 klonova kolekcioniranih u kolekciji Sveučilišta u Californiji. (Strikić i sur., 2006).

Iipumbu u svom radu prikazuje rezultate analize nutritivnog sastava sirove mahune rogača na 5 lokacija u Južnoafričkoj Republici, pokrajina „Western Cape Province“. Udio vlage u brašnu rogača se kreće od 8,17 do 9,56%, udio ugljikohidrata koji su određeni enzimskom metodom 89,57-91,12%. Nadalje, udio ukupnih šećera je određen metodom razlike, a kreće se od 40.69-54.74% (33,70-45,09% saharoze, 1.79-4,95% glukoze i 1,80-

5,19% fruktoze), brašno rogača sadrži i 29.88-36.07% prehrambenih vlakana, 3,07-4,42% proteina, 2.58-3,08% polifenola te 0.45-0,86 % masnih kiselina (Iipumbu, 2008).

Avallone i suradnici su proveli istraživanje na 8 uzorka samoniklog rogača porijeklom iz Italije (južni dio Sicilije). Srednje vrijednosti saharoze, D-glukoze i D-fruktoze su  $34\pm 6$ ,  $4\pm 1$ ,  $6\pm 2\%$ , a određene su enzimskom metodom. Uzorci sadrže nisku razinu masti ( $0,6\pm 1\%$ ) i znatne količine proteina ( $3\pm 2\%$ ) (Avallone i sur., 1996).

Albanell i suradnici (Albanell i sur., 1991) u svom istraživanju daju uvid u nutritivni sastav rogača i morfološke osobine 182 uzorka rogača iz različitih pokrajina Španjolske (Balears, Catalunya, C Valenciana, Andalucía, Murcia). Metodom po Somogyiju je određeno  $34\pm 4.5\%$  saharoze,  $12.5\%$  reducirajućih šećera te  $46,5\pm 3\%$  ukupnih šećera što se poklapa sa rezultatima iz ranije navedenih istraživanja.

Ayaz i suradnici navode u svom radu sastav rogača mahuna uzorkovanih u Zapadnoj i Južnoj Anatoliji. Glavni šećeri identificirani u plodu su saharoza čiji je udio  $43,7\text{ g}/100\text{g}$  suhe tvari te glukoza i fruktoza sa udjelima  $3,96$  odnosno  $4,23\text{ g}/100\text{g}$  suhe tvari. Šećeri su indentificirani HPLC metodom ( Ayaz i sur., 2007).

Vekiari i suradnici u svom radu istražuju varijacije u kvaliteti, osobinama te sastavu ugljikohidrata, polifenola, masnih kiselina i drugih supstancija u rogaču tijekom razvoja ploda (tri faze). U istraživanju su korištene dvije vrste Grčkog rogača (mesnati i divlji) i jedan tip mahune rogača iz Turske (mesnati tip). Ukupni i nereducirajući šećeri određivani su kromatografski, HPLC-om. Dobiveni rezultati pokazuju da rogač iz Turske ima višu razinu ukupnih šećera, fruktoze i saharoze od grčkog rogača u prvoj fazi rasta. Vrijednosti saharoze su se kretale od  $26,9$  do  $32,6\%$  u zadnjem stadiju razvoja, a udio fruktoze kroz stadije razvoja varira od  $3,8$  do  $9,5\%$  te glukoze od  $3$  do  $7\%$  (Vekiari i sur., 2011).

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Rogač (*Ceratonia siliqua L., Fabaceae*), porijeklom iz Sirije i Palestine, od vremena grčke kolonizacije je rasprostranjen na cijelom području Mediterana, pa tako i na obali i otocima hrvatskog Jadrana. Mahune rogača u nutritivnom smislu karakterizira visok udio ugljikohidrata i prehrambenih vlakana te izrazito nizak udio masti. Plod rogača sadrži i visok udio minerala, fenolnih kiselina, tanina te flavonoida koji se povezuju s mnogobrojnim blagotvornim učincima na zdravlje te opravdavaju njegovu dugogodišnju primjenu u tradicionalnoj medicini. Iako su mogućnosti i vrijednosti ove kulture kao namirnice i sirovine veoma velike, on se danas u Hrvatskoj nedovoljno koristi u prehrani te posljedično nisu provedena ni detaljna nutritivna istraživanja ove kulture.

S obzirom da rogač vrlo uspješno raste kao samonikla biljka na obali i otocima Dalmacije, te da danas postoje vrlo oskudna istraživanja o rogaču s područja hrvatskog priobalja, nameće se potreba za sustavnom nutritivnom analizom domaćih sorti rogača. Stoga je cilj ovog diplomskog rada odrediti ugljikohidratni sastav brašna rogača samoniklog na 15 lokacija na području hrvatskog Jadrana.

Ovo istraživanje bi moglo uvelike promovirati rogač u svakodnevnoj prehrani s obzirom da on predstavlja namirnicu koja se već uspješno koristi kao zdravija zamjena za kakao i čokoladu. Iako je rogač bogat ugljikohidratima, njegova konzumacija ne dovodi do naglog porasta razine glukoze u krvi, zahvaljujući njegovom niskom glikemijskom indeksu, što omogućuje da se afirmira kao namirnica naročito pogodna za prehranu dijabetičara i osoba s narušenom tolerancijom glukoze.

## 3. MATERIJALI I METODE

### 3.1. MATERIJALI

Istraživanje ugljikohidratnog sastava provedeno je na uzorcima brašna rogača. Mjerenja su provedena na brašnu rogača dobivenog od mljevenih mahuna rogača skupljenih s 15 različitih lokacija na području hrvatskog Jadrana. Sve analize su rađene u duplikatu.

### 3.2. APARATURA I PRIBOR

Vaga, Mettler Toledo, Švicarska

Centrifuga, Centric 322A, Tehnica, Slovenija

UV/Vis Spectrometer, ATI-UNICAM, Velika Britanija

Termostat, Inko, Zagreb, Hrvatska

Vortex miješalica tip VT4-300L, Tokyo, Japan

Pipete, propipete, automatske pipete, Erlenmeyerove tikvice, odmjerne tikvice, čaše, Falcon epruvete, povratno hladilo itd.

### 3.3. REAGENSI

#### Reagensi korišteni u određivanju prirodnog i ukupnog inverta metodom po Luff-Schoorl-u

1. otopina Carrez I

2. otopina Carrez II

Priprema reagensa za pročišćavanje po Carrez-u

Otopina 1: kalijev-2-heksacijanoferat

Odvaži se 75 g  $K_4Fe(CN)_6 \times 3H_2O$  (Kemika d.o.o., Zagreb, Hrvatska), prenese se preko lijevka u odmjernu tikvicu od 500 mL, otopi u destiliranoj vodi i nadopuni do oznake.

Otopina 2: cinkov sulfat

Odvaži se 150 g  $ZnSO_4 \times 7H_2O$  (Kemika d.o.o., Zagreb, Hrvatska), prenese se u odmjernu tikvicu od 500 mL, otopi u destiliranoj vodi te nadopuni do oznake.

3. KI (Kemika d.o.o., Zagreb, Hrvatska)- za pripremu 30% otopine KI

4. Luff-Schoorl-ov reagens

Priprema:

25 g  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  (Kemika d.o.o., Zagreb, Hrvatska) otopi se u 100 mL destilirane vode. 50 g limunske kiseline  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \times 8\text{H}_2\text{O}$  (Kemika d.o.o., Zagreb, Hrvatska) otopi se u 50 mL destilirane vode, a 388 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \times 10\text{H}_2\text{O}$  (Kemika d.o.o., Zagreb, Hrvatska) u 300-400 mL vruće vode. Otopina limunske kiseline i natrijevog karbonata se pomiješaju na način da se otopina limunske kiseline pažljivo malo po malo dodaje u otopinu natrijeva karbonata uz polagano mješanje. Nakon toga se doda otopina bakrova (II) sulfata i nadopuni destiliranom vodom do 1 L.

5.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Kemika d.o.o., Zagreb, Hrvatska)- za pripremu 25% otopine  $\text{H}_2\text{SO}_4$

6.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (Sigma, St. Luis, SAD)- za pripremu 0.1 M otopine  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

7. Škrob (Sigma, St. Luis, SAD)- za pripremu 1%-tne otopine škroba-indikator

8. Natrijeva lužina (Kemika d.o.o., Zagreb, Hrvatska)- za pripremu 1M otopina NaOH

9. HCl (Kemika d.o.o., Zagreb, Hrvatska)- za pripremu 10%-tne otopine HCl-a

**Reagensi korišteni u određivanju glukoze enzimskom GOD-PAP metodom**

**GOD-PAP reagens:**

<u>Aktivni sastojci</u>	<u>Koncentracija</u>
Glukoza oksidaza	> 15,000 U/L
Peroksidaza	> 1000 U/L
4-aminoantipirin	0,3 mmol/L
Fenol	0,5 mmol/L
Fosfatni pufer ( ph $7.1 \pm 0,20$ na $18-22^\circ\text{C}$ )	

**Standard:**

Glukoza PAP (TR-2000, Dijagnostika, Sisak Hrvatska ) 5,56mmol/L

### 3.4. METODE

#### 3.4.1. VOLUMETRIJSKO ODREĐIVANJE PRIRODNOG I UKUPNOG INVERTA METODOM PO LUFF- SCHOORLU

##### Princip metode:

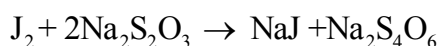
Metoda se temelji na principu da u određenim uvjetima reducirajući šećeri (glukoza i fruktoza) prevode bakrov  $\text{Cu}^{2+}$  ion iz Luffovog reagensa u bakar oksid. Ostatak bakrovog iona odredi se tako da se u otopinu doda kalijev jodid te dolazi do izlučivanja ekvivalentne količine elementarnog joda. Izlučeni jod se uz škrob kao indikator odredi titracijom s otopinom natrijevog tiosulfata:

- $\text{Cu}^{2+}$  (višak) određuje se dodatkom KJ u kiseloj sredini:



(Dodatkom KJ u suvišku reakcija teče u desno.)

- izolirani jod se titrira s natrijevim tiosulfatom:



Nereducirajući šećer (saharoza) mora se prethodno hidrolizirati na reducirajuće monosaharide (glukoza i fruktoza) pomoću kloridne kiseline (HCl). Razlika između dobivenog ukupnog i prirodnog inverta daje količinu reducirajućih šećera nastalih inverzijom saharoze.

Ova metoda se temelji na istom principu kao i metoda sa Fehling-ovim reagensom, odnosno na redukciji bakra iz alkalnog medija  $\text{Cu}^{2+}$  kompleksa. Pogodnija je metoda po Luff-Schoorlu jer je manje alkalna od Fehlingove otopine koja donekle razara šećere u toku kuhanja te je neophodno strogo se pridržavati zadanih uvjeta reakcije (ph, vrijeme zagrijavanja itd). Također je i specifičnija metoda, a dodatna prednost metode po Luff-Schoorlu je što otopine glukoze i fruktoze pokazuju istu reduktivnu sposobnost pri dužem zagrijavanju pa je jednostavnije izračunavanje (Trajković i sur., 1983).

##### Postupak:

U čašu volumena 500 mL izvaže se 2.5 g ( $\pm 0,1$  mg) uzorka za analizu, razrijedi vrućom vodom ( $70^\circ\text{C}$ ) uz miješanje te se preko lijevka kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL. Tikvica se ohladi, dopuni do oznake te se nakon toga profiltrira kroz grubi filter papir, a dobiveni filtrat je osnovna otopina.

### **Pročišćavanje po Carrez-u**

50 mL osnovne otopine prenese se u odmjernu tikvicu od 250 mL i doda 5 mL otopine Carrez I i 5 mL otopine Carrez II (reagensi za bistrenje) da se odstrane balastne tvari. Nakon svakog dodavanja otopine Carreza, sadržaj se promiješa, a nakon toga se dopuni do oznake, promiješa i filtrira kroz gusti filter papir. Dobiveni filtrat je osnovni filtrat za određivanje šećera.

### **Određivanje prirodnog inverta (direktno reducirajući šećeri, glukoza i fruktoza)**

U Erlenmayerovu tikvicu od 300 mL otpipetira se trbušastom pipetom 25 mL Luff-ovog reagensa i isto toliko osnovnog filtrata. Zbog ravnomjernog vrenja prije zagrijavanja se u tikvicu ubaci nekoliko kuglica za vrenje. Tikvica se zagrijava na plameniku tako da ključanje počne za 2 minute, a potom se tikvica spoji s povratnim hladilom i nastavi kuhati točno 10 minuta. Nakon hlađenja, u tikvicu se doda 10 mL 30% otopine KI i 25 mL 25% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Izlučeni jod titrira se uz miješanje s natrijevim tiosulfatom i 1 mL škrobom kao indikatorom do promjene boje u svijetlo žutu. Usporedno se radi i slijepa proba tako da se umjesto uzorka pipetira 25 mL destilirane vode.

Iz tablice o Luff -Schoorlu očita se i izračuna odgovarajuća količina invertnog šećera.

Sadržaj prirodnog inverta izračuna se iz izraza:

$$\% \text{ prirodnog inverta} = \frac{\text{invertni šećer (mg)}}{\text{odvaga uzorka u alikvotu (mg)}} \times 100$$

### **Određivanje ukupnog inverta (prirodni invert + saharoza)**

25 ml osnovnog filtrata otpipetira se u odmjernu tikvicu od 100 ml i izvrši hidroliza nereducirajućih šećera dodatkom 2,5 mL konc. HCl. Hidrolizom otopine šećera pomoću kiseline postiže se oslobađanje blokiranih poluacetalnih hidroksilnih skupina u disaharidima (saharoza). Tikvica se stavi u vodenu kupelj koja je zagrijana na 70°C točno 5 minuta, a vrijeme se počne mjeriti kad živa u termometru dosegne 67°C. Nakon toga tikvica se brzo ohladi na sobnu temperaturu, neutralizira se s 1M NaOH uz indikator i nadopuni do oznake. Zatim se ponovi postupak koji je opisan kod određivanja prirodnog inverta.

### **Određivanje saharoze**

Sadržaj saharoze iskazuje se kao razlika između prirodnog inverta i ukupnog inverta i to:

$$\% \text{ saharoze} = (b-a) \times 0.95$$

a-% prirodnog inverta

b-% ukupnog inverta

0.95-faktor za preračunavanje invertnog šećera u saharozu

Faktor 0.95 koristi se budući da 1 mol saharoze pri hidrolizi prima 1 mol vode i nastaje ekvimolarna smjesa glukoze i fruktoze, odnosno iz 342 g saharoze se dobije 360 g invertnog šećera, odnosno, iz 1g saharoze nastaje 1.053 g invertnog šećera. Iz navedenog proizlazi da jednom gramu invertnog šećera odgovara 0.95 saharoze (Šebečić i Vedrina Dragojević, 2007).

### **Određivanje fruktoze**

Sadržaj fruktoze iskazuje se kao razlika između postotka prirodnog inverta i glukoze i to:

$$\% \text{ fruktoze} = (a-b)$$

a.....% prirodnog inverta

b.....% glukoze

### **Određivanje faktora za 0,1 M natrij-tiosulfat**

U 25 mL 0,1 M  $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$  u Erlenmeyer-ovoj tikvici od 250 mL se otopi 2,5 g KI i doda 10 mL 10%-tne HCl. Poslije 2-3 min smjesa se razrijedi s 50 mL vode i titrira s 0,1 M otopinom natrijeva tiosulfata do svijetlo žute boje, a zatim u prisutnosti škroba (1 mL), dok se ne izgubi plava boja do obezbojenja.

Faktor za 0,1 M natrij-tiosulfat se izračuna iz formule:

$$\text{mL } 0,1 \text{ M Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times f \text{ } 0,1 \text{ M Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = \text{mL } 0,1 \text{ M KH}(\text{IO}_3)_2 \\ \times f \text{ } 0,1 \text{ M KH}(\text{IO}_3)_2$$

-faktor  $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$  je 1,000

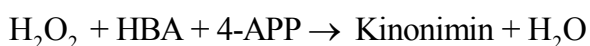
-f 0,1 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  =25mL/utrosak tiosulfata



### 3.4.2. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE GLUKOZE ENZIMSKOM GOD-PAP METODOM

#### **Princip metode:**

Metoda se temelji na oksidaciji glukoze iz uzorka u glukonat uz enzim glukoza oksidaza (GOD). Tom reakcijom nastaje vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ) koji djelovanjem enzima peroksidaze (POD) reagira s 4-hidroksibenzojevom kiselinom i 4-aminoantipirinom, pri čemu nastaje obojeni produkt kinonimin. Koncentracija slobodne glukoze u uzorku je proporcionalna intenzitetu obojenja otopine uzorka te se određuje spektrofotometrijskim mjerenjem apsorbancije svjetla valne duljine 500 nm.



HBA= 4-hidroksibenzojeva kiselina

4-APP=4-aminoantipirin

Prva reakcija, oksidacija glukoze, je specifična, ali druga reakcija, odnosno oksidacija kromogena s  $H_2O_2$  nije, jer interferiraju različiti reducensi. Navedene tvari se oksidiraju umjesto kromogena te dovode do niskih rezultata. S druge strane, razni oksidansi poput hipoklorita mogu oksidirati kromogen i izazvati previsoke rezultate (Štraus, 2011).

S obzirom da rogač u svom sastavu ima veće količine tanina i ostalih fenolnih spojeva koji su antioksidansi (reducensi), moguće je da oni interferiraju i reagiraju s kromogenom što može rezultirati nižim vrijednostima. Stoga se prvo uklanjaju tanini iz brašna rogača, nakon čega slijedi određivanje glukoze GOD-PAP metodom.

#### **Postupak:**

##### **1.Priprema ekstrakta**

Izvaže se oko 3,5 g ( $\pm 0,1$  mg) uzorka za analizu, razrijedi vrućom vodom ( $70^\circ\text{C}$ ) uz miješanje. Potom se preko lijevka prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL. Tikvica se ohladi pod mlazom hladne vode i nadopuni do oznake. Nakon toga se profiltrira kroz grubi filter papir.

## 2.Uklanjanje tanina

Oko 30 mg polivinilpirolidona se odvažuje u Falcon epruvetu od 15 mL. Doda se 2 mL destilirane vode, promućka da se dobije suspenzija, i potom se doda 2 mL ekstrakta. Epruvete se dobro promućkaju i ostave stajati na hladnom 30 min u hladnjaku uz povremeno snažno mućkanje. Nakon toga se suspenzija centrifugira 10 min na 3000 okretaja te filtrira kroz obični filter papir.

## 3.Metoda GOD-PAP

Otpipetira se 250  $\mu$ L uzorka kojemu su uklonjeni tanini, standarda i slijepa probe u obilježene Falcon epruvete i doda se 5 ml glukoza-PAP reagensa u svaku Falcon epruvetu, sadržaj se promiješa i inkubira u vodenoj kupelji na 37°C 20 minuta. Nakon toga se mjeri apsorbancija na 500 nm, a količina glukoze se izračuna iz izraza:

$$\text{Glukoza, mmol/L} = \frac{\Delta A/\text{min uzorka}}{\Delta A/\text{min standarda}} \times \text{Konc. standarda}$$

### 3.4.3. ODREĐIVANJE VLAGE U UZORCIMA

Pod pojmom sadržaja vlage podrazumijeva se gubitak na težini uzorka sušenog u sušioniku na određenoj temperaturi, do konstantne mase. Voda utječe na fizikalna svojstva uzorka kao npr. viskoznost, električna provodljivost, gustoća, masa i dr.

#### **Princip:**

Za određivanje vode je primijenjena metoda sušenja na 105°C do konstantne mase. Metoda sušenjem je termogravimetrijska metoda koja se definira kao razlika odvage uzorka prije i nakon sušenja.

#### **Postupak:**

Aluminijske posudice za sušenje s poklopcima se suše na 105°C 1 sat, ohlade u eksikatoru i izvažu na vagi s točnošću ± 0.001g. U posude se izvaže 3g (±0,001g) uzorka, pokriju se s poklopcima, prenesu u sušionik i suše 1 sat na 105°C. Nakon toga se prenesu u eksikator, hlade te ponovno važu. Postupak se ponavlja dok razlika između odvaga ne bude manja od 0,1 mg. Iz razlike mase prije i poslije sušenja izračuna se udio vode.

Račun:

$$\% \text{ (udio vode)} = \frac{(a-b) \times 100}{c}$$

a = masa lončića s uzorkom prije sušenja

b = masa lončića s uzorkom nakon sušenja

c = masa uzorka

### 3.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Sve analize su provedene u duplikatu, a rezultati su prikazani kao srednja vrijednost (X), standardna devijacija (SD) i relativna standardna devijacija (RSD).

Za izračunavanje srednje vrijednosti, standardne devijacije i relativne standardne devijacije korišten je program Microsoft Office Exel 2010.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. UDIO VODE U ISPITIVANIM UZORCIMA

Rezultati određivanja udjela vode u uzorcima brašna rogača prikupljenog s 15 različitih lokaliteta s hrvatskog Jadrana prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Udio vode u ispitivanim uzorcima

Lokalitet	Udio vode (g/100g)	$\bar{\chi}$	SD	RSD
1	8,434	8,401	0,034	0,400
	8,367			
2	8,547	8,456	0,091	1,073
	8,366			
3	7,843	7,781	0,062	0,800
	7,718			
4	7,696	7,769	0,073	0,934
	7,842			
5	8,556	8,515	0,042	0,490
	8,473			
6	8,888	8,778	0,110	1,251
	8,668			
7	8,264	8,321	0,058	0,691
	8,379			
8	8,546	8,555	0,010	0,114
	8,565			
9	8,142	8,112	0,029	0,362
	8,083			
10	7,502	7,568	0,066	0,872
	7,635			
11	11,212	11,290	0,078	0,692
	11,368			
12	8,856	8,813	0,043	0,486
	8,770			
13	8,277	8,344	0,067	0,805
	8,411			
14	9,144	9,148	0,004	0,048
	9,152			
15	12,088	12,065	0,023	0,190
	12,042			

Vidljivo je da se udjeli vode u analiziranim brašnima rogača kreću od 7,568 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 10) do 12,065 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 15) uz relativnu standardnu devijaciju (RSD) u rasponu od 0,114 % do 1,251 % (tablica 1). Ove vrijednosti RSD ukazuju na visoku preciznost metode.

Najveća varijacija utvrđena je između lokaliteta 10 i 15 i iznosi 59,42 %, a najmanja varijacija iznosi 2,656 % između lokaliteta 10 i 4.

Iz tablice 1 se može primjetiti da su se udjeli vlage kod većine uzoraka (osim kod uzoraka 15 i 11) kretali u uskom rasponu od 7,568 – 9,148 g/100g originalnog uzorka. Lokaliteti 15 i 11 značajnije odstupaju od ostalih s udjelom vode 11,290 g/100g i 12,065 g/100g originalnog uzorka. Zbog relativno visokog postotka vlage ti su uzroci nestabilniji i pogodniji mikrobiološkoj kontaminaciji.

#### **4.2. UDIO PRIRODNOG INVERTA U ISPITIVANIM UZORCIMA**

Rezultati određivanja udjela prirodnog inverta u ispitivanim uzorcima su prikazani u tablici 2.

Udjeli prirodnog inverta u uzorcima brašna rogača kreću se od 6,255 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 10) do 15,073 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 11) uz RSD od 0,005 do 1,639 %. Vidljivo je da postoji širok raspon vrijednosti među analiziranim uzorcima brašna rogača, s tim da niske RSD vrijednosti ukazuju na visoku preciznost metode (tablica 2).

Najveća razlika u udjelima prirodnog inverta je između uzoraka s lokaliteta 10 i 11 te iznosi 140,975 %, dok je najmanja razlika između uzoraka s lokaliteta 1 i 15 te iznosi 0,058%.

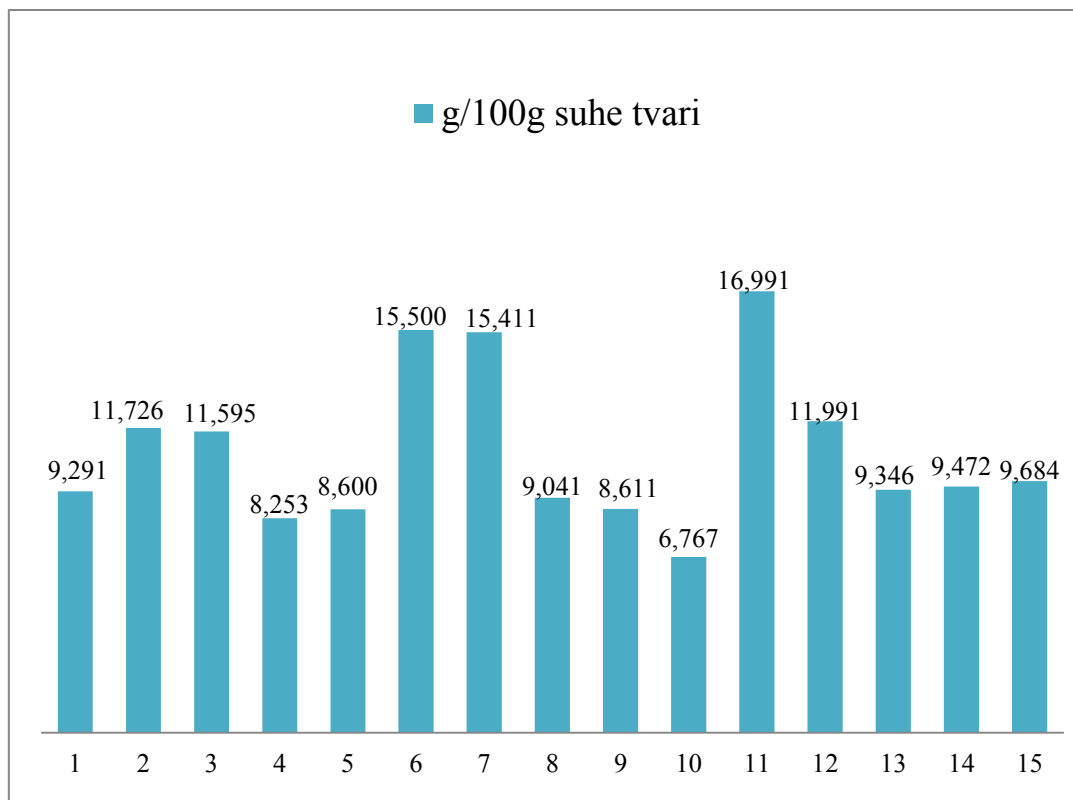
Preračunato na suhu tvar (slika 8) udjeli prirodnog inverta se kreću od 6,767 g/100g do 16,991 g/100 g suhe tvari. Višim vrijednostima se ističu lokaliteti 6 i 11 s 15,5 g/100 g te 16,991 g/100g suhe tvari, dok uzorak 10 odstupa s najnižom vrijednošću od 6,767 g/100 g suhe tvari.

Dobivene vrijednosti su u skladu s literaturnim podacima (Iipumbu, 2008; Avallone i sur., 1996).

Iz rezultata je vidljivo da postoje značajne razlike u udjelu prirodnog inverta u brašnu rogača s različitih lokacija što je u skladu s očekivanjima jer nutritivni sastav rogača ovisi o sorti, porijeklu, vremenu dozrijevanja, temperaturi i drugim klimatskim faktorima ( Strikić i sur., 2006).

Tablica 2. Udio prirodnog inverta u ispitivanim uzorcima

Lokalitet	Prirodni invert	$\bar{x}$	<i>SD</i>	<i>RSD</i>
1	8,609	8,510	0,139	1,638
	8,412			
2	10,831	10,735	0,136	1,271
	10,638			
3	10,645	10,693	0,067	0,628
	10,740			
4	7,610	7,612	0,002	0,033
	7,614			
5	7,814	7,868	0,076	0,962
	7,921			
6	14,139	14,140	0,001	0,005
	14,140			
7	14,173	14,129	0,062	0,441
	14,085			
8	8,219	8,268	0,069	0,839
	8,317			
9	7,915	7,912	0,004	0,046
	7,910			
10	6,210	6,255	0,063	1,011
	6,299			
11	15,123	15,073	0,071	0,469
	15,023			
12	10,836	10,934	0,139	1,270
	11,033			
13	8,519	8,567	0,068	0,788
	8,614			
14	8,604	8,605	0,001	0,013
	8,606			
15	8,513	8,515	0,003	0,040
	8,518			



Slika 8. Udio prirodnog inverta (g) u 100 g suhe tvari

#### 4.3. UDIO UKUPNOG INVERTA U ISPITIVANIM UZORCIMA

Rezultati određivanja udjela ukupnog inverta u ispitivanim uzorcima su prikazani u tablici 3. U skladu s očekivanjima, srednje vrijednosti udjela ukupnog inverta u uzorcima brašna rogača se kreću od 47,092 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 15) do 57,061 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 1), s RSD vrijednostima u intervalu od 0,014 do 1,100 što ukazuje na visoku preciznost metode.

Najveća razlika u udjelima ukupnog inverta je između uzoraka s lokaliteta 1 i 15 te iznosi 21,169 %, dok je najmanja između uzoraka s lokaliteta 3 i 5 te iznosi 0,315 %.

Usporedbom rezultata prikazanih na slikama 8 i 9 vidljivo je značajno manje odstupanje između udjela ukupnog inverta nego između udjela prirodnog inverta.

Preračunato na suhu tvar (slika 9), udjeli ukupnog inverta u brašnu rogača se kreću od 53,063g/100g (lokalitet 9) do 62,295 g/100g suhe tvari (lokalitet 1). Nižim vrijednostima se

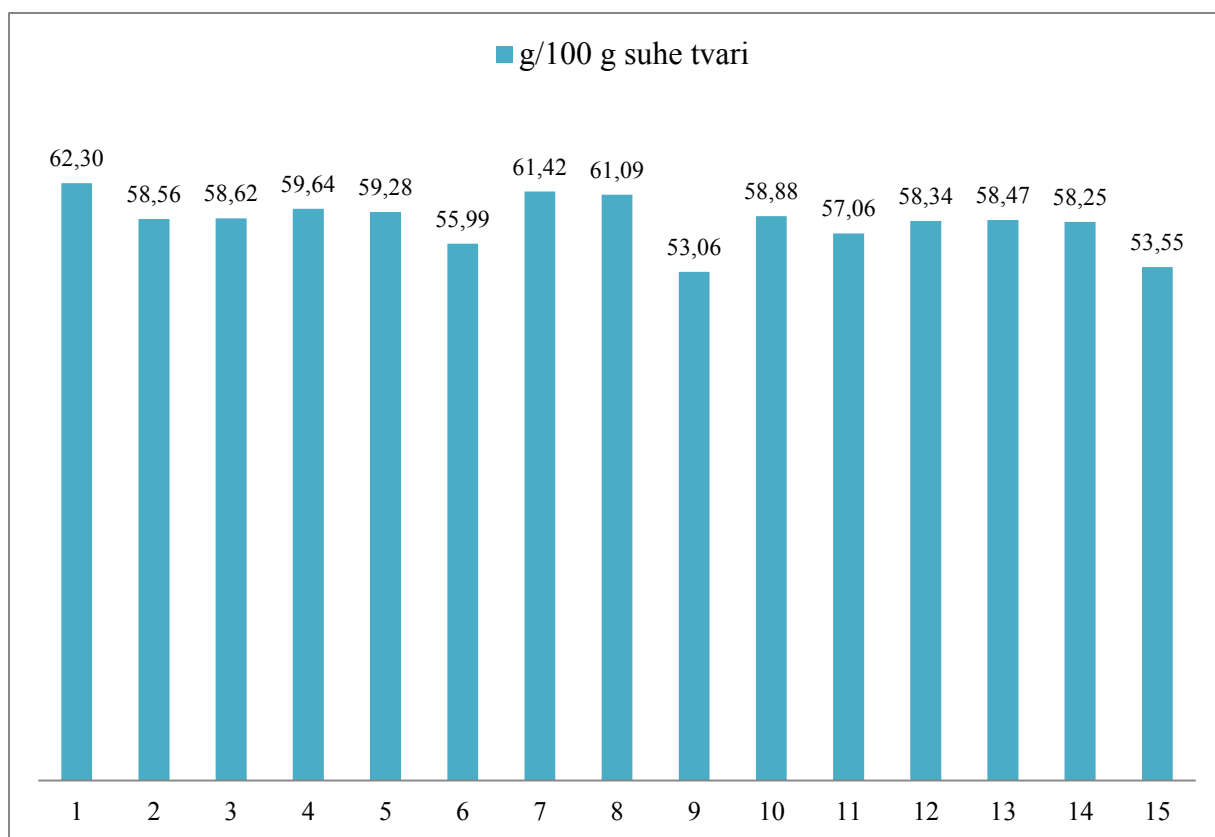
ističu lokaliteti 9 i 15 s 53,063 odnosno 53,553 g/100g suhe tvari, dok se višim vrijednostima ističu lokaliteti 7 i 1 s 61,416 odnosno 62,295 g/100g suhe tvari.

Rezultati dobiveni u ovom istraživanju su u istom rasponu vrijednosti kao i literaturni podaci (Iipumbu, 2008).

Tablica 3. Udio ukupnog inverta u ispitivanim uzorcima

Lokalitet	Ukupni invert	$\bar{x}$	SD	RSD
1	57,048	57,061	0,019	0,034
	57,075			
2	53,604	53,609	0,007	0,014
	53,614			
3	53,870	54,059	0,267	0,493
	54,247			
4	54,998	55,006	0,011	0,020
	55,014			
5	54,208	54,229	0,029	0,054
	54,249			
6	51,270	51,071	0,283	0,553
	50,871			
7	56,690	56,305	0,545	0,968
	55,920			
8	56,287	55,860	0,605	1,083
	55,432			
9	48,975	48,758	0,307	0,629
	48,541			
10	54,267	54,419	0,216	0,396
	54,572			
11	51,013	50,619	0,557	1,100
	50,225			
12	53,416	53,202	0,302	0,568
	52,988			
13	53,808	53,590	0,307	0,574
	53,373			
14	53,122	52,924	0,280	0,529
	52,726			
15	47,078	47,092	0,019	0,040
	47,105			





Slika 9: Udio ukupnog inverta (g) u 100 g suhe tvari

#### 4.4. UDIO SAHAROZE U ANALIZIRANIM UZORCIMA

Udjeli saharoze u analiziranim brašnima rogača, dobiveni oduzimanjem eksperimentalno određenih vrijednosti za ukupni i prirodni invert i pomnoženi s faktorom 0,95, kreću se od 33,769 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 11) do 46,123 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 1) (tablica 4).

Najveća razlika u udjelima saharoze je utvrđena između uzoraka s lokaliteta 11 i 1 te iznosi 36,58 %, dok je najmanja razlika između uzoraka s lokaliteta 12 i 7 te iznosi 0,217%.

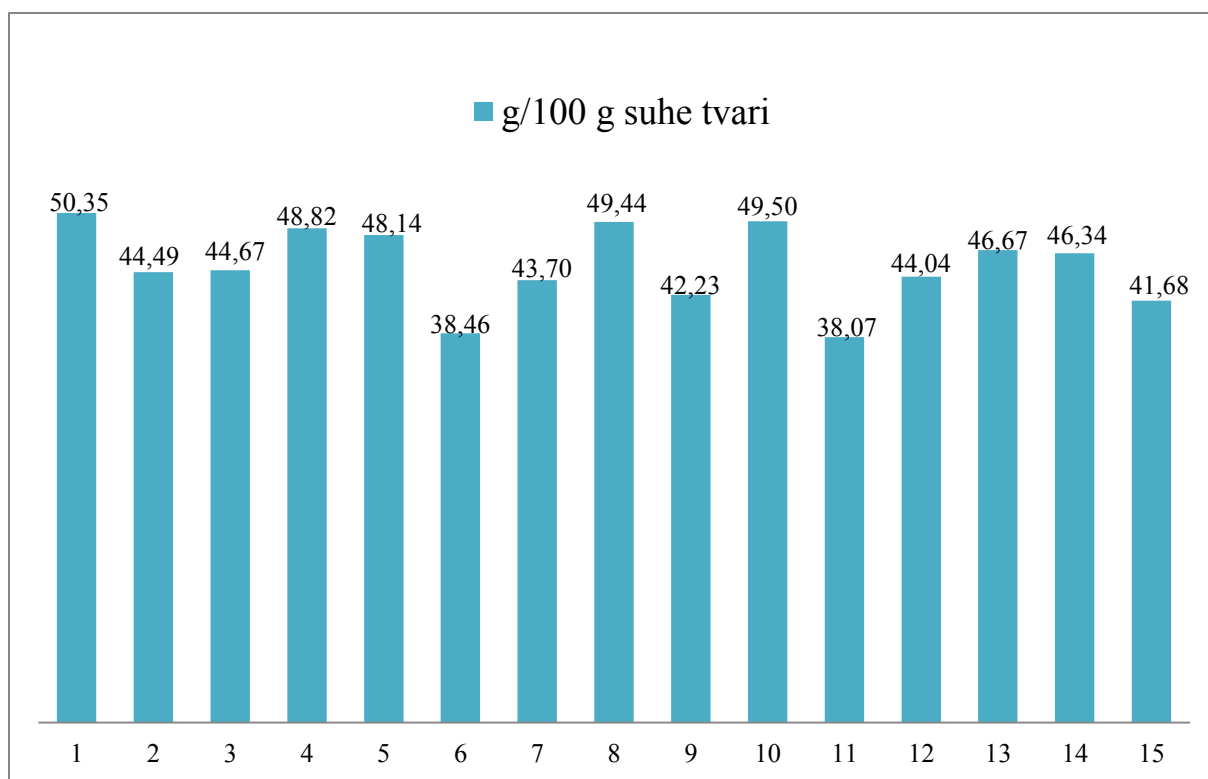
Preračunato na suhu tvar (slika 10), udjeli saharoze se kreću od 38,066 g/100g (lokalitet 11) do 50,353 g/100g suhe tvari (lokalitet 1).

Može se primjetiti da se rezultati udjela saharoze u ispitivanim uzorcima kreću u relativno užem rasponu, kao i vrijednosti dobivene za udio ukupnog inverta.

Rezultati ovog istraživanja su u skladu s literaturnim podacima gdje se navode udjeli saharoze u rasponu od  $34 \pm 6$  g/100g suhe tvari u brašnu talijanskog rogača (Avallone i sur., 1996) do 45,09 g/100g suhe tvari u brašnu južnoafričkog rogača (Iipumbu, 2008).

Tablica 4. Udio saharoze u analiziranim uzorcima

Lokalitet	Prirodni invert	Ukupni invert	SAHAROZA	$\bar{\chi}$	SD	RSD
1	8,609	57,048	46,017	46,123	0,151	0,327
	8,412	57,075	46,230			
2	10,831	53,604	40,634	40,730	0,137	0,335
	10,638	53,614	40,827			
3	10,645	53,870	41,064	41,198	0,190	0,460
	10,740	54,247	41,332			
4	7,610	54,998	45,018	45,024	0,008	0,018
	7,614	55,014	45,030			
5	7,814	54,208	44,074	44,043	0,044	0,100
	7,921	54,249	44,012			
6	14,139	51,270	35,275	35,084	0,269	0,767
	14,140	50,871	34,894			
7	14,173	56,690	40,392	40,067	0,458	1,144
	14,085	55,920	39,743			
8	8,219	56,287	45,665	45,212	0,641	1,417
	8,317	55,432	44,759			
9	7,915	48,975	39,007	38,804	0,288	0,742
	7,910	48,541	38,600			
10	6,210	54,267	45,654	45,756	0,145	0,316
	6,299	54,572	45,859			
11	15,123	51,013	34,095	33,769	0,462	1,368
	15,023	50,225	33,442			
12	10,836	53,416	40,451	40,154	0,419	1,044
	11,033	52,988	39,858			
13	8,519	53,808	43,025	42,773	0,356	0,833
	8,614	53,373	42,521			
14	8,604	53,122	42,292	42,103	0,267	0,635
	8,606	52,726	41,914			
15	8,513	47,078	36,637	36,648	0,015	0,040
	8,518	47,105	36,658			



Slika 10. Udio saharoze (g) u 100 g suhe tvari

#### 4.5. UDIO GLUKOZE U ISPITIVANIM UZORCIMA

Udjeli glukoze u ispitivanim uzorcima brašna rogača (tablica 5) kreću se od 1,531, odnosno 1,534 g/100 g originalnog uzorka s lokaliteta 1 i 9 do 4,145 g/100g, odnosno 5,144 g/100 g originalnog uzorka s lokaliteta 6 i 11. RSD vrijednosti kretale su se od 0,327 % do 2,979 % .

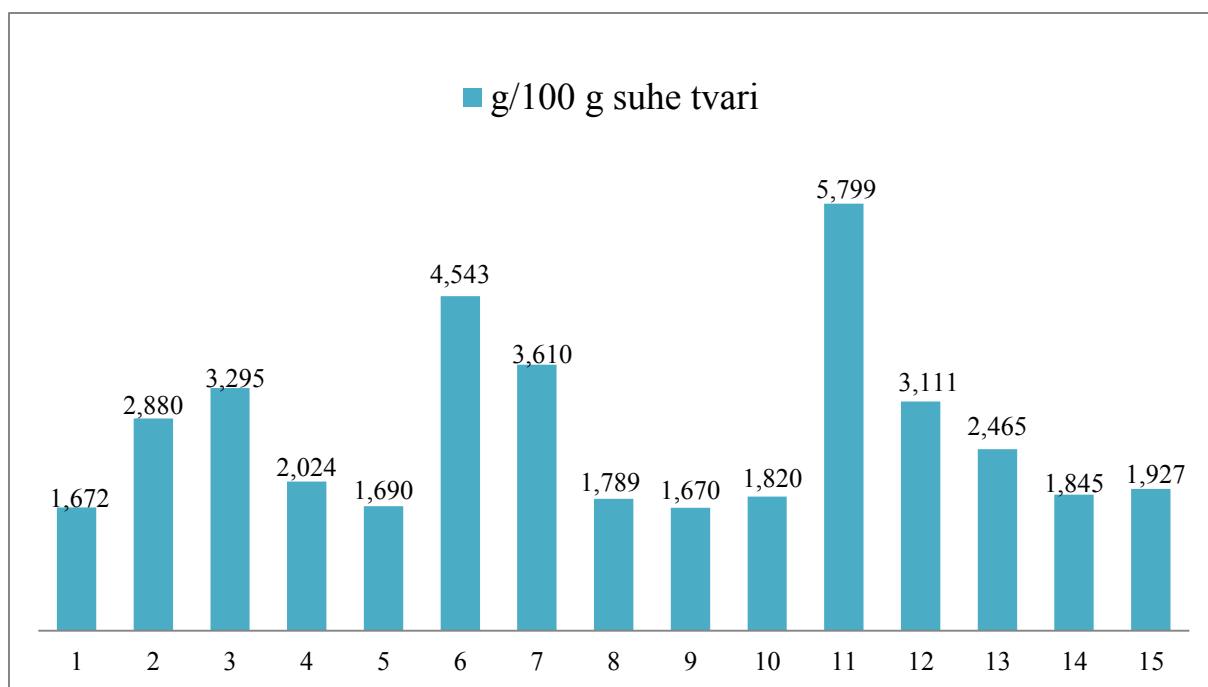
Najveća razlika u udjelima glukoze utvrđena je između uzoraka s lokaliteta 1 i 11 te iznosi 235, 98 %, dok je najmanja između uzoraka s lokaliteta 1 i 9 te iznosi 0,196 %.

Preračunato na suhu tvar (slika 11), udjeli glukoze kreću se od 1,670 g/100g (lokalitet 9) do 5,799 g/100g suhe tvari (lokalitet 11). Nižim vrijednostima ističu se lokaliteti 9 i 1 s udjelima glukoze 1,670 g /100g, odnosno 1,672 g/100g suhe tvari, dok se višim vrijednostima ističu lokaliteti 6 i 11 s udjelima glukoze 4,543 g /100g, odnosno 5,799 g/100g suhe tvari.

Rezultati su u skladu s literaturnim podacima gdje se udio glukoze u brašnu južnoafričkog rogača (Iipumbu, 2008), odnosno turskog rogača (Ayaz i sur., 2007) kreće između 1,5-5 g/100g suhe tvari.

Tablica 5. Udio glukoze u ispitivanim uzorcima

LOKALITET	A	Ast	GLC mmol/L	odvaga g/100g	$\bar{x}$	SD	RSD
1	0,097	0,328	1,644	1,527	1,531	0,006	0,378
	0,098	0,328	1,661	1,536			
2	0,164	0,328	2,780	2,596	2,637	0,058	2,188
	0,169	0,328	2,865	2,677			
3	0,188	0,328	3,187	3,000	3,039	0,054	1,788
	0,195	0,328	3,305	3,077			
4	0,114	0,328	1,932	1,849	1,867	0,026	1,367
	0,115	0,328	1,949	1,885			
5	0,095	0,328	1,610	1,555	1,546	0,013	0,851
	0,093	0,328	1,576	1,537			
6	0,255	0,328	4,323	4,124	4,145	0,030	0,719
	0,254	0,328	4,306	4,166			
7	0,204	0,328	3,458	3,356	3,310	0,065	1,959
	0,201	0,328	3,407	3,264			
8	0,091	0,291	1,739	1,604	1,636	0,045	2,776
	0,095	0,291	1,815	1,668			
9	0,086	0,291	1,643	1,545	1,534	0,014	0,936
	0,085	0,291	1,624	1,524			
10	0,087	0,291	1,662	1,650	1,683	0,046	2,707
	0,092	0,291	1,758	1,715			
11	0,279	0,291	5,331	5,156	5,144	0,017	0,327
	0,276	0,291	5,273	5,132			
12	0,149	0,291	2,847	2,812	2,837	0,036	1,261
	0,154	0,291	2,942	2,862			
13	0,122	0,291	2,331	2,212	2,260	0,067	2,979
	0,126	0,291	2,407	2,307			
14	0,090	0,291	1,720	1,669	1,676	0,011	0,642
	0,092	0,291	1,758	1,684			
15	0,090	0,291	1,720	1,679	1,695	0,023	1,330
	0,090	0,291	1,720	1,711			



Slika 11. Udio glukoze (g) u 100 g suhe tvari

#### 4.6. UDIO FRUKTOZE U ISPITIVANIM UZORCIMA

Rezultati određivanja udjela fruktoze u ispitivanim uzorcima, dobiveni oduzimanjem eksperimentalno dobivenih vrijednosti prirodnog inverta i glukoze, prikazani su u tablici 9. Udio fruktoze u uzorcima brašna rogača kretao se od 4,572 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 10) do 10,819 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 7).

Najveća razlika u udjelima fruktoze utvrđena je između uzoraka s lokaliteta 10 i 7 te iznosi 136,636%, dok najmanja razlika između uzoraka s lokaliteta 5 i 9 te iznosi 0,902 %.

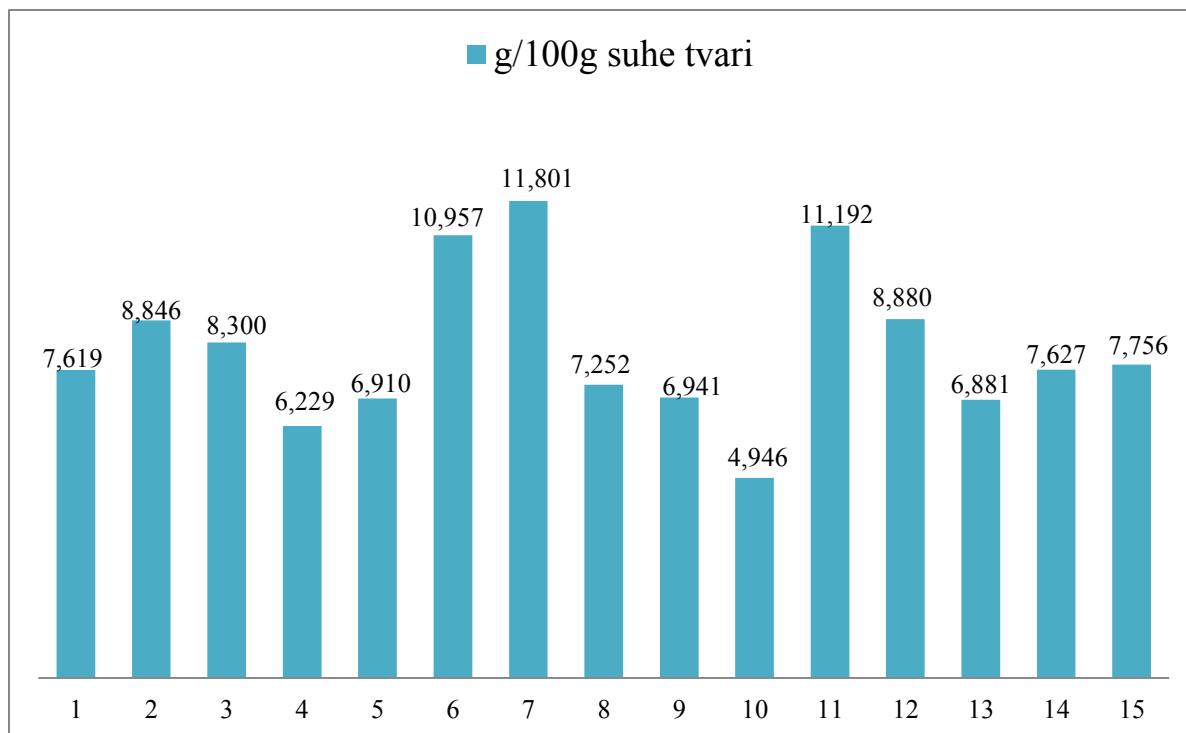
Izračunato na suhu tvar (slika 12), udjeli fruktoze kreću se od 4,946 g/100g (lokalitet 10) do 11,801 g/100g suhe tvari (lokalitet 7).

Dobiveni rezultati nisu posve u skladu s literaturnim podacima, budući da su dosadašnja istraživanja rađena na sortama rogača samoniklog na području Grčke (Vekiari i sur., 2011), Španjolske (Albanell i sur., 1991), Turske (Ayaz i sur., 2007) i Južnoafričke republike (Iipumbu., 2008) pokazala da se udio fruktoze u brašnu rogača prosječno kreće od 1,8 do 5 g/100g originalnog uzorka. Dobivene vrijednosti u ovom radu su značajno više od očekivanih (tablica 9).

Ova razlika u udjelima fruktoze u brašnu rogača s različitih lokacija hrvatskog Jadrana može se objasniti činjenicom da ugljikohidratni sastav pojedinog ploda ovisi o porijeklu, klimatskim faktorima te drugim hortikulturnim značajkama rogača (Iipumbu, 2008).

Tablica 6. Udio fruktoze u ispitivanim uzorcima

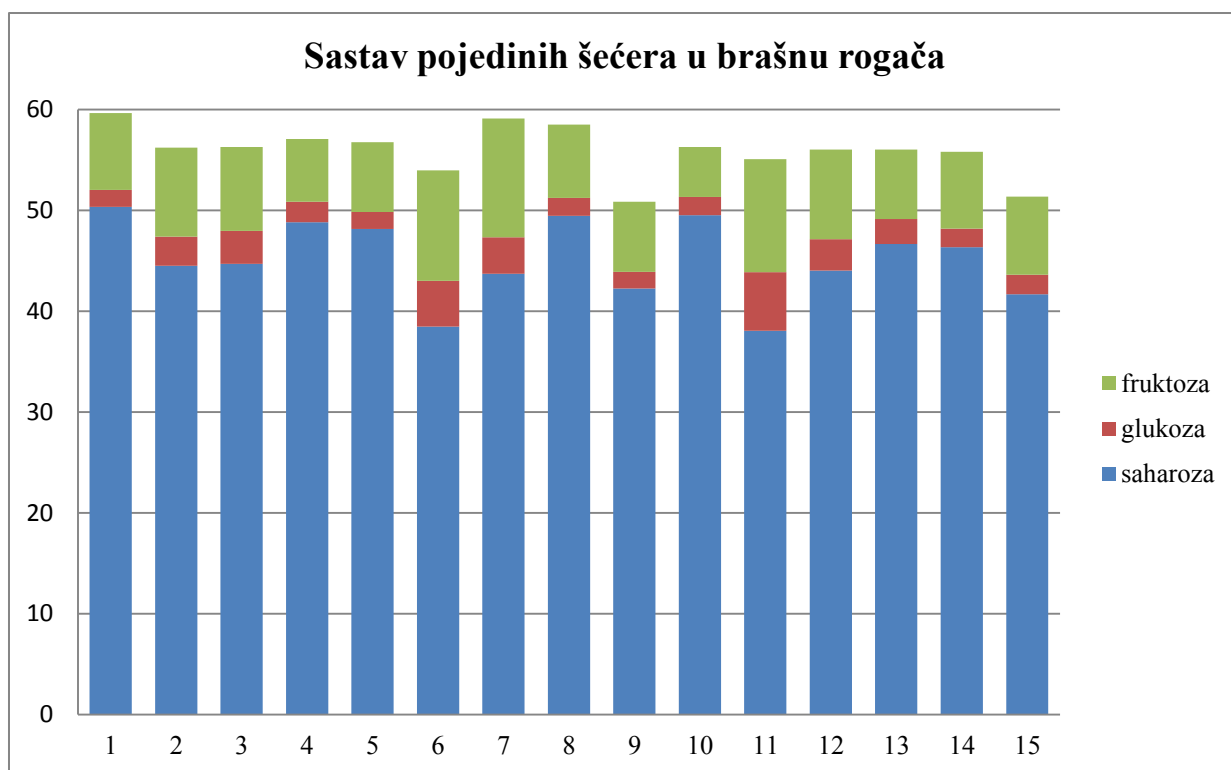
<b>LOKALITET</b>	<b>PRIRODNI INVERT</b>	<b>GLUKOZA</b>	<b>FRUKTOZA</b>
<b>1</b>	8,510	1,531	<b>6,979</b>
<b>2</b>	10,735	2,637	<b>8,098</b>
<b>3</b>	10,693	3,039	<b>7,654</b>
<b>4</b>	7,612	1,867	<b>5,745</b>
<b>5</b>	7,868	1,546	<b>6,321</b>
<b>6</b>	14,140	4,145	<b>9,995</b>
<b>7</b>	14,129	3,310	<b>10,819</b>
<b>8</b>	8,268	1,636	<b>6,632</b>
<b>9</b>	7,912	1,534	<b>6,378</b>
<b>10</b>	6,255	1,683	<b>4,572</b>
<b>11</b>	15,073	5,144	<b>9,929</b>
<b>12</b>	10,934	2,837	<b>8,098</b>
<b>13</b>	8,567	2,260	<b>6,307</b>
<b>14</b>	8,605	1,676	<b>6,929</b>
<b>15</b>	8,515	1,695	<b>6,821</b>



Slika 12. Udio fruktoze (g) u 100 g suhe tvari

#### 4.7. UGLJIKOHIDRATNI SASTAV DALMATINSKOG ROGAČA

Gledajući ugljikohidratni sastav brašna rogača (slika 13) vidljivo je da je saharoza dominantni šećer u analiziranim uzorcima sa udjelom od oko 80 %. Zatim slijedi fruktoza sa 10 do 15 % od šećerne frakcije te na kraju glukoza sa najmanjim postotkom od oko 2-5 % . Dobiveni rezultati nisu u potpunosti u skladu s literaturnim vrijednostima upravo zbog viših vrijednosti fruktoze u odnosu na istraživanja provedena na vrstama rogača porijeklom iz drugim zemalja Mediterana. Kao što je ranije navedeno, ova varijacija u rezultatima se može objasniti činjenicom da sastav pojedinih ugljikohidrata u plodu ovisi o sorti, porijeklu i vremenu dozrijevanja, temperaturi, klimatskim uvjetima, atmosferskoj vlažnosti te stupnju zrelosti. (Iumbu, 2008; Strikić i sur., 2006).



Slika 13. Udio saharoze, glukoze, fruktoze u brašnu rogača

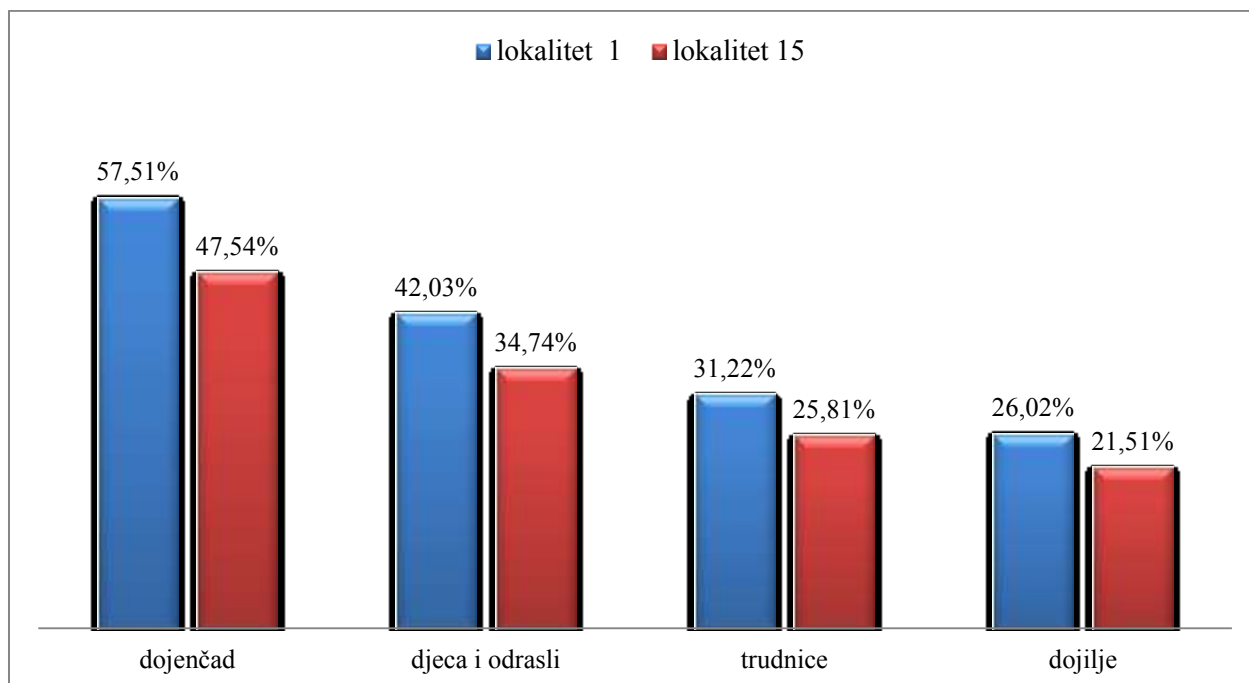
#### 4.8. USPOREDBA REZULTATA S PREPORUČENIM DNEVNIM UNOSOM UGLJIKOHIDRATA

Dnevna potreba za ugljikohidratima varira ovisno o dobi i spolu. Ugljikohidrati čiji je udio određivan u ovom radu pripadaju skupini probavljivih ugljikohidrata koji se u organizmu hidroliziraju do jednostavnih šećera glukoze, fruktoze i galaktoze, zatim se apsorbiraju putem tankog crijeva i metaboliziraju na način da se postigne relativno konstantna koncentracija glukoze u krvi (Jeličić i Lisak, 2012). U ovu skupinu, osim glukoze, fruktoze i saharoze pripada i škrob, ali s obzirom da brašno rogača sadrži vrlo mali postotak škroba,  $0,8 \pm 0,4$  g/100g suhe tvari, (Avallone i sur., 1997) njegov utjecaj na preporučeni dnevni unos je zanemariv. Stoga škrob nije uključen u procjenu zadovoljavanja dnevnih potreba za probavljivim ugljikohidratima konzumacijom 100 g brašna rogača.

RDA (*Recommended Dietary Allowances*) se definira kao vrijednosti unosa esencijalnih nutrijenata adekvatne da zadovolje poznate prehrambene potrebe zdravih ljudi te se odnose prvenstveno na potreban unos nutrijenata kao sastavnog dijela normalne prehrane određene populacije ([www.nap.edu](http://www.nap.edu)).



Iz slike 14 vidljivo je da probavljivi ugljikohidrati u rogaču zadovoljavaju između 47,54 % (lokalitet 15) i 57,51 % (lokalitet 1) ukupnih dnevnih potreba dojenčadi. Kod djece i odraslih te su vrijednosti nešto niže te se kreću od 34,74 do 42,03% ukupnih dnevnih potreba.



Slika 14. Zadovoljavanje dnevnih potreba za probavljivim ugljikohidratima konzumacijom 100 g brašna rogača (www.nap.edu)

U posebnim stanjima kao što su trudnoća ili dojenje organizmu je potrebno više energije za normalno funkcioniranje. Metaboličke promjene koje prate normalnu trudnoću dovode do povišenja bazalnog metabolizma i promjene energetske ravnoteže u organizmu majke. Dodatna energija u trudnoći je potrebna za sintezu novog majčinog i fetalnog tkiva, osigurava energiju za intenzivnije biosintetske aktivnosti te služi za deponiranje masti (Dolić, 2014). Probavljivi ugljikohidrati u brašnu rogača zadovoljavaju od 25,81% (lokalitet 15) do 31,22 % (lokalitet 1) ukupnih dnevnih potreba kod trudnica, odnosno od 21,51% (lokalitet 15) do 26,02 % (lokalitet 1) ukupnih dnevnih potreba kod dojilja.

Iz rezultata ovog istraživanja vidljivo je da rogač sadrži visok udio ugljikohidrata koji daju energiju organizmu svojom razgradnjom. Iako je rogač bogat probavljivim ugljikohidratima, njegovom konzumacijom ne dolazi do naglog porasta razine glukoze u krvi, s obzirom da sadrži i visok udio prehrambenih vlakana i tanina koji usporavaju njezinu apsorpciju. To je osobito važno kod dijabetičara i kod osoba s povišenom razinom kolesterola, inzulinskom rezistencijom te kod pretilih osoba.

## 5. ZAKLJUČAK

U okviru ovog diplomskog rada određen je ugljikohidratni sastav brašna rogača prikupljenog na 15 različitih lokaliteta hrvatskog priobalja.

Rezultati istraživanja pokazali su da se:

- udio vode u uzorcima brašna rogača kreće se od 7,568 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 10) do 12,065 % uzorka (lokalitet 15)
- udio prirodnog inverta u uzorcima brašna rogača kreće se od 6,255 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 10) do 15,073 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 11)
- udio ukupnog inverta u uzorcima brašna rogača kreće se od 47,092 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 15) do 57,061 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 1)
- udio saharoze u uzorcima brašna rogača kreće se od 33,769 g /100g originalnog uzorka (lokalitet 11) do 46,123 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 1)
- udio glukoze u uzorcima brašna rogača kreće se od 1,531 g/100 g originalnog uzorka (lokalitet 1) do 5,144 g/100 g originalnog uzorka (lokalitet 11)
- udio fruktoze u uzorcima brašna rogača kreće se od od 4,572 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 10) do 10,819 g/100g originalnog uzorka (lokalitet 7).

Na temelju navedenog, može se zaključiti da je brašno rogača vrlo dobar izvor ugljikohidrata, a osobito saharoze na koju otpada najveći udio od ukupnih šećera. S obzirom da jedan gram ugljikohidrata izgaranjem daje približno 4 kcal ( Vranešić Bender i Krstev, 2008), ugljikohidrati prisutni u rogačevom brašnu predstavljaju bogat izvor energije za naš organizam.

## 6. LITERATURA

Albanell E, Caja G, Plaixats J. Characteristics of Spanish carob pods and nutritive value of carob kibbles. *Options Méditerranéennes*, 1991, 16, 135-136.

Alebić IJ. Prehrambene smjernice i osobitosti osnovnih skupina namirnica. *MEDICUS*, 2008, 17, 37-46.

Analysis of Carbohydrates, 2007., <http://people.umass.edu>, pristupljeno 28.5.2015.

Avallone R, Plessi M, Baraldi M, Monzani A. Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates and tannins. *J Food Comp Anal*, 1997, 10, 166-172.

Ayaz FA, Torun H, Ayaz S, Correia PJ, Alaiz M, Sanz C, Gruz J, Strnad M. Determination of chemical composition of Anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua*): sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *J Food Quality*, 2007, 30, 1040–1055.

Ayaz FA, Torun H, Glew RH, Bak ZD, Chuang LT, Presley JM, Andrews R. Nutrient Content of Carob Pod (*Ceratonia siliqua* L.) Flour Prepared Commercially and Domestically. *Plant Foods Hum Nutr*, 2009, 64, 286–292.

Batal HE, Hasib A, Ouattmane A, Boulli A, Dehbi F, Jaouad A. Yield and composition of carob bean gum produced from different Moroccan populations of carob (*Ceratonia siliqua* L.). *J Mater Environ Sci*, 2013, 4, 309-314.

Battle I, Tous J. Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops, 17. Rome, International Plants Generic Resources Institute, 1997, str. 9-30.

Bender DV, Krstev S. Makronutrijenti i mikronutrijenti u prehrani čovjeka. *MEDICUS*, 2008, 17, 19-25.

Cui SV. Food carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications. New York, Taylor and Francis group, 2005, str. 2-3.

Crittenden R, Karppinen S, Ojanen S, Tenkanen M, Fagerstrom R, Matto J, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Poutanen K. In vitro fermentation of cereal dietary fibre carbohydrates by probiotic and intestinal bacteria. *J Sci Food Agr*, 2002, 82, 781-789.

Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids, 2002., [www.nap.edu](http://www.nap.edu), pristupljeno 13.6.2015.

Dolić G. Ishrana u trudnoći – preventivni aspekt. *Apollinem medicum et aesculapium*, 2014, 3, 20-24.

Englyst KN, Vinoy S, Englyst HN, Lang V. Glycemic index of cereal products explained by their content of rapidly and slowly available glucose. *Br J Nutr*, 2003, 89, 329-339.

Ilpumbu L. Compositional analysis of locally cultivated carob (*Ceratonia siliqua*) cultivars and development of nutritional food products for a range market sectors, Stellenbosch: Stellenbosch University, Master of science in food science, 2008, 2-43.

Jeličić I, Lisak K. Funkcionalna svojstva polisaharida iz gljiva. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, 2012, 7, 78-84.

Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, Franceschi S, Hamidi M, Marchie A, Jenkins AL, Axelsen M. Glycemic index: overview of implications in health and disease. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76, 266S–73S.

Lambo AM, Öste R, Nyman ME. Dietary fiber in fermented oat and barley  $\beta$ -glucan rich concentrates. *Food Chem*, 89, 2005, 283-293.

Klein R. Hyperglycemia and microvascular and macrovascular disease in diabetes. *Diabetes Care*, 1995, 18, 258-268.

Kolusheva T, Marinova A. Fast complexometric method for analysis of reducing sugars obtained during starch hydrolysis. *J Chem Technol Metall*, 2011, 46, 75-80.

Milek dos Santos L, Tomzack Tulio L, Fuganti Campos L, Dorneles MR, Carneiro Hecke Krüger K. Glycemic response to Carob (*Ceratonia siliqua L*) in healthy subjects and with the in vitro hydrolysis index. *Nutr Hosp*, 2015, 31, 482-487.

Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. Harperova ilustrirana biokemija. Zagreb, Medicinska naklada, 2011, str. 113-120.

O'Sullivan AC. Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*, 1997, 4, 173-207.

Prašek M. Metabolički sindrom - osnovni principi liječenja. *MEDICUS*, 2004, 13, 95 – 102

Samaržija I. Nutritivna i ljekovita svojstva rogača. *Farm Glas*, 2013, 69, 453-461.

Strikić F, Čmelik Z, Perica S. Morfološke osobine dva perspektivna tipa rogača (*Ceratonia siliqua L.*) s otoka Visa. *Pomologia Croatica*, 2006, 245-253.

Stryer L. Biokemija. Zagreb, Školska knjiga, 1991, str. 217-236.

Štalić Z. Energetske i nutritivne potrebe. *MEDICUS*, 2008, 17, 5-17.

Šebečić B, Vedrina Dragojević I. Osnovni sastojci i energetska vrijednost namirnica. Zagreb, 2007, str. 45-72.

Štimac D, Turk T. Debljina i redukcijske dijeta. *MEDICUS*, 2008, 17, 81-85.

Štraus B. Medicinska biokemija, 2, obnov. i dop. izd. Zagreb, Medicinska naklada, 1991, str. 130-154.

Thebaudin, JY, Lefebvre AC, Harrington M, Bourgeois CM. Dietary fibers: Nutritional and technological interest. *Trends in Food Sci Tech*, 1997, 8, 41-48.

Trajković J, Baras J, Mirić M, Šiler S. Analize životnih namirnica, Beograd, Tehnološko-Metalurški fakultet, 1983, str. 115-152.

Vekiari SA, Ouzounidou G, Ozturk M, Görk G. Variation of quality characteristics in Greek and Turkish carob pods during fruit development. *Procedia Soc Behav Sci*, 2011, 19, 750–755.

Vranešić D, Alebić I. Hrana pod povećalom: kako razumjeti i primijeniti znanost o prehrani, Profi I International, Zagreb, 2006, str 40.

## 7. SAŽETAK / SUMMARY

Rogač, zimzelena biljka iz porodice mahunarki (Fabaceae), čija je pradomovina područje Mediterana, poznata je od davnih vremena i kao hrana i kao lijek. Usprkos tome, u našim je krajevima ta „neugledna mahunarka zlata vrijedna“ neopravdano izgubila svoju važnost i značaj. Obzirom da danas postoje vrlo oskudna istraživanja o sortama rogača s područja hrvatskog priobalja, cilj ovog rada bio je odrediti ugljikohidratni sastav rogača samoniklog na području obale i otoka srednje i južne Dalmacije te na taj način afirmirati rogač kao nezaobilazan dio zdrave prehrane.

Udio vode je određen termogravimetrijski, udio prirodnog i ukupnog inverta volumetrijskom metodom po Luff-Schoorlu, a udio glukoze enzimskom GOD-PAP metodom. Udjeli saharoze i fruktoze su određeni računski i to saharoza kao razlika ukupnog i prirodnog inverta, a fruktoza kao razlika prirodnog inverta i glukoze. Rezultati analize pokazuju da u brašnu rogača prevladava saharoza kao dominantni šećer (33,769–46,123g/100g originalnog uzorka), a zatim slijede fruktoza (4,572–10,819g/100g originalnog uzorka) te glukoza čiji je udio iznimno nizak (1.531–5,144g/100g originalnog uzorka).

Iako je rogač bogat ugljikohidratima, njegovom konzumacijom ne dolazi do naglog porasta razine glukoze u krvi s obzirom da sadrži i visok udio prehrambenih vlakana i tanina koji usporavaju njezinu apsorpciju. Navedeno ga svrstava u namirnice niskog glikemijskog indeksa, što ga čini naročito pogodnim za prehranu dijabetičara i osoba s narušenom tolerancijom na glukozu.

Carob, an evergreen plant of the leguminoza family (Fabaceae), whose homeland is Mediterranean, is known since ancient times as a food and as a medicine. Nevertheless, in our region this "unsightly gold worth leguminoza" has unjustifiably lost its importance and significance. Given that there are poor research on varieties of carob in areas of the Croatian part of Adriatic, the aim of this study was to determine the carbohydrate composition of wild carob in the area that includes the islands and the coast of central and southern Dalmatia, and thus affirm the carob as an inevitable product of healthy food.

Water content was determined by thermogravimetry, natural and total invert content by volumetric method Luff-Schorl, glucose by enzymatic glucose GOD-PAP method. Shares of sucrose and fructose are determined by calculating sucrose as the difference between total and natural inverta, and fructose as a difference between natural inverta and glucose. The results show that in carob flour sucrose is the dominant sugar (33,769 – 46,123g/100g original sample), followed by fructose (4,572 – 10,819g/100g original sample) and glucose (1.531 – 5,144 g/100g original sample) whose share is extremely low.

Although carob is carbohydrate rich, it's consummation does not give rise to glucose blood level due to containing high proportion of dietary fibers and tannins, that slow it's absorption. Because of that it's considered food with low glycemc index, making it particularly suitable for diabetics and people with impaired glucose tolerance.



## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Zavod za kemiju prehrane  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### UGLJIKOHIDRATNI SASTAV BRAŠNA ROGAČA S RAZLIČITIH LOKALITETA HRVATSKOG PRIOBALJA

**Darja Žilić**

#### SAŽETAK

Rogač, zimzelena biljka iz porodice mahunarki (Fabaceae), čija je pradomovina područje Mediterana, poznata je od davnih vremena i kao hrana i kao lijek. Usprkos tome, u našim je krajevima ta „neugledna mahunarka zlata vrijedna“ neopravdano izgubila svoju važnost i značaj. Obzirom da danas postoje vrlo oskudna istraživanja o sortama rogača s područja hrvatskog priobalja, cilj ovog rada bio je odrediti ugljikohidratni sastav rogača samoniklog na području obale i otoka srednje i južne Dalmacije te na taj način afirmirati rogač kao nezaobilazan dio zdrave prehrane. Udio vode je određen termogravimetrijski, udio prirodnog i ukupnog inverta volumetrijskom metodom po Luff-Schoorlu, a udio glukoze enzimskom GOD-PAP metodom. Udjeli sahara i fruktoze su određeni računski i to sahara kao razlika ukupnog i prirodnog inverta, a fruktoza kao razlika prirodnog inverta i glukoze. Rezultati analize pokazuju da u brašnu rogača prevladava sahara kao dominantni šećer (33,769–46,123g/100g originalnog uzorka), a zatim slijede fruktoza (4,572–10,819g/100g originalnog uzorka) te glukoza čiji je udio iznimno nizak (1.531–5,144g/100g originalnog uzorka). Iako je rogač bogat ugljikohidratima, njegovom konzumacijom ne dolazi do naglog porasta razine glukoze u krvi s obzirom da sadrži i visok udio prehranbenih vlakana i tanina koji usporavaju njezinu apsorpciju. Navedeno ga svrstava u namirnice niskog glikemijskog indeksa, što ga čini naročito pogodnim za prehranu dijabetičara i osoba s narušenom tolerancijom na glukozu.<sup>4</sup>

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 51 stranica, 14 grafičkih prikaza, 6 tablica i 35 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: rogač, brašno rogača, ugljikohidrati, GOD-PPAP metoda, metoda po Luff-Schoorl-u

Mentor: **Dr. sc. Lovorka Vujić**, viši asistent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Lovorka Vujić**, viši asistent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Irena Vedrina Dragojević**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Željka Vanić**, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: lipanj, 2015

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Department of Food Chemistry  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### CARBOHYDRATES COMPOSITION OF CAROB FLOUR FROM THE CROATIAN COASTLINE

**Darja Žilić**

#### SUMMARY

Carob, an evergreen plant of the leguminoza family (Fabaceae), whose homeland is Mediterranean, is known since ancient times as a food and as a medicine. Nevertheless, in our region this "unsightly gold worth leguminoza" has unjustifiably lost its importance and significance. Given that there are poor research on varieties of carob in areas of the Croatian part of Adriatic, the aim of this study was to determine the carbohydrate composition of wild carob in the area that includes the islands and the coast of central and southern Dalmatia, and thus affirm the carob as an inevitable product of healthy food. Water content was determined by thermogravimetry, natural and total invert content by volumetric method Luff-Schorl, glucose by enzymatic glucose GOD-PAP method. Shares of sucrose and fructose are determined by calculating sucrose as the difference between total and natural inverta, and fructose as a difference between natural inverta and glucose. The results show that in carob flour sucrose is the dominant sugar (33,769 – 46,123g/100g original sample), followed by fructose (4,572 – 10,819g/100g original sample) and glucose (1.531 – 5,144 g/100g original sample) whose share is extremely low. Although carob is carbohydrate rich, it's consumption does not give rise to glucose blood level due to containing high proportion of dietary fibers and tannins, that slow it's absorption. Because of that it's considered food with low glycemic index, making it particularly suitable for diabetics and people with impaired glucose tolerance.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 51 pages, 14 figures, 6 tables and 35 references. Original is in Croatian language.

Keywords: carob, carob flour, carbohydrates, GOD-PAP method, Luff-Schoorl method

Mentor: **Lovorka Vujić, Ph.D.** *Senior Assistant*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Lovorka Vujić, Ph.D.** *Senior Assistant*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Irena Vedrina Dragojević, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Željka Vanić, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 2015.