



**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“ – БИТОЛА
ТЕХНОЛОШКО-ТЕХНИЧКИ ФАКУЛТЕТ – ВЕЛЕС**



Иновативни технологии за храна и нутриционизам

**ВЛИЈАНИЕ НА ВРЕМЕТО НА ФЕРМЕНТАЦИЈА И БРАШНОТО ОД ТИКВА НА
ТЕХНОЛОШКИТЕ СВОЈСТВА, БИОАКТИВНИОТ ПРОФИЛ И
СОДРЖИНАТА НА АКРИЛАМИД ВО КОМПОЗИТЕН ПЧЕНИЧЕН ЛЕБ**

докторски проект

Кандидат
Дурим Алија
број на индекс 13

Ментор
Проф. д-р Даниела Николовска Неделкоска

СОДРЖИНА :

Апстракт	3
1. Вовед	4
2. Преглед на литературата	5
3. Методи и материјали	6
3.1. Материјали и подготовка на брашното од тиква	7
3.2. Подготовка на мешавини од меко пченично брашно/брашно од тиква и производство на леб	7
3.3. Својства на вискозност – <i>RVA (Rapid Visco Analyzer)</i>	7
3.4. Текстура на гел– <i>RVA (Rapid Visco Analyzer)</i>	7
3.5. Скенирање на фреквенција и амплитуда – реолошки особини	8
3.6. Параметри на боја	8
3.7. Подготовка на екстракти за анализа на антиоксидантниот профил и <i>DNS</i>	8
3.8. Определување на вкупни фенолни соединенија	8
3.9. Определување на антиоксидантни и оксидоредуктивни активности	9
3.9.1. <i>DPPH</i> метод	9
3.9.2. <i>ABTS</i> метод	9
3.9.3. <i>FRAP</i> метод	9
3.9.4. Анализа на содржина на редуцирачки шеќери (<i>DNS</i>)	9
3.10. Анализата на акриламидот	10
4. Резултати и дискусија	10
4.1 Својства на вискозност на брашната (пченично и од тиква) и мешавините	10
4.2 Текстура на гел	12
4.3 Скенирање на фреквенција, амплитуда - реолошките особини на гелот	13
4.4 Параметри на боја	15
4.5 . Антиоксидативни карактеристики и содржина на редуцирачки шеќери во примероците	15
4.6 Анализа на акриламид	18
5. Заклучок	20
Благодарност	21
Користена литература	21

ВЛИЈАНИЕ НА ВРЕМЕТО НА ФЕРМЕНТАЦИЈА И БРАШНОТО ОД ТИКВА НА ТЕХНОЛОШКИТЕ СВОЈСТВА, БИОАКТИВНИОТ ПРОФИЛ И СОДРЖИНАТА НА АКРИЛАМИД ВО КОМПОЗИТЕН ПЧЕНИЧЕН ЛЕБ

Дурим Алија

Технолошко-технички факултет Велес,
Универзитет „Св. Климент Охридски“ Битола,
Република Северна Македонија
ORCID iD 0000-0002-5855-8571
durim.alija@uklo.edu.mk

Проф. д-р Даниела Николовска Неделкоска

Технолошко-технички факултет Велес,
Универзитет „Св. Климент Охридски“ Битола
Република Северна Македонија
ORCID iD 0000-0002-8983-0961
daniela.nedelkoska@uklo.edu.mk

Апстракт

Формирањето на акриламид во лебот, како масовно консумиран пекарски производ, претставува значаен здравствен ризик што наметнува потреба од стратегии за намалување на концентрацијата на акриламид, без да се загрози хранливата вредност на производот. Во последниве години, акриламидот стана актуелен проблем за пекарската индустрија и науката за исхрана поради неговите токсични ефекти. Во контекст на овие предизвици, зголемениот интерес за функционалните состојки во храната поттикна истражувања за употребата на брашно од тиква како хранлив подобрувач во производите на база на пченица, при што додавањето брашно од тиква (5-20%) систематски ги модифицираше својствата на мешавината. Во овој пилот проект се испитувани вискозноста (RVA), текстурата на гел, параметрите на боја, вкупните фенолни соединенија (TPC), антиоксидативната активност (DPPH, ABTS, FRAP), редуцирачки шеќери (DNS), и содржината на акриламид по различни времиња на ферментација (1 и 2 часа). Додавањето на брашно од тиква го намали максималниот вискозитет (2444,0 mPa·s на 1859,5 mPa·s), но ја зголеми стабилноста на гел-структурата, со зголемување на еластичниот модул (112,7 Pa на 1151,0 Pa). Параметрите за боја покажуваат затемнување (L од 91,00 во SWF на 84,28 во 20%) и зголемен интензитет на жолто-портокалова нијанса (b од 10,13 во SWF на 27,13 во 20%) со зголемување на уделот на брашното од тиква во мешаното брашно. Биоактивните својства беа значително подобрени, со зголемување на содржината на вкупни фенолни соединенија (TPC) до 0,57 mg/1 g DM и 0,34 GAE mg/1 g DM во водените и етанолните екстракти, соодветно, придружено со зголемена антиоксидантна активност. Оптималните резултати беа постигнати со замена на 5-10% од пченичното брашно со брашно од тиква и двочасовна ферментација, што доведе до подобрени хранливи својства, намалено формирање на акриламид и задржани добри квалитативни карактеристики на лебот.

Клучни зборови: пченично брашно, брашно од тиква, акриламид, ферментација, антиоксидантивните и оксидоредуктивните активности

1. Вовед

Воведувањето на биоактивни супстанции од зеленчук во житните матрици е чест пристап при креирањето на функционални производи и реформулирањето на храната со цел да се произведат поздрави прехранбени опции. Тиквата (*Cucurbita*), од семејството *Cucurbitaceae*, е богата со фенолни соединенија, диететски влакна, каротеноиди и витамини (Хусеин и сор. - Hussain et al., 2021; Хусеин и сор. - Hussain et al., 2023). Висока содржина на бета-каротин во тиквата, придонесува за нејзината портокалова боја, а воедно претставува диететски извор на провитамин А, (Анита и сор. - Anitha et al., 2020; Хатиб и Мухиедин - Khatib & Muhieddine, 2020; Чернијаускиена и сор. - Černiauskienė et al., 2014). Антиоксидативните својства на тиквата помагаат во заштитата од хронични заболувања, а збогатените прехранбени производи со тиква, помагаат во борбата против недостатокот на витамин А (Захра и сор. - Zahra et al., 2020).

Последниве годни тиквата со својата привлечна боја, ниска цена на производство и нутритивни и функционални својства, привлекува интерес за иновативна примена во прехранбени производи (Алија и сор. – Alija et al., 2025b; Гаврил и сор. - Gavril et al., 2024; Шарма и сор. - Sharma et al., 2019; Переира и сор. - Pereira et al., 2020). Брашното од тиква, кое може да потекнува од трите главни структурни дела на плодот: месестиот дел, семките и кората е богат извор на функционални хранливи материи и има широка примена (Шајан и сор. - Shajan et al., 2024). Најчесто се добива од месестиот дел на тиквата и се одликува со низок воден активитет, висока апсорпција и растворливост во вода, висока содржина на каротеноиди и протеини, како и привлечен колориметриски профил (Переира и сор. - Pereira et al., 2020). Додавањето на вакво брашно ги подобрува сензорните својства на лебот, односно изгледот, вкусот и аромата, и ја зголемува неговата хранлива вредност со есенцијални витамини и минерали (Нургожина и сор. - Nurgozhina et al., 2022; Алаши и сор. - Alashi et al., 2018).

Интеграцијата на тиква во рецепти со пченица влијае врз реолошките својства на тестото, како што се еластичноста и растегливоста. Брашното од тиква ја зголемува апсорпцијата на вода, времето за развој на тестото и стабилноста, додека го намалува индексот на толеранција на мешање (Минаровиќова и сор. - Minarovicova et al., 2018; Варјат и сор. - Waryat et al., 2023). Неговите високи концентрации на диететски влакна и фитохемикалии позитивно влијаат на бојата, вкусот и текстурата на финалните производи, правейќи ги попривлечни за потрошувачите. Исто така, го подобрува задржувањето на влагата – важен фактор за прифатливоста на лебот (Дејвис и сор. - Davis et al., 2019).

Комбинацијата на брашно од тиква и пченично брашно го унапредува квалитетот на печените производи, нудејќи подобрени функционални, хранливи и сензорни својства (Алија и сор. – Alija et al., 2025). Брашното од тиква е вредна состојка за иновативни прехранбени производи, но се потребни дополнителни истражувања за оптимизација на формулациите и подобра прифатливост од потрошувачите.

Целта на ова истражување е да ги анализира факторите што влијаат на формирањето на акриламид во пекарските производи со цел негово намалување во готовиот производ. Истражувањето се фокусира на развој на рецепти за производи со редуцирана содржина на акриламид, користејќи природни антиоксидативни додатоци, како што е брашното од тиква во концентрации од 5%, 10%, 15% и 20%, и оптимизација на технолошките процеси, вклучувајќи параметри како времетраењето на ферментацијата. Докторскиот проект вклучува анализа на индикаторите, оптимизација на рецептурите и технолошките процеси за производството на композитен леб со брашно од тиква, при што се следени својства како вискозност,

текстура на гел, боја, фенолни соединенија, антиоксидантни активности, редуцирачки шеќери и акриламид. Истражувањето анализира како брашното од тиква (0-20%) влијае на интеракцијата со водата, вискозноста, стабилноста на гелот, бојата, антиоксидантните својства и нивото на акриламид, со цел да се обезбеди безбедност на храната и минимизирање на здравствените ризици, истовремено зголемувајќи го нутритивниот потенцијал и подобрувајќи ги перформансите на пекарските производи. Прехранбената индустрија треба да воведо стратегии за намалување на формирањето на акриламид без да се компромитира квалитетот на производот, а оваа студија има за цел да го потврди ефектот на продолженото време на ферментацијата (60 и 120 минути) на композитниот леб од пченица и тиква (0-20% брашно од тиква) за намалување на акриламидот, со одржување на прифатливите квалитетни карактеристики и нутритивниот состав. Индикаторите од истражувањето ќе помогнат во формулацијата на нови рецептури за намалување на акриламидот и развој на функционални производи прифатливи за потрошувачите, а истовремено ќе придонесат за зголемување на свеста за ризиците од акриламидот и ќе понудат нови стратегии за контрола на акриламидот во пекарските производи.

2. Преглед на литературата

Акриламидот, класифициран од IARC (1994) како веројатен канцероген, се формира при термичка обработка на храна на високи температури. Токсиколошки студии укажуваат дека по апсорпцијата преку кожата, респираторниот или дигестивниот систем, акриламидот може да предизвика генетски мутации, нарушувања во репродуктивниот систем и оштетувања на нервниот систем (Matoso и сор. - Matoso et al., 2019). Формирањето на акриламид се случува преку Maillard-овиот процес, хемиска реакција помеѓу редуцирачки шеќери и аминокиселини, што влијае на бојата, вкусот и текстурата на печените производи (Жизак и сор. - Zyzak et al., 2003). Аспарагинот е главен прекурсор за формирање на акриламид во термички обработените житни производи (Хамлет и сор. - Hamlet et al., 2008; Сад и сор. - Sadd et al., 2008; Тејмани и сор. - Taeymans et al., 2004). Здравствените ризици од акриламидот се документирани, а Цеби – Себи (2016) нагласува потребата од стратегии за намалување на неговото присуство во храната. Лебот, како основен производ во категоријата храна базирана на житарки, е значаен извор на акриламид поради високата потрошувачка. Процесот на печење го прави лебот подложен на формирање на акриламид, а за неговото формирање се предложени различни механизми (Молахалили-Мејбоди и сор. - Mollakhalili-Meybodi et al., 2021). Количината и односот на прекурсорите, квалитетот на брашното, методите на обработка и условите на обработка (ферментација, температура, време на печење, рН, вода и додатоци) влијаат врз формирањето на акриламид (Сарион и сор. - Sarion et al., 2021). Формирањето е поизразено во кората на лебот, каде што температурата е повисока (Сурдик и сор. – Surdyk et al., 2004; Розен и сор. - Rosén et al., 2004; Финк и сор. - Fink et al., 2006).

За заштита на здравјето на потрошувачите, развојот на стратегии за намалување на акриламидот во лебот е од клучно значење. Главните пристапи за минимизирање на формирањето на акриламид во житни производи се: (а) елиминација или замена на прекурсорите, (б) модификација на условите за обработка и (в) намалување на акриламидот во готовиот производ (Лопез-Морено и сор. - Lopez-Moreno et al., 2023). Неколку истражувања се фокусирале на идентификација и анализа на факторите што влијаат врз формирањето на акриламид во пекарските производи, со цел да се развијат ефикасни стратегии за негово намалување (Форстова и сор. - Forstova et al., 2014). Истражувањата потврдуваат дека антиоксидантите и диететските влакна ја намалуваат содржината на акриламид во лебот (Лопез-Морено и сор. - Lopez-Moreno

et al., 2023; Ридберг и сор. – Rydberg et al., 2003). Продолжената ферментација со квасец, кој го консумира аспарагинот, исто така помага за намалување на акриламидот (Фредрикссон и сор. – Fredriksson et al., 2004; Бенедито и сор. – Benedito et al., 1989). Овие методологии се сумирани во документот на Food Drink Europe (2019). Важно е исто така да се задржат хранливите и функционалните карактеристики на лебот, за да ги задоволи потребите на потрошувачите.

Воведувањето зеленчук, како на пр. тиквата, во формулациите со пченица е растечки тренд за подобрување на хранливиот профил и функционалните својства на производите, истовремено намалувајќи ја содржината на акриламид. Тиквата е познат зеленчук, богата со антиоксиданти кои помагаат во намалувањето на ризикот од рак, кардиоваскуларни заболувања и невролошки нарушувања (Гендов-Мосану и сор. – Ghendov-Mosanu et al., 2023; Хусеин и сор. - Hussain et al., 2021; Ксие и сор. - Xie et al., 2013). Брашното од тиква, богато со каротеноиди, витамини, фенолни соединенија, диететски влакна и минерали, претставува алтернатива на белото брашно во производството на леб (Каили и сор. – Caili et al., 2007; Лељак-Леваниќ и сор. - Leļjak-Levanić et al., 2011; Ќуе и сор. – Que et al., 2008; Јанг и сор. – Yang et al., 2007), подобрувајќи ја текстурата и сензорните својства на производот (Хусеин и сор. – Hussain et al., 2023). Тиквата се користи за развој на функционални прехранбени производи (Шајан и сор. – Shajan et al., 2024; Хусеин и сор. – Hussain et al., 2022). Истражувања покажуваат дека брашното од тиква го намалува обемот и специфичниот волумен на лебот (Хоџа и сор. – Hoxha et al., 2023), а додавањето и до 30% влијае на текстурата, зголемувајќи ја цврстина и жилавоста, а намалувајќи ја кохезивноста (Аукканит и Сиричокворраки – Aukkanit & Sirichokworraki, 2016). Додавањето брашно од тиква исто така го зголемува црвенилото и жолтилото на лебот (Вахионо и сор. - Wahyono et al., 2019), содржината на фенолни соединенија (Розило и сор. - Różyło et al., 2014) и β -каротен (Понџанта и сор. - Pongjanta et al., 2006). Хванг и Парк - Hwang & Park (2022) наведуваат дека брашното од тиква може да го спречи формирањето акриламид преку промена на хемискиот состав на тестото. Продолжената ферментација е ефикасен метод за намалување на акриламидот (Фредрикссон и сор. - Fredriksson et al., 2004) и подобрување на реолошките својства на тестото. Жоу и сор. – Zhou et al. (2022), сугерираат дека ферментацијата со кисело тесто може да ја намали содржината на акриламид во лебот. Хоршидијан и сор. - Khorshidian et al. (2020) покажуваат дека пробиотиците, преку производство на аспарагиназа и елиминација на акриламид со пептидогликан, го намалуваат формирањето на акриламид.

Повикувајќи се на претходно споменатите истражувања, регулативи и стратегии, и земајќи ја предвид целта на оваа докторска теза, во рамките на овој пилот-проект беше одбрана тиквата *Cucurbita maxima* Plomo, традиционално одгледувана во Полошкиот регион, како природен извор на антиоксиданти и корисни нутриенти за намалување на содржината на акриламид во пекарските производи. Целта на овие испитувања беше да се развие пекарски производ со редуцирана содржина на акриламид, истовремено обезбедувајќи ги посакуваните сензорни и нутритивни својства.

3. Методи и материјали

Анализите, презентирани во рамки на овој пилот-проект беа спроведени во истражувачкиот центар „Адаптивен акцелератор за системи за храна“ во Вроцлав, Полска. Сите резултати се прикажани како средна вредност \pm стандардна девијација, а анализата на варијансата (ANOVA) на резултатите беше евалуирана со софтверот Statgraphics Centurion (верзија Centurion XVII.I, StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, САД), при што ANOVA беше изведена по претходна проверка на податоците,

користејќи ниво на значајност од p -вредност $< 0,05$.

3.1. Материјали и подготовка на брашното од тиква

Мекото пченично брашно, односно „контролниот примерок“ (анг. soft wheat flour, SWF), употребено како лебно брашно беше обезбедено од Милница Стоислав, Стоислав, Полска. Според податоците од производителот, неговиот хемиски состав на 100 g изнесуваше: 1,8% масти (вклучувајќи 0,4% заситени масти), 68% јаглехидрати, 12% протеини, 2,9% влакна и 0,64% пепел. За брашното од тиква *Cucurbita maxima* Plomo (анг. pumpkin flour, PF), хемискиот состав беше следниот: 1,21% масти, 8,04% протеини, 45,34% јаглехидрати, 39,27% вкупни диететски влакна (14,37% растворливи и 24,9% нерастворливи диететски влакна) и 6,12% пепел. Месестиот дел од плодот тиква беше исечен на тенки парчиња и дополнително иситнет со рендање и потоа сушен во лабораториска печка на 45 ± 2 °C и релативна влажност од 60-65%. Сувите парчиња тиква беа сомелени во прав во машина за мелење (MILL IKA A11). Крајниот прозивод (брашното од тиква) беше херметички затворен за потребите на оваа студија.

3.2. Подготовка на мешавини од меко пченично брашно/брашно од тиква и производство на леб

За подготовка на мешавините од брашно (5%, 10%, 15%, и 20% брашно од тиква со 95%, 90%, 85%, и 80% пченично брашно, соодветно) се користеше ротирачки миксер (TM100, Vevor, Кина) во времетраење од 10 минути. Содржината на влага беше 10,8% за SWF и варираше од 9,31% до 9,89% за мешавините со брашно од тиква (AACC 44-19.01). Производството на леб се спроведе во лабораториите на истражувачкиот центар во Вроцлав (Алија и Николовска Неделкоска - Alija & Nikolovska Nedelkoska, 2024). Со цел да се оцени влијанието на времето на ферментација беа подготвени две серии на примероци при различно време на ферментација на тестото (60 и 120 min).

3.3. Својства на вискозност – RVA (Rapid Visco Analyzer)

Карактеристиките на вискозност на мешавините беа анализирани со помош на Rapid Visco Analyzer StarchMaster2 (Newport Scientific, Сиднеј, Австралија). За секој примерок, 2,5 g од мешавината беа префрлени во специјалниот контејнер на уредот, а остатокот до вкупна маса од 28,5 g беше дополнет со дестилирана вода како растворувач. Температурниот профил применет за сите мешавини беше следниот: одржување на 50 °C за 2 минути; загревање од 50 °C до 95 °C со брзина од 5 °C/min; задржување на 95 °C за 5 минути; ладење до 50 °C со брзина од 5 °C/min; и конечно, одржување на 50 °C за 4 минути. Примарните параметри на вискозност кои беа измерени вклучуваа максимална вискозност (анг. peak viscosity), минимална вискозност (анг. trough viscosity), крајна вискозност (анг. final viscosity), разлика во вискозност (анг. breakdown viscosity,) и сет-бек вискозност (анг. setback viscosity). Секоја анализа беше извршена во три паралелни примероци.

3.4. Текстура на гел– RVA (Rapid Visco Analyzer)

Геловите беа подготвени врз основа на пастата добиена од постапката опишана во точка 3.3, која послужи како основа за нивното создавање. Добиената паста беше обликувана во цилиндрични калапи со дијаметар од 20 mm и оставена да се стабилизира на 4 °C во текот на 24 часа. Потоа, геловите беа прилагодени на висина од 20 mm и подложени на тест за текстурен профил (ТРА) користејќи текстурен анализатор FC200STAV500/300 (AXIS, Гдањск, Полска). Податоците беа собрани и

обработени со помош на софтверот AXIS FM v.2_18, а секој примерок беше анализиран шест пати за поголема точност.

3.5. Скенирање на фреквенција и амплитуда – реолошки особини

Примероците за мерење на реолошките својства беа подготвени според методот опишан во точката 3.3. Накратко, пастата добиена по циклусот на загревање и ладење беше поставена во пластични контејнери од 3 mL и пренесена на плочата на реометарот после 10 минути одмор. Со користење на паралелна геометрија на плочата (дијаметар од 40 mm) со назабени челични површини, на растојание од 1 mm и температура поставена на 25 °C (управувана од термички контролер KNX2002), беа спроведени динамички осцилаторни тестови на мешавините со помош на реометар Anton Paar MC102 (Anton Paar, Штутгарт, Германија). Фреквентното скенирање беше изведено во опсег од 10 до 1 Hz во рамките на линеарната вискоеластична област при константен притисок (напрегање) од 1 Pa. Вискоеластичното однесување беше анализирано преку модулот на „складирање“ или еластичност (анг. storage or elastic modulus, G') и модулот на „загуба“ или вискозност (анг. loss or viscous modulus, G''). Секоја анализа беше извршена шест пати за секој примерок, обезбедувајќи статистичка сигурност на резултатите.

3.6. Параметри на боја

Серискиот интерфејс RS232 на персонален компјутер беше искористен за поврзување на хромметарот Konica Minolta CR-310 (Рамзи, Њу Џерси, САД) со процесорот за податоци (DP-301) за мерење на бојата. Додатокот CR-A50 за мерење на грануларни примероци беше употребен за анализа на бојата на мешавините. Секоја вредност беше измерена осум пати за да се обезбеди точност и повторливост. Анализираните параметри вклучуваа: C^* (хрома), h° (агол на нијанса), L^* (светлина), a^* (црвенило/зеленило) и b^* (синило/жолтило).

3.7. Подготовка на екстракти за анализа на антиоксидантниот профил и DNS

По 1 g од секој примерок (контрола, 5%, 10%, 15% и 20%, додавање од брашно од тиква) беше екстрахиран со 10 mL раствор од етанол (99,99%) и дестилирана вода. Екстракцијата беше спроведена во тек на еден час со радијална мешалка (MX-RD PRO, ChemLand, Stargard, Полска) при режим на работа 60 вртежи во минута. По екстракцијата, примероците беа центрифугирани (MPW-350, MPW, Варшава, Полска) на 10000 вртежи во минута за 15 минути. Супернатантот, добиен по центрифугирањето беше подложен на анализа за присуство на биоактивни соединенија, вклучувајќи вкупна содржина на полифеноли (TPC), редукутивен антиоксидативен потенцијал (FRAP), вкупен антиоксидативен капацитет (DPPH и ABTS), како и за определување на содржина на редуцирачки шеќери (DNS). За секоја анализа беа подготвени екстракти во дупликат од секој примерок за обезбедување на точност и повторливост.

3.8. Определување на вкупни фенолни соединенија

Реагенсот Folin-Ciocalteu беше употребен за квантифицирање на полифенолни соединенија во примероците, според методот на Јен и Чен - Yen & Chen (1995). За анализата, се додадоа 1,58 mL дестилирана вода и 0,1 mL Folin-Ciocalteu кон екстрактите (0,02 mL), по што реакционата смеса се инкубираше 5 min. Потоа, се додаде 0,3 mL натриум карбонат, примероците се инкубираа 20 min на 38 °C и беше измерена нивната апсорбанца на бранова должина од 765 nm. Стандардна крива за

гална киселина беше користена за пресметка на концентрацијата, изразена како милиграми еквивалент на гална киселина (GAE) на грам сува материја (DM).

3.9. Определување на антиоксидантни и оксидоредуктивни активности

3.9.1. DPPH метод

Антиоксидантниот капацитет (во однос на стабилноста на 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил радикалот (DPPH•)) за примероците беше одреден спектрофотометриски (SEMCO, S91 E, Полска), користејќи го методот на Клименко и сор. – Klymenko et al., (2019), со мали прилагодувања. За оваа анализа, 1 mL метанолен раствор на DPPH (0,1 mM) беше измешан со 0,035 mL екстракт на примерокот. По мешањето, примероците беа оставени да отстојат на собна температура за 20 min, по што беше измерена нивната апсорбанца на бранова должина од 517 nm. Секоја анализа беше извршена во дупликат за да се обезбеди точност и прецизност на резултатите. Резултатите беа изразени како милиграми Trolox еквивалент (TE) на грам сува материја (DM).

3.9.2. ABTS метод

Методот на Сридар и сор. - Sridhar et al., (2019), со мали прилагодувања беше користен за спектрофотометриска (SEMCO, S91 E, Полска) проценка на антирадикалниот потенцијал на примероците против катјонскиот радикал 2,2-азо-бис (3-етилбензотиазолин-6-сулфонска киселина) (ABTS•+). Растворот на калиум персулфат беше применет за да се создаде ABTS•+ раствор, кој потоа беше инкубиран на собна температура (23 °C) на темно, во период од 16 до 24 часа. За тестирање, 0,02 mL од екстрактот на примероците беа додадени во 1,0 mL разреден раствор на ABTS•+ и по 10 секунди, беше измерена апсорбанцата на бранова должина од 734 nm. Секоја анализа беше извршена во дупликат. Резултатите беа изразени како милиграми еквивалент на Trolox (TE) на грам сува материја (DM).

3.9.3. FRAP метод

Методот на Ре и сор. - Re et al., (1999), со мали прилагодувања, беше користен за проценка на редуktivната моќ (способноста за редуција на Fe³⁺ јони) на примероците, користејќи спектрофотометар (SEMCO, S91 E, Полска). Екстрактот од мешавините беа измешани со 1 mL раствор на FRAP, кој содржи 300 µM ацетатен пуфер (pH 3,6), 10 µM TPTZ во 40 µM HCl и 20 µM FeCl₃ пропорција 10:1:1 (v/v). После мешањето, примероците беа оставени да стојат на собна температура за 20 минути, а потоа беше измерена нивната апсорбанца на бранова должина од 593 nm. Секоја анализа беше извршена во дупликат. Резултатите беа изразени како милиграми еквивалент на железо (II) сулфат (FeSO₄·7H₂O) на 1 g сува материја (DM).

3.9.4. Анализа на содржина на редуцирачки шеќери (DNS)

Со користење на редуцирачките способности на шеќерите кон 3,5-динитросалицилна киселина (DNS) беше одредена содржината на редуцирачките шеќери во екстрактите од примероците спектрофотометриски (SEMCO, S91 E, Полска) преку модифициран пристап, како што е опишано од Милер и сор. - Miller et al., (1959). Во процесот, 1 mL DNS реагенс беше додаден на 1 mL од примерокот на мешавините. По мешањето, реакционите смеси беа загреани во врела вода за 5 минути. Апсорбанцата на примероците, откако беа оладени на собна температура, беше измерена на бранова должина од 535 nm. Секоја анализа беше извршена во

дуликат. Резултатите беа изразени во милиграми еквивалент на гликоза (GE) на грам сува материја (DM).

3.10. Анализата на акриламидот

Содржината на акриламид беше одредена со UHPLC-MS/MS, според методологијата на Жао Хуи – Zhao Hui (2019). 1 g примерок беше екстрахиран со 10 mL вода и 10 mL ацетонитрил, а потоа беше додадена смеса QuEChERS (4:1 MgSO₄:NaCl). После центрифугирањето, 1 mL од горниот органски слој беше разреден и филтриран пред анализа. Анализата беше изведена со Agilent 1290 Infinity II LC систем и 6470A масен спектрометар, со порозна графитна јаглеродна колона и мобилна фаза од 0,1% оцетна киселина во вода и метанол. Масената детекција беше изведена со MRM (анг. multiple reaction monitoring), а акриламидот беше квантифициран преку внатрешна калибрација со граница на квантификација LOQ (анг. limit of quantification) 2,5 ng/g со фактор на разредување 5 и 10 ng/g со фактор на разредување 20.

4. Резултати и дискусија

4.1 Својства на вискозност на брашната (пченично и од тиква) и мешавините

Вискозноста е важен параметар за оценка на својствата на разни материјали, особено кај прехранбените производи како што се брашното и тестото. Карактеристиките на вискозност на брашната (SWF и PF) и нивните мешавини се претставени во Табела 1.

Примерок	Максимална вискозност [mPa·s]	Минимална вискозност [mPa·s]	Разлика во вискозност [mPa·s]	Крајна вискозност [mPa·s]	Сет-бек вискозност [mPa·s]	Темп. на вискозност [°C]	Макс. време [s]
SWF	2444.0 ± 4.2 ^c	1386.5 ± 0.7 ^d	1057.5 ± 3.5 ^c	2920.0 ± 12.7 ^c	1533.5 ± 13.4 ^d	87.6 ± 0.53 ^b	6.42 ± 0.40 ^a
5%	2342.5 ± 27.6 ^{de}	1273.0 ± 1.4 ^c	1069.5 ± 29.0 ^c	2706.0 ± 26.9 ^{bc}	1433.0 ± 28.3 ^{cd}	87.7 ± 0.57 ^b	6.00 ± 0.00 ^a
10%	2219.0 ± 25.5 ^{cd}	1146.5 ± 12.0 ^b	1072.5 ± 13.4 ^c	2501.0 ± 38.2 ^b	1354.5 ± 26.2 ^{bc}	87.5 ± 0.48 ^b	5.40 ± 0.57 ^a
15%	1978.5 ± 92.6 ^b	981.0 ± 46.7 ^a	997.5 ± 46.0 ^{bc}	2184.0 ± 84.9 ^a	1203.0 ± 38.2 ^{ab}	87.2 ± 0.04 ^b	5.67 ± 0.00 ^a
20%	1859.5 ± 13.4 ^a	901.0 ± 4.2 ^a	958.5 ± 9.2 ^c	2000.5 ± 36.1 ^a	1099.5 ± 31.8 ^{ab}	87.3 ± 0.04 ^b	5.64 ± 0.05 ^a
PF	2265.0 ± 14.1 ^{cd}	2098.0 ± 89.1 ^c	167 ± 75.0 ^a	3549.5 ± 231.2 ^d	1451.5 ± 142.1 ^{cd}	50.2 ± 0.00 ^a	5.17 ± 2.60 ^a

SWF - меко пченично брашно; PF - брашно од тиква; 5-20% - додавање брашно од тиква; средните вредности во колоните со мали букви статистички значајно се разликуваат (p = 0,05).

Табела 1: Својства на вискозност на брашната (пченично и од тиква) и мешавините

Како што се зголемуваше содржината на PF, параметрите на вискозност открија значајни промени во процесите на желатинизација и ретроградација. Кај контролниот примерок (SWF) беа забележани карактеристични вредности типични за системи базирани на пченица: максимален вискозитет од 2444,0 mPa·s, минимален вискозитет од 1386,5 mPa·s и краен вискозитет од 2920,0 mPa·s. Овие основни параметри го отсликуваат типичното однесување на SWF при желатинизација на скробот, со карактеристично зголемување на волуменот и последователна реорганизација за време на фазата на ладење.

Со зголемувањето на содржината на PF од 5% на 20%, евидентирано е систематско намалување на максималната вискозност од 2342,5 mPa·s на 1859,5 mPa·s, што укажува на редуциран капацитет за бабрење на скробните гранули при процесот на загревање. Овој тренд беше проследен со соодветно намалување на минималната вискозност од 1273,0 mPa·s на 901,0 mPa·s, што сугерира намалена стабилност на набабрените гранули при продолжено термичко оптоварување. Вредностите за разликата во вискозност, дефинирани како разлика меѓу максималниот и минималниот вискозитет, покажуваат мали варијации кај различните мешавини,

со опсег од 958,5 mPa·s до 1072,5 mPa·s. Ова укажува на слична кршливост на гранулитите, и покрај разликите во составот на примероците. Слични резултати беа пријавени од Алјахани - Aljahani (2022), кој забележал слични трендови кај композитното брашно од пченица и жолта тиква.

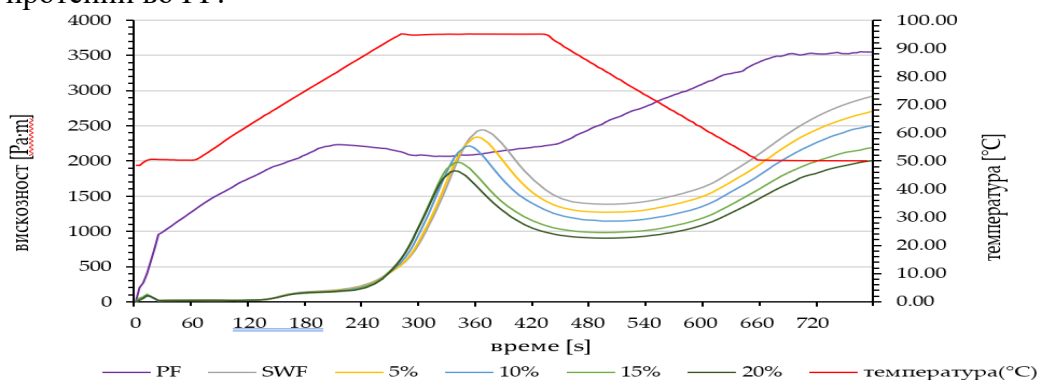
Крајната вискозност покажува тренд на опаѓање од 2920,0 mPa·s кај контролниот примерок до 2000,5 mPa·s при додаток од 20% PF, што укажува на намалена ретроградација на скробот за време на фазата на ладење. Вредностите на сет-бек вискозности, кои го рефлектираат степенот на ретроградација, забележаа постепено намалување од 1533,5 mPa·s на 1099,5 mPa·s со зголемување на содржината на PF. Слични трендови беа пријавени во истражувањето на Алјахани - Aljahani (2022). Интересно е што „температурата на вискозност“ остана релативно стабилна низ сите мешавини (околу 87 °C), додека времето до постигнување на максималната вискозност се намали од 6,42 на 5,64 секунди. Според извештајот на Промсаха на Сакон Након и сор. - Promsakha на Sakon Nakhon et al., (2017), протеинските и липидните фракции во PF се во интеракции со амилозата, што доведува до намалување на вредностите на вискозности. Ова исто така може да се припише на намалувањето на скробната содржина во брашното, намалената способност за набабрување и зголеменото присуство на диететски влакна со зголемувањето на процентот на PF (Еке-Еџиофор и сор. - Eke-Ejiofor, et al., 2021).

PF покажа различно реолошко однесување, карактеризирано со максимален вискозитет од 2265,0 mPa·s, висок минимален вискозитет од 2098,0 mPa·s и ниска вредност на разликата во вискозност од само 167 mPa·s. Овие параметри укажуваат на исклучително стабилна структура на гелот при континуирано загревање. Значително пониската температура на вискозност кај PF (50,2 °C) и високиот краен вискозитет (3549,5 mPa·s) сугерираат фундаментално различни механизми на желатинизација во споредба со системите базирани на пченица, што може да се припише на високата содржина на диететски влакна, особено нерастворливи влакна.

Температурата на вискозност пријавена од Мардија и сор. - Mardiah et al., (2020) и Сламет и сор. - Slamet et al., (2019) е во согласност со овие резултати, додека податоците од Акташ и Герчекаслан - Aktas & Gerçekaslan (2024), за брашно од пулпа од тиква покажуваат значително повисока вредност ($84,00 \pm 0,01$ °C). Профилите на вискозност за мешавините од брашно од тиква и мека пченица се графички претставени на Слика 1.

Контролниот примерок (SWF) покажал типичен профил на желатинизација со максимален вискозитет од околу 2500 mPa·s при 65–70 °C. Со зголемување на PF (5–20%), максималниот вискозитет се намалувал, желатинизацијата била одложена, а примероците покажале намалена стабилност при 95 °C и пониска крајна вискозност, што укажува на редуцирана ретроградација.

PF примерокот покажа првичен (почетен) развој на вискозности и поголема стабилност за време на фазата на задржување, со значително зголемување на вискозности при ладење, што укажува на различни механизми на формирање на мрежеста структура. Овие промени, кои се потврдени со нумеричките податоци во Табела 1, се резултат на интеракциите помеѓу компонентите на PF и скробот, што доведува до нарушување на бабрењето на скробните гранули и формирање на мрежа од влакна и протеини во PF.



Слика бр.1: Профили на вискозитет на брашната од мека пченица и тиква (SWF и PF) и на мешавините од брашна од SWF и PF (5-20% брашно од тиква)

Студијата на Варјат и сор. - Waryat et al. (2023) покажала дека максималната вискозност е под влијание на додавањето на PF, поради неговата содржина на скроб и способност за апсорпција на вода. Зголемена концентрација на PF може да го промени вискозитетот и да ја подобри способноста на тестото да задржи влага, што влијае на неговиот квалитет. Присуството на PF може да создаде постабилна структура на тестото, која ја задржува формата при печењето (Давуди и сор. - Davoudi et al., 2020). Сет-бек вискозноста може да влијае на рокот на траење и свежината на производот (Ге и сор. - Ge et al., 2021).

4.2 Текстура на гел

Параметрите на текстурата на геловите добиени од загреана паста од брашно од тиква и мека пченица, како и нивните мешавини се претставени во Табела 2.

Примерок	Цврстина	Кохезивност	Еластичност	Жилавост	Стабилност
	(анг. Hardness) [N]			(анг. Springiness)	
SWF	0.46 ± 0.01 ^c	0.815 ± 0.04 ^c	0.842 ± 0.01 ^e	0.312 ± 0.01 ^c	0.576 ± 0.02 ^a
5%	0.44 ± 0.01 ^c	0.777 ± 0.00 ^c	0.792 ± 0.00 ^d	0.272 ± 0.01 ^b	0.507 ± 0.02 ^a
10%	0.40 ± 0.06 ^{bc}	0.778 ± 0.02 ^c	0.763 ± 0.02 ^d	0.236 ± 0.04 ^b	0.549 ± 0.02 ^a
15%	0.34 ± 0.04 ^b	0.482 ± 0.10 ^b	0.165 ± 0.03 ^c	0.028 ± 0.01 ^a	0.419 ± 0.10 ^a
20%	0.35 ± 0.02 ^b	0.378 ± 0.02 ^b	0.123 ± 0.00 ^b	0.014 ± 0.00 ^a	0.452 ± 0.09 ^a
PF	0.04 ± 0.00 ^a	0.000 ± 0.00 ^a	0.000 ± 0.00 ^a	0.000 ± 0.00 ^a	1.251 ± 0.15 ^b

SWF - меко пченично брашно; PF - брашно од тиква; 5-20% - додавање брашно од тиква; средните вредности во колоните со мали букви статистички значајно се разликуваат ($p = 0,05$).

Табела 2: Текстура на геловите добиени од RVA

Контролниот примерок од SWF покажа карактеристични текстурални параметри типични за гелови базирани на пченица. Примерокот демонстрираше очекувано вискоеластично однесување, доминантно од желатинизираниот пченичен скроб и интеракциите помеѓу протеините, со измерена цврстина од 0,46 N, кохезивност од 0,815 и еластичност од 0,842. Вредностите за жилавост (0,312 N) и стабилност (0,576) дополнително го потврдија избалансираниот текстурален профил на SWF гелот, што го одразува неговиот капацитет да го задржи структурниот интегритет при механичка деформација. Овие резултати се во согласност со претходно објавените карактеристики на гелови од пченица, каде што скробно-протеинската мрежа значително придонесува за кохезивните и еластични својства на системот (Алјохани – Aljehani, 2022; Велдејоханис Гебремаријам и сор. - Weldeyohanis Gebremariam et al., 2024).

Карактеристиките на текстурата на гелот се модифицираа систематски со зголемувањето на концентрацијата на PF од 5% на 20%. Цврстината се намали постепено, од 0,44 N при 5% инкорпорација на PF до 0,35 N при 20%, што укажува на прогресивно омекнување на гелните структури. Ова намалување на цврстината е во согласност со наодите на Алјохани – Aljehani (2022), кои го поврзуваат повисокото задржување на влага и зголемената содржина на влакна во PF со помека текстура, резултат на нарушување на скробно-протеинската матрица. Дополнително, овој тренд беше придружен со значително намалување на кохезивноста, која опадна од 0,777 при 5% на 0,378 при 20% PF. Ова укажува на намалена внатрешна поврзаност во гелната матрица, најверојатно како резултат на присуството на нескробни полисахариди кои го нарушуваат интегритетот на структурата на гелот (Тедом и сор. - Tedom et al., 2019).

Статистички значајно намалување на еластичноста (од 0,792 на 0,123) со зголемување на содржината на PF укажува на разредување на глутенската мрежа и

намалена способност за еластично обновување (Алјахани - Aljehani, 2022; Махмуд и сор. - Mahmood et al., 2018). Вредностите на еластичност кај мешавините базирани на пченица останале стабилни, од 0,419 до 0,549, што покажува зачувување на еластичното обновување. Намалувањето на жилавоста (од 0,272 N при 5% PF на 0,014 N при 20% PF) рефлектира комбиниран ефект на намалена цврстина и кохезивност, што води до помека текстура (Алјахани - Aljehani, 2022). Текстуралниот профил на PF гел значително се разликуваше, со минимална цврстина (0,04 N) и нула кохезивност и еластичност, што резултираше со нула жилавост. Сепак, тој покажа поголема стабилност (1,251), што може да се припише на уникатните својства на полисахаридите од тиква кои влијаат на формирањето на структурата на гелот (Алјахани – Aljehani, 2022; Махмуд и сор. - Mahmood et al., 2018).

Истражувањето покажа дека зголемувањето на процентот на PF во мешавината предизвикува варијации во цврстината, што често резултира со помека текстура, благодарение на подобреното задржување на влага и високата содржина на диететски влакна во PF. Дополнително, инкорпорацијата на PF значително ја намалува тврдоста на пекарските производи, правејќи ги попривлечни за консумирање. Истражувањата исто така укажуваат дека тестото со определени концентрации на PF покажува пониски вредности на жилавост, што може позитивно да влијае врз сензацијата при консумирање и да го подобри целокупниот текстурален профил на производот (Алјахани – Aljehani, 2022).

4.3 Скенирање на фреквенција, амплитуда - реолошките особини на гелот

Профилите на скенирање на фреквенција и амплитуда на брашно од тиква и мека пченица, како и нивните мешавини и реолошките параметри на геловите се прикажани на Слика 2 и Табела 3.

Примерок	G' [Pa]	a	G'' [Pa]	b	$\tan \delta$	c	$G' = G''$ [Pa]
SWF	112.7 ± 11.5 ^a	0.1876 ± 0.0151 ^c	26.7 ± 1.6 ^a	0.2298 ± 0.0125 ^c	0.2379 ± 0.0103 ^a	0.0418 ± 0.0025 ^d	182.3 ± 5.3 ^d
5%	154.7 ± 5.4 ^a	0.1969 ± 0.0107 ^c	47.5 ± 8.4 ^a	0.2150 ± 0.0100 ^c	0.3064 ± 0.0427 ^{bc}	0.0184 ± 0.0199 ^c	160.2 ± 1.3 ^c
10%	309.0 ± 15.9 ^b	0.1515 ± 0.0054 ^b	109.7 ± 2.1 ^b	0.1570 ± 0.0008 ^b	0.3556 ± 0.0247 ^{bc}	0.0055 ± 0.0045 ^{bc}	122.7 ± 10.8 ^b
15%	497.4 ± 22.5 ^c	0.1215 ± 0.0001 ^a	160.1 ± 14.7 ^b	0.1365 ± 0.0088 ^b	0.3215 ± 0.0154 ^c	0.0149 ± 0.0093 ^c	96.3 ± 16.4 ^{ab}
20%	1151.0 ± 84.6 ^d	0.1071 ± 0.0025 ^a	412.6 ± 47.9 ^c	0.0939 ± 0.0017 ^a	0.3582 ± 0.0153 ^c	-0.0130 ± 0.0042 ^{ab}	120.5 ± 1.3 ^b
PF	21,570.0 ± 1576.9 ^c	0.1205 ± 0.0024 ^a	6362.1 ± 445.6 ^d	0.0979 ± 0.0052 ^a	0.2949 ± 0.0001 ^b	-0.0225 ± 0.0035 ^a	103.151 ± 6.417 ^{ab}

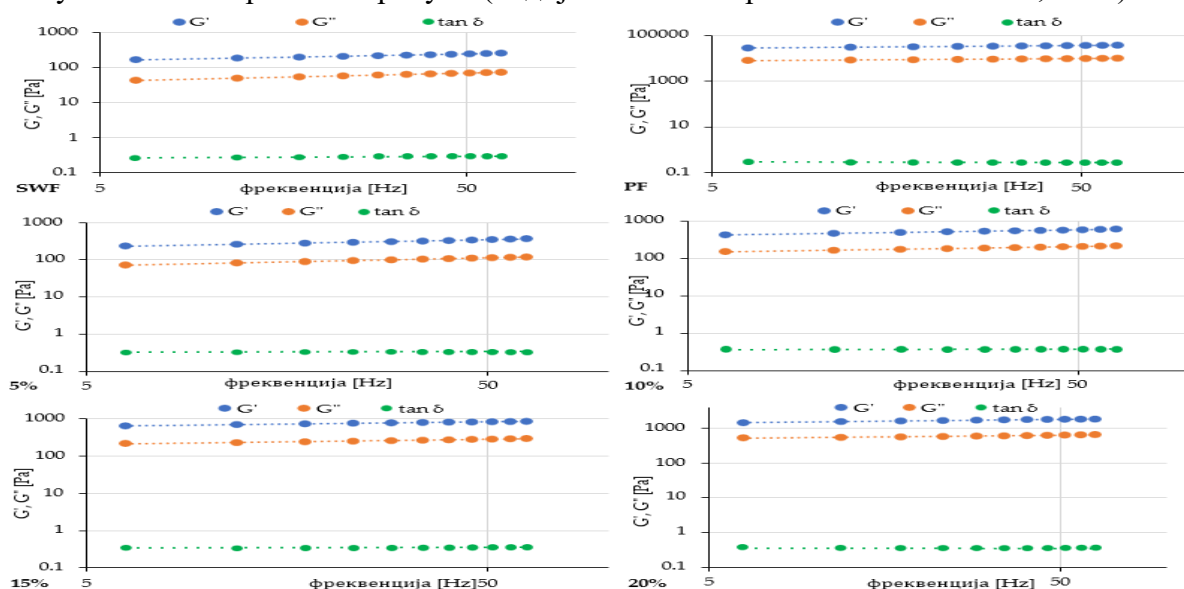
SWF - меко пченично брашно; PF - брашно од тиква; 5-20% - додавање брашно од тиква; средните вредности во колоните со мали букви статистички значајно се разликуваат ($p = 0,05$).

Табела 3. Реолошки својства на брашното од тиква, од мека пченица и нивните мешавини

Реолошките параметри прикажани во Табела 3 обезбедуваат длабински увид во развојот на вискоеластичните својства на мешавините SWF-PF. Контролниот примерок покажа еластичен модул (G') од 112,7 Pa и вискозен модул (G'') од 26,7 Pa, со тангенс δ од 0,2379, што укажува на доминантно еластично однесување. Степенските показатели 'a' (0,1876) и 'b' (0,2298) ја одразуваат умерената зависност од фреквенцијата, додека високиот однос G'/G'' (182,3 Pa) дополнително ги потврдува неговите гел-својства. Овие карактеристики се во согласност со претходно утврдените вискоеластични цврсти однесувања на SWF геловите, што произлегуваат од желатинизираниот скроб и интеракциите на протеините.

Вградувањето на PF значително ги промени вискоеластичните својства на мешавините. Со зголемување на содржината на PF (од 5% на 20%), забележан е пораст на еластичниот (G') и вискозниот (G'') модул, што укажува на зголемена јачина на гел-структурата. Намалувањето на степенските показатели „a“ и „b“ сугерира зголемена стабилност на гел-мрежата. Овој тренд се потврдува со претходни истражувања, кои покажуваат дека додавањето на компоненти богати со влакна, како што е PF, може да

ги зајакне гел-структурите (Махмуд и сор. - Mahmood et al., 2018; Јукиќ и сор. - Jukić et al., 2018). И покрај зголемените модули, стабилните вредности на тангенс делта ($\tan \delta$) укажуваат на избалансиран вискоеластичен карактер дури и при зајакнување на структурата. Намалувањето на односот G'/G'' сугерира зголемена вискозност поради поголемата содржина на PF, што е во согласност со Ма и сор. - Ma et al. (2019), кои забележале промена кон повеќе вискозни својства со додавање на PF. Ова ја одразува поголемата способност за апсорпција на вода на PF, која влијае на хидратацијата и отекувањето на скробните гранули (Бадија-Олмос и сор. - Badia-Olmos et al., 2023).



Слика 2. Профилите на скенирање на фреквенција и амплитуда на мешавините од брашно од тиква/мека пченица. SWF - меко пченично брашно; PF - брашно од тиква; G' - еластичен модул; G'' - вискозен модул; 5-20% - додавање брашно од тиква

Профилите на скенирање на фреквенција и амплитуда (слика 2) дополнително ги потврдуваат нумеричките податоци, каде што зголеменото одвојување помеѓу кривите G' и G'' со зголемената содржина на PF го рефлектира зајакнувањето на гел мрежата. Во самите криви, намалувањето на разликата помеѓу G' и G'' укажува на подобрена структурна стабилност, што сугерира дека инкорпорирањето на PF ја намалува чувствителноста на геловите на фреквентните промени. Независноста на фреквенцијата забележана во PF геловите, карактеризирана со речиси хоризонтални криви, укажува на високо стабилна мрежа, најверојатно поради присуството на полисахариди во PF, кои го подобруваат капацитетот за формирање на гел (Литвинчук и сор. - Litvynchuk et al., 2022). Комбинираната анализа на Табела 3 и Слика 2 открива дека инкорпорирањето на PF прогресивно ја зајакнува структурата на гелот, додека ја подобрува неговата стабилност против фреквентните промени. Ова однесување најверојатно произлегува од уникатниот состав на PF, особено неговата содржина на диететски влакна и протеински карактеристики, кои придонесуваат за поцврсто формирање на мрежата. Овие реолошки промени имаат значително влијание на текстурата на производот и се клучни за разгледување на оптималните процеси при примена во прехранбената индустрија.

Студијата на Ма и сор. - Ma et al. (2019), прикажа слични резултати, со намалување на односот G'/G'' , што сугерира премин кон повискозно однесување при замената на SWF со PF. Бидејќи текстурата е клучен фактор за квалитетот на пекарските производи, оваа промена значајно влијае на нивниот структурен интегритет и текстура. Додавањето на PF во концентрации од 5% до 25% значително ги менува реолошките карактеристики на тестото (Ма и сор. - Ma et al., 2019).

4.4 Параметри на боја

Вредностите на параметарите на боја на брашното од тиква и мека пченица и нивните мешавини се претставени во Табела 4

Примерок	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
SWF	91.00 ± 0.95 ^d	1.03 ± 0.10 ^a	10.13 ± 0.62 ^a	10.18 ± 0.62 ^a	84.3 ± 0.29 ^e
5%	89.23 ± 0.59 ^d	1.98 ± 0.30 ^b	14.28 ± 0.39 ^b	14.41 ± 0.42 ^b	82.14 ± 0.95 ^d
10%	87.00 ± 0.37 ^c	3.43 ± 0.31 ^c	19.98 ± 0.46 ^c	20.27 ± 0.48 ^c	80.27 ± 0.79 ^c
15%	85.55 ± 0.60 ^{bc}	4.00 ± 0.12 ^d	22.60 ± 0.47 ^a	22.95 ± 0.48 ^d	79.96 ± 0.15 ^c
20%	84.28 ± 0.46 ^b	5.68 ± 0.30 ^e	27.13 ± 0.74 ^e	27.71 ± 0.76 ^e	78.18 ± 0.51 ^b
PF	69.50 ± 3.18 ^a	16.05 ± 0.42 ^f	43.50 ± 2.64 ^f	46.37 ± 2.52 ^f	69.71 ± 1.11 ^a

SWF - меко пченично брашно; PF - брашно од тиква; 5-20% - додавање брашно од тиква; средните вредности во колоните со мали букви статистички значајно се разликуваат ($p = 0,05$).

Табела 4. Параметри на боја кај брашната и нивните мешавини

Контролниот примерок (SWF) покажа параметри на боја карактеристични за рафинирано пченично брашно, со висока вредност на светлина (L^*) од 91,00, што укажува на неговиот препознатлив светло бел изглед. Ниската вредност на a^* (1,03) укажува на минимално присуство на црвени нијанси, додека вредноста на b^* од 10,13 покажува суптилна жолта нијанса, типична за пченичното брашно поради преостанатата содржина на каротеноиди. Вредноста на хромата (C^*) од 10,18 дополнително потврдува низок вкупен интензитет на бојата, додека високиот агол на нијанси (h°) од 84,3 покажува доминација на жолтата нијанса во однос на црвената. Овие резултати се согласуваат со претходните истражувања, кои наведуваат дека бојата на пченичното брашно главно се должи на ниската содржина на пигменти (Велдејоханис Гебремаријам и сор. - Weldeyohanis Gebremariam et al., 2024).

Со додавањето на PF (5%-20%), беше забележано затемнување на бојата (намалување на L^* од 89,23 на 84,28), што се припишува на каротеноидите во тиквите. Зголемувањето на a^* (од 1,98 на 5,68) и b^* (од 14,28 на 27,13) укажува на поизразени црвени и жолти нијанси, што е во согласност со природната пигментација на тиквата (Давуди и сор. - Davoudi et al., 2020). Овие промени доведоа до пораст на заситеноста и интензитетот на бојата (од 14,41 на 27,71), а намалувањето на аголот на нијансите (од 82,14 на 78,18) укажува на поместување кон поцрвено-жолти нијанси.

Контролниот PF примерок се карактеризира со пониска вредност на L^* (69,50) и повисоки вредности на a^* (16,05) и b^* (43,50), што резултира со висока заситеност на бојата (46,37) и помал агол на нијансите (69,71). Овој профил е во согласност со научната литература, која интензивната боја на PF ја припишува на неговата висока содржина на каротеноиди, особено β -каротен (Акташ и Герчекаслан - Aktas & Gerçekaslan 2024; Давуди и сор. - Davoudi et al., 2020). Намалувањето на светлината и поместувањето кон црвени и жолти тонови се совпаѓаат со претходни студии (Акташ и Герчекаслан - Aktas & Gerçekaslan 2024).

4.5. Антиоксидативни карактеристики и содржина на редуцирачки шеќери во примероците

Добиените екстракти од примероците од брашното од пченица, композитните брашна и брашното од тиква беа анализирани за да се определи нивниот биоактивен профил. Содржината на редуцирачки шеќер во примероците е прикажана во Табела 5.

Контролниот примерок (SWF) покажа еквивалентна вредност на гликоза од 2,60 ± 0,18 mg/g сува материја, што ја отсликува природната содржина на редуцирачки шеќери карактеристична за пченичното брашно. Ова главно се должи на резидуалната

малтоза и гликоза кои остануваат по процесите на созревање и обработка на зрната. Оваа вредност претставува референтна точка за анализа на влијанието од додавањето на PF врз профилот на редуцирачки шеќери во мешавините.

Примерок	mg GE/g DM
SWF	2.60 ± 0.18 ^a
5%	3.51 ± 0.14 ^b
10%	4.08 ± 0.09 ^c
15%	5.13 ± 0.07 ^d
20%	5.85 ± 0.05 ^e
PF	8.55 ± 0.03 ^f

SWF - меко пченично брашно; PF - брашно од тиква; 5-20% - додавање брашно од тиква; средните вредности во колоните со мали букви статистички значајно се разликуваат ($p = 0,05$).

Табела 5: Содржината на редуцирачките шеќери изразена како еквивалент на гликоза во мешавини од брашно од тиква и меко пченица

Со зголемување на концентрацијата на PF од 5% на 20%, беше забележано континуирано и статистички значајно зголемување на содржината на редуцирачките шеќери. При инкорпорирање од 5%, вредноста на GE се зголеми на $3,51 \pm 0,14$ mg/g DM, што укажува на непосредното влијание од додавањето на PF. Овој тренд продолжи со вредности од $4,08 \pm 0,09$, $5,13 \pm 0,07$ и $5,85 \pm 0,05$ mg/g DM за 10%, 15% и 20% инкорпорирање на PF, соодветно. PF покажа највисока содржина на редуцирачки шеќери со GE вредност од $8,55 \pm 0,03$ mg/g DM, што е повеќе од трипати повисоко во споредба со контролната SWF. Ова значително зголемување го објаснува линеарниот тренд забележан во мешавините и го одразува вродениот состав на јаглехидрати во тиквата, вклучувајќи природни шеќери и потенцијално делумно хидролизирани полисахариди како резултат на сушењето за време на производството на брашно. Ова систематско зголемување на редуцирачките шеќери има значајни импликации за технолошката функционалност и нутритивните својства на финалните производи. Тоа може да влијае врз процесот на ферментација и интензитетот на реакцијата на Maillard.

Студиите покажуваат дека природните шеќери во PF, особено редуцирачките шеќери, придонесуваат за сладоста на печените производи. Сепак, Tedom et al. (2019) утврдиле дека PF може значително да ја намали содржината на шеќер во финалниот производ, што укажува на влијанието на разновидноста и зрелоста на тиквата врз перформансите на производите.

Биоактивната содржина на композитните брашно е претставена во Табела 5.

Примерок	TPC (GAE mg/ g DM)		DPPH (TE mg/ g DM)		ABTS (TE mg/ g DM)		FRAP (FeSO ₄ mM/ g DM)	
	H ₂ O	EtOH	H ₂ O	EtOH	H ₂ O	EtOH	H ₂ O	EtOH
SWF	0.19 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.01 ^a	76.2 ± 3.3 ^a	205.8 ± 7.5 ^a	3399.8 ± 149.1 ^a	754.8 ± 42.8 ^a	0.87 ± 0.03 ^a	5.87 ± 0.12 ^a
5%	0.28 ± 0.02 ^b	0.13 ± 0.00 ^b	110.0 ± 3.5 ^b	415.6 ± 7.8 ^b	3927.7 ± 17.1 ^b	866.0 ± 26.8 ^b	1.06 ± 0.08 ^a	6.54 ± 0.02 ^b
10%	0.42 ± 0.01 ^c	0.21 ± 0.01 ^c	166.7 ± 6.9 ^c	457.7 ± 18.5 ^c	4451.3 ± 10.6 ^c	987.5 ± 13.2 ^c	1.85 ± 0.05 ^a	6.82 ± 0.24 ^{bc}
15%	0.48 ± 0.01 ^d	0.25 ± 0.01 ^d	200.3 ± 3.0 ^d	486.5 ± 1.8 ^c	4928.3 ± 72.6 ^d	1176.1 ± 3.1 ^d	2.98 ± 0.29 ^b	7.35 ± 0.02 ^{cd}
20%	0.57 ± 0.01 ^e	0.34 ± 0.01 ^e	237.6 ± 7.5 ^e	557.6 ± 7.8 ^d	5158.6 ± 112.6 ^d	1389.5 ± 27.4 ^e	3.69 ± 0.14 ^b	7.69 ± 0.06 ^d
PF	1.22 ± 0.02 ^f	0.98 ± 0.03 ^f	752.9 ± 6.7 ^f	1042.7 ± 23.8 ^e	7685.1 ± 136.3 ^e	2484.4 ± 22.8 ^f	20.24 ± 1.00 ^c	32.42 ± 0.51 ^e
примерок	***		***		***		***	
растворувач	***		***		***		***	
примерок × растворувач	***		***		***		***	

SWF - меко пченично брашно; PF - брашно од тиква; 5-20% - додавање брашно од тиква; средните вредности во колоните со мали букви статистички значајно се разликуваат ($p = 0,05$). *** - статистички значајно ($p < 0,001$).

Табела 5. Вкупна содржина на полифенол, антиоксидантна активност и оксидативно-редуцирачка карактеристика на мешавините од брашно од тиква/мека пченица

Контролниот примерок покажа основни параметри карактеристични за пченичното брашно, со содржина на вкупни фенолни соединенија (TPC) од 0,19 GAE

mg/g DM за водени екстракти и 0,05 GAE mg/g DM за етанолни екстракти. Неговата антиоксидантна активност, измерена со DPPH методот, покажа вредности од 76,2 TE mg/g DM и 205,8 TE mg/g DM за водени и етанолни екстракти, соодветно. Вредностите добиени со ABTS тестот беа 3399,8 TE mg/g DM за воден екстракт и 754,8 TE mg/g DM за етанолен екстракт. Оксидативно-редукциониот потенцијал (FRAP) покажа вредности од 0,87 FeSO₄ mM/g DM за водени екстракти и 5,87 FeSO₄ mM/g DM за етанолни екстракти. Овие резултати служат како референтни точки за процена на влијанието од додавањето на PF врз антиоксидантниот профил и редукциониот потенцијал на мешавините.

Со зголемувањето на концентрацијата на PF од 5% на 20%, беа забележани систематски подобрувања кај сите биоактивни параметри. Вредностите на TPC покажаа постојано зголемување кај двата екстракти, достигнувајќи 0,57 mg GAE/1 g DM и 0,34 mg GAE/1 g DM за водените и етанолните екстракти, соодветно, при 20% инкорпорација. Овој тренд беше потврден и во антиоксидантната активност, при што DPPH вредностите се зголемија на 237,6 mg TE/1 g DM и 557,6 mg TE/1 g DM, додека ABTS вредностите достигнаа 5158,6 mg TE/1 g DM и 1389,5 mg TE/1 g DM за водените и етанолните екстракти, соодветно, при истото ниво на додавање. Слично, оксидативно-редуцирачкиот потенцијал (FRAP) покажа значително подобрување, достигнувајќи 3,69 mM FeSO₄/1 g DM и 7,69 mM FeSO₄/1 g DM со 20% додаток на PF.

Контролниот примерок од PF покажа значително повисоки вредности за сите анализирани параметри. Вредностите на TPC достигнаа 1,22 mg GAE/1 g DM и 0,98 mg GAE/1 g DM, додека антиоксидантната активност беше изразена преку DPPH вредности од 752,9 mg TE/1 g DM и 1042,7 mg TE/1 g DM, како и ABTS вредности од 7685,1 mg TE/1 g DM и 2484,4 mg TE/1 g DM за водените и етанолните екстракти, соодветно. Оксидативно-редуцирачкиот потенцијал (FRAP) исто така забележа значително зголемување, достигнувајќи 20,24 mM FeSO₄/1 g DM и 32,42 mM FeSO₄/1 g DM. Овие резултати ја нагласуваат високата биоактивност и потенцијалот на самиот PF.

Спроведена е двонасочна анализа на варијанса (ANOVA) за да се испита ефектот на два фактори – типот на екстракт и количината на додадена суровина од тиква – врз антиоксидантните и редуцирачките својства на SWF, како и вкупната содржина на полифеноли. Резултатите покажаа значајни разлики кај сите параметри. Особено, водените екстракти генерално имаа повисоки вредности за TPC и ABTS мерењата. Од друга страна, етанолните екстракти покажаа супериорни вредности за DPPH и оксидативно-редуцирачкиот потенцијал, што укажува дека секој растворувач преференцијално екстрахира различни биоактивни соединенија. Антиоксидантната активност измерена со ABTS (која ја проценува способноста на антиоксидантите да го неутрализираат катјонскиот радикал ABTS•+) значително зависеше од типот на употребениот екстракт и беше дури 4,5 пати поголема при употреба на етанолна екстракција. Дополнително, кај сите варијанти на тестираната суровина, и за водените и за етанолните екстракти, беа забележани значително повисоки антиоксидантни активности во споредба со контролната суровина.

Ke-Ksue и сор. - Ke-Xue (2011) потврдија дека водениот екстракт од пченица има помала активност против катјонските радикали ABTS•+ во споредба со етанолниот екстракт (Жу и сор. - Zhu et al., 2011). Активноста со методот DPPH беше 2,7 пати поголема кај етанолниот екстракт, кој достигна максимална активност со 70% етанол (Жу и сор. - Zhu et al., 2011). Додавањето PF доведе до значително зголемување на антиоксидантната активност на мешавините (според методот DPPH) и кај етанолниот и кај водениот екстракт, при што поголемо зголемување беше забележано кај водениот екстракт. Сепак, различни резултати беа добиени во студијата на Pinna et al., каде што највисоките вредности за антиоксидантните својства беа потврдени кај водено-етанолни екстракти од тиква со концентрација на етанол која не надминува 50% (Пина

и сор. - Pinna et al., 2024).

Количината на додаден PF значително ги зголеми вредностите на редуktivната активност (FRAP) кај примероците со етанолни екстракти. Кај водената екстракција, тестираните варијанти со 15% и 20% содржина на PF покажаа значително подобрување на редуцирачката активност. Спротивно на тоа, Пина и сор. - Pinna et al. 2024 покажаа дека <50% етанолно-водени екстракти од тиква имаат помала редуktivна активност во споредба со 80:20 метанол-вода екстракти (Пина и сор. - Pinna et al., 2024). Ова се должи на варијациите во биоактивните својства зависно од сортата, фертилизацијата и сезоната на одгледување.

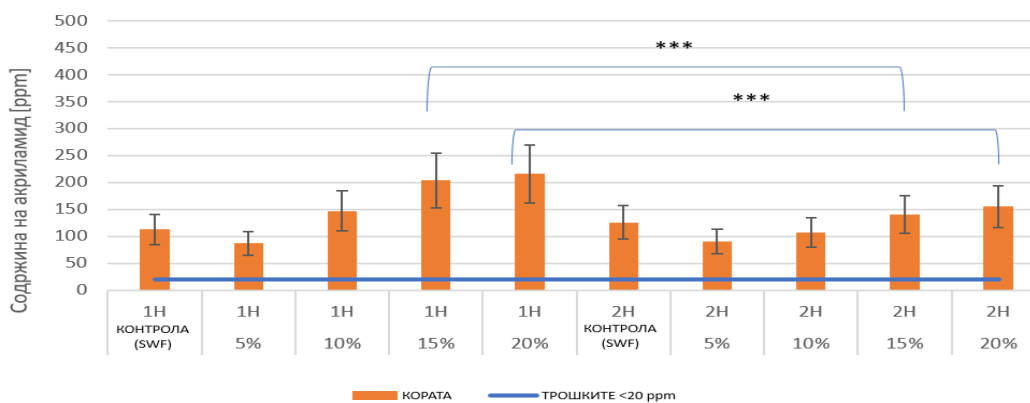
Содржината на полифенолните соединенија извлечени од SWF, измерена со методот на Folin–Ciocâlteu реагенсот, значително зависеше од типот на употребениот екстракт. И кај водените и кај етанолните екстракти, сите варијанти на тестирана суровина покажаа значително поголема содржина на полифенолни соединенија во споредба со контролната суровина. Ова може да се објасни со различната способност на фенолните соединенија да формираат комплекси со јаглехидрати и протеини, кои се екстрахираат во вода и етанол во различен степен, зависно од сортата житарки што се анализира (Боноли и сор. - Bonoli et al., 2004).

Дополнително, нашите резултати покажуваат дека значително повисоки вредности за содржината на полифеноли беа детерминирани во водените за разлика од етанолните екстракти. Овој ефект веројатно се должи на фактот што галната и хлорогената киселина, како главни фенолни соединенија во тиквата, се поларни и подобро се раствораат во вода отколку во алкохол (Батул и сор. - Batool et al., 2022). Зголемувањето на PF значително ја зголемува содржината на полифеноли, при што водените екстракти од сортата “*Yellow Melon*” покажуваат повисока содржина на полифеноли (255,69 mg GAE/100 g DM) во однос на метанол-вода екстракти (232,5 mg GAE/100 g DM) (Кулчински и сор. - Kulczyński et al., 2020). Ова се должи и на присуството на фенолни киселини, како сиригинската киселина (Стријецка и сор. - Strujeska et al., 2023; Костецка-Гугала и сор. - Kostecka-Gugala et al., 2020). PF исто така ја подобрува антиоксидантната активност, како што покажаа Лиубич и сор. - Liubych et al. (2023), со зголемена DPPH активност и антиоксидативен потенцијал. Оваа детална анализа откри дека додавањето на PF не само што значително го подобрува биоактивниот профил на мешавините на начин зависен од концентрацијата, туку и покажува различна ефикасност на екстракција во зависност од поларитетот на растворувачите. Овие наоди имаат важни импликации за хранливата вредност и потенцијалните здравствени придобивки на производите што ги содржат овие мешавини. Дополнително, тие обезбедуваат вреден увид во оптималните услови за екстракција, со цел максимизирање на изолирањето на биоактивните соединенија.

Поврзаноста помеѓу бојата, која потекнува од растителните пигменти кај тиквата, содржината на редуцирачките шеќери и биоактивните својства има значајни импликации врз условите за обработка и карактеристиките на финалниот производ. Ова укажува дека визуелната проценка може да се користи како почетен индикатор за содржината на биоактивни соединенија, додека намалувањето на нивото на шеќери би можело да биде клучен фактор што треба да се земе предвид при поставувањето на параметрите за обработка, со цел да се оптимизираат сензорните атрибути и нутритивните вредности.

4.6 Анализа на акриламид

Содржината на акриламид во композитниот леб при различно време на ферментација е претставен на Слика 3.



Слика 3. Содржина на акриламид во кората и внатрешноста (трошките) на лебот при ферментација од 1 час (1H) и 2 часа (2H). Ознаките 5%, 10%, 15% и 20% се однесуваат на процентот на брашно од тиква во лебот. Податоците се претставени како просек \pm стандардна девијација од три независни мерења

Во примероците со едночасовна ферментација, содржината на акриламид во кората покажува јасен тренд на зголемување со повисоки концентрации на брашно од тиква. Контролните примероци имаат приближно 110 единици, по што следува постепено намалување при додавање брашно од тиква од 5% (90 единици), и зголемување при 10% (150 единици). Значителен скок е забележан кај примероците со 15% и 20% PF, достигнувајќи 200-220 единици, при што овие разлики се статистички значајни (***) . Спротивно на тоа, примероците со двочасовна ферментација генерално покажуваат пониски нивоа на акриламид, со контролни примероци од околу 130 единици и поумерено зголемување при додавање на брашно од тиква. Примероците со 15% и 20% PF при двочасовна ферментација покажуваат значително пониски вредности (140-150 единици) во споредба со едночасовната ферментација, со статистичка значајност (***) што укажува на сигурни разлики. Примероците од внатрешниот дел од лебот константно покажува многу ниски нивоа на акриламид (<20 ppm) во сите примероци, без разлика на времето на ферментација или концентрацијата на брашно од тиква.

Во продолжение е даден преглед на резултатите за одредени параметри, вклучувајќи ја бојата, индексот на потемнување (анг. Browning Index) и содржината на редуцирачки шеќери, со цел да се воспостави корелација со содржината на акриламидот. Овие параметри не се обработени подетално во рамки на овој докторски проект поради ограничувања во обемот (број на страници) на трудот според пропозициите на повикот за конференцијата. Сепак, истите се детално дискутирани и може да се најдат во научниот труд од Алија и сор. – Alija et al., 2025a).

При корелацијата на овие резултати со податоците за лебовите, во параметрите за боја се забележува дека повисоката содржина на акриламид во примероците со едночасовна ферментација (1H) кореспондира со зголемени вредности на a^* (црвенило/зеленило) и намалени вредности на L^* (светлина), што сугерира дека поинтензивниот развој на бојата е поврзан со поголемо формирање на акриламид. Исто така, вредностите на индексот за потемнување покажуваат дека зголемувањето на индексот кај примероците со повисока содржина на брашно од тиква директно корелира со поголемо формирање на акриламид, при што оваа врска е поизразена кај примероците со едночасовна ферментација (1H). Дополнително, првичните резултати за редуцирачките шеќери покажуваат дека повисоката содржина на редуцирачки шеќери во примероците со повеќе брашно од тиква соодветствува на зголемено формирање на акриламид, особено во кората, каде што двата параметри покажуваат слични трендови на зголемување.

Намалувањето на формирањето на акриламид за време на продолжената

ферментација може да се припише на неколку меѓусебно поврзани механизми. Примарниот механизам вклучува потрошувачка на слободен аспарагин, клучен претходник за формирање на акриламид, од клетките на квасецот за време на долгиот процес на ферментација. За време на двочасовниот период на ферментација, *Saccharomyces cerevisiae* активно го метаболизира аспарагинот како извор на азот, ефикасно намалувајќи ја неговата достапност за реакцијата на Maillard за време на печењето. Ова е потврдено со значително пониските нивоа на акриламид (150 ppm наспроти 220 ppm) забележани во лебот со 20% брашно од тиква по 120 минути ферментација во споредба со 60 минути. Продолженото време на ферментација исто така овозможува засилена ензимска активност на аспарагиназата во квасецот, која го хидролизира аспарагинот во аспарагинска киселина и амонијак, со што се намалува содржината на акриламид. Прелиминарните резултати од анализата на редуцирачките шеќери исто така сугерираат дека продолженото време на ферментација доведува до зголемена потрошувачка на шеќери од страна на квасецот, што потенцијално може да го ограничи другиот клучен прекурсор во формирањето на акриламид. Покрај тоа, задржувањето на влагата може да придонесе за намалено формирање на акриламид, влијаејќи на кинетиката на реакцијата на Maillard за време на печењето.

5. Заклучок

Истражувањето на инкорпорацијата на PF во SWF покажа дека оптималните концентрации на PF во мешавините за производство на леб се 5-10%. Овој сооднос овозможува да се задржуваат вискоеластичните својства и да се зголеми хранливата вредност. Концентрации од 15-20% PF во мешавините брашно водат до слабеење на структурата на гелот и намален вискозитет, што може да го наруши волуменот и текстурата на лебот, но овие концентрации се погодни за производи како колачиња и мафини. Промените во бојата при додавање на PF може да бидат корисни за производи од цело зрно, каде потемната боја на внатрешноста на производот е ценета. Зголемената содржина на редуцирачки шеќери и подобрените антиоксидантни својства на мешаните брашна со различен удел на тиква покажаа добри ефекти на процесот на ферментација и рокот на траење на производот, додека истовремено придонесуваат и за хранлива вредност на производот.

Продолженото време на ферментација ефикасно го намалува формирањето на акриламид, додека ги зачувува хранливите придобивки. Збогатувањето со брашно од тиква ги подобрува функционалните својства преку зголемена содржина на вкупни полифеноли и антиоксидантна активност, како што е потврдено со мерењата на DPPH, ABTS и FRAP. За индустриска имплементација, се препорачува стандардизација на двочасовната ферментација и замена од 5-10% со брашно од тиква, со внимателно следење на развојот на бојата и содржината на редуцирачките шеќери како параметри за контрола на квалитетот.

Пилот студијата ја демонстрира успешноста на подобрување на нутритивните профили на производи од пченица преку додавање на PF, со задржување на технолошката функционалност. Истражувањето на леб со редуцирана содржина на акриламид е од значење за здравствените придобивки и безбедноста на храната. Овие наоди ги подобруваат разбирливоста за примена на состојки во производи од житарки и нудат насоки за нови пекарски производи. Идните активности треба да се фокусираат на продолжување на рокот на траење, индустриска апликација, прифаќање од потрошувачи и истражување на други растителни брашна за „антиакриламидни“ ефекти.

Благодарност

Голема благодарност до Проф. Даниела Н. Неделкоска за несебичната помош и стручните сугестии при изработката на оваа пилот докторска теза, како и за идејата дел од истражувањето да се спроведе во Универзитетот во Вроцлав, Полска, со поддршка од PROM Програмата. Благодарност и до Проф. Јоанна Харасум од Полска за поддршката и консултациите при изведувањето на анализите.

Користена литература

- Aktaş, N., & Gerçekaslan, K. E. (2024). Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) pulp flour as a source of dietary fiber: Chemical, physicochemical and technological properties. *Akademik Gıda*, 22(1), 14–22. doi:10.24323/akademik-gida.1460957
- Alashi, A. M., Taiwo, K. A., Oyedele, D. J., Adebooye, O. C., & Aluko, R. E. (2019). Polyphenol composition and antioxidant properties of vegetable leaf-fortified bread. *Journal of Food Biochemistry*, 43(6), e12625. doi:10.1111/jfbc.12625
- Alija, D., Olędzki, R., Nikolovska Nedelkoska, D., Wojciechowicz-Budzisz, A., Xhabiri, G., Pejcz, E., Alija, E., & Harasym, J. (2025). The Addition of Pumpkin Flour Impacts the Functional and Bioactive Properties of Soft Wheat Composite Flour Blends. *Foods*, 14(2), 243. <https://doi.org/10.3390/foods14020243>
- Alija, D., Olędzki, R., Nikolovska Nedelkoska, D., Wojciechowicz-Budzisz, A., Pejcz, E., Jankuloska, V., Xhabiri, G., & Harasym, J. (2025a). Prolonged Proofing Modulates the Acrylamide Content, Nutritional and Functional Characteristics of Pumpkin (*Cucurbita maxima* Plomo) and Soft Wheat Composite Bread. *Foods*, 14(3), 437. <https://doi.org/10.3390/foods14030437>
- Alija, D., Olędzki, R., Nikolovska Nedelkoska, D., Pejcz, E., Wojciechowicz-Budzisz, A., Stamatovska, V., & Harasym, J. (2025b). *Cucurbita maxima* Plomo Peel as a Valuable Ingredient for Bread-Making. *Foods*, 14(4), 597. <https://doi.org/10.3390/foods14040597>
- Alija, D., & Nikolovska Nedelkoska, D. (2024). Технолошко-функционалните својства на суровината во улога на индикатор при оптимизација на процесот за намалување на содржина на акриламид во пекарски производ со тиква. *Годишна конференција на студентите на трет циклус студии (зимска сесија 2024)*. Универзитет „Св. Климент Охридски“ Битола
- Aljahani, A. H. (2022). Wheat-yellow pumpkin composite flour: Physico-functional, rheological, antioxidant potential and quality properties of pan and flat bread. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3432–3439. doi:10.1016/j.sjbs.2022.02.040
- Anitha, Hn, R., & Ashwini. (2020). Effect of mixing pumpkin powder with wheat flour on physical, nutritional and sensory characteristics of cookies. *International Journal of Chemical Studies*, 8(4), 1030–1035. doi:10.22271/chemi.2020.v8.i4g.9737
- Aukkanit, N., & Sirichokworrakit, S. (2016). Effect of dried pumpkin powder on physical, Chemical, and sensory properties of noodle. *Proceedings of Academics World 52nd International Conference*, Los Angeles, USA, 128-132
- Badia-Olmos, C., Laguna, L., Haros, C. M., & Tárrega, A. (2023). Techno-functional and rheological properties of alternative plant-based flours. *Foods (Basel, Switzerland)*, 12(7), 1411. doi:10.3390/foods12071411
- Batool, M., Ranjha, M. M. A. N., Roobab, U., Manzoor, M. F., Farooq, U., Nadeem, H. R., Ibrahim, S. A. (2022). Nutritional value, phytochemical potential, and therapeutic benefits of pumpkin (*Cucurbita* sp.). *Plants*, 11(11), 1394. doi:10.3390/plants11111394
- Benedito, de Barber C., Preito, JA., & Collar, C. (1989). Reversed-phase high-performance liquid chromatography analysis of changes in free amino acids during wheat bread dough fermentation. *Cereal Chemistry*, 66(4): 283-288
- Bonoli, M., Marconi, E., & Caboni, M. F. (2004). Free and bound phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.) flours. *Journal of Chromatography A*, 1057(1–2), 1–12. doi:10.1016/j.chroma.2004.09.024
- Caili, F., Haijun, T., Tongyi, C., Yi, L., & Quanhong, L. (2007). Some properties of an acidic protein-bound polysaccharide from the fruit of pumpkin. *Food Chemistry*, 100(3), 944–947.

- doi:10.1016/j.foodchem.2005.10.049
- Çebi, A. (2016). Acrylamide intake, its effects on tissues and cancer. In *Acrylamide in Food* (pp. 63–91). doi:10.1016/b978-0-12-802832-2.00004-
- Černiauskiene, J., Kulaitiene, J., Danilchenko, H., Jariene, E., Juknevičienė, E., & Juknevičienė, E. (2014). Pumpkin fruit flour as a source for food enrichment in dietary fiber. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(1). doi:10.15835/nbha4219352
- Dastmalchi, F., Razavi, S. H., Faraji, M., & Labbafi, M. (2016). Effect of *Lactobacillus casei-casei* and *Lactobacillus reuteri* on acrylamide formation in flat bread and Bread roll. *Journal of Food Science and Technology*, 53(3), 1531–1539. doi:10.1007/s13197-015-2118-3
- Davis, K. F., Chhatre, A., Rao, N. D., Singh, D., Ghosh-Jerath, S., Mridul, A., DeFries, R. (2019). Assessing the sustainability of post-Green Revolution cereals in India. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(50), 25034–25041. doi:10.1073/pnas.1910935116
- Davoudi, Z., Shahedi, M., & Kadivar, M. (2020). Effects of pumpkin powder addition on the rheological, sensory, and quality attributes of Taftoon bread. *Cereal Chemistry*, 97(5), 904–911. doi:10.1002/cche.10312
- El Khatib, S., & Muhieddine, M. (2020). Nutritional profile and medicinal properties of pumpkin fruit pulp. In *The Health Benefits of Foods - Current Knowledge and Further Development*. doi:10.5772/intechopen.89274
- FDE. (2019). FoodDrinkEurope Acrylamide Toolbox. https://www.fooddrinkeurope.eu/wp-content/uploads/2021/05/FoodDrinkEurope_Acrylamide_Toolbox_2019.pdf
- Fink, M., Andersson, R., Rosén, J., & Åman, P. (2006). Effect of added asparagine and Glycine on acrylamide content in yeast-leavened bread. *Cereal Chemistry*, 83(2), 218–222. doi:10.1094/cc-83-0218
- Forstova, V., Belkova, B., Riddelova, K., Vaclavik, L., Prihoda, J., & Hajslova, J. (2014). Acrylamide formation in traditional Czech leavened wheat-rye breads and wheat rolls. *Food Control*, 38, 221–226. doi:10.1016/j.foodcont.2013.10.022
- Fredriksson, H., Tallving, J., Rosén, J., & Åman, P. (2004). Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. *Cereal Chemistry*, 81(5), 650–653. doi:10.1094/cchem.2004.81.5.650
- Gavril Rațu, R. N., Stoica, F., Lipșa, F. D., Constantin, O. E., Stănciuc, N., Aprodu, I., & Râpeanu, G. (2024). Pumpkin and pumpkin by-products: A comprehensive overview of phytochemicals, extraction, health benefits, and food applications. *Foods (Basel, Switzerland)*, 13(17), 2694. doi:10.3390/foods13172694
- Ge, F., Wu, P., & Chen, X. D. (2021). Evolutions of rheology, microstructure and starch hydrolysis of pumpkin-enriched bread during simulated gastrointestinal digestion. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(11), 6000–6010. doi:10.1111/ijfs.15273
- Ghendov-Mosanu, A., Netreba, N., Balan, G., Cojocari, D., Boestean, O., Bulgaru, V., Sturza, R. (2023). Effect of bioactive compounds from pumpkin powder on the quality and textural properties of shortbread cookies. *Foods (Basel, Switzerland)*, 12(21), 3907. doi:10.3390/foods12213907
- Hamlet, C. G., Sadd, P. A., & Liang, L. (2008). Correlations between the amounts of free asparagine and saccharides present in commercial cereal flours in the United Kingdom and the generation of acrylamide during cooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6145–6153. doi:10.1021/jf703743g
- Hoxha, I., Hoxha, B., Xhabiri, G., Shala, N., Dreshaj, A., & Durmishi, N. (2023). The effect of the addition of pumpkin flour on the rheological, nutritional, quality, and sensory properties of bread. *Ecological Engineering & Environmental Technology*, 24(7), 178–185. doi:10.12912/27197050/169879
- Hussain, A. (2023). Production, characterization, food application and biological study of powder of pumpkin (*Cucurbita maxima*) parts (peel, flesh and seeds). *Pure and Applied Biology*, 12(1). doi:10.19045/bspab.2023.120006
- Hussain, A., Kausar, T., Aslam, J., Quddoos, M. Y., Ali, A., Kauser, S., Korma, S. A. (2023). Physical and rheological studies of biscuits developed with different replacement levels of pumpkin (*Cucurbita maxima*) peel, flesh, and seed powders. *Journal of Food Quality*, 2023, 1–13. doi:10.1155/2023/4362094

- Hussain, A., Kausar, T., Din, A., Murtaza, A., Jamil, M.A., Noreen, S., Iqbal, M.A. (2021). Antioxidant and antimicrobial properties of pumpkin (*Cucurbita maxima*) peel, flesh and seeds powders. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. doi:10.7176/jbah/11-6-05
- Hussain, A., Kausar, T., Din, A., Murtaza, M. A., Jamil, M. A., Noreen, S., ... Ramzan, M. A. (2021). Determination of total phenolic, flavonoid, carotenoid, and mineral contents in peel, flesh, and seeds of pumpkin (*Cucurbita maxima*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(6). doi:10.1111/jfpp.15542
- Hussain, A., Kausar, T., Sehar, S., Sarwar, A., Ashraf, A. H., Jamil, M. A., Majeed, M. A. (2022). A Comprehensive review of functional ingredients, especially bioactive compounds present in pumpkin peel, flesh and seeds, and their health benefits. *Food Chemistry Advances*, 1(100067), 100067. doi:10.1016/j.focha.2022.100067
- Hwang, E.-S., & Park, T. Y. (2022). Effect of adding pumpkin-sweet potato powder on cookie quality characteristics, antioxidant activity, and acrylamide reduction. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 51(12), 1312–1320. doi:10.3746/jkfn.2022.51.12.1312
- International Agency on Research on Cancer (IARC): Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some Industrial Chemicals. IARC, 1994, 389-433.
- Joy, E.-E., Chidinma, V.-U. E., & Akusu, M. O. (2021). Physicochemical and functional properties of pumpkin (*Cucurbita pepo*) pulp flour and acceptability of its inclusion in cake. *Asian Food Science Journal*, 57–71. doi:10.9734/afsj/2021/v20i730321
- Jukić, M., Lukinac, J., Čuljak, J., Pavlović, M., Šubarić, D., & Koceva Komlenić, D. (2019). Quality evaluation of biscuits produced from composite blends of pumpkin seed oil press cake and wheat flour. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(3), 602–609. doi:10.1111/ijfs.13838
- Khorshidian, N., Yousefi, M., Shadnoush, M., Siadat, S. D., Mohammadi, M., & Mortazavian, A. M. (2020). Using probiotics for mitigation of acrylamide in food products: a mini review. *Current Opinion in Food Science*, 32, 67–75. doi:10.1016/j.cofs.2020.01.011
- Klymenko, S., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., & Piórecki, N. (2019). Antioxidant Activities and Phenolic Compounds in Fruits of Cultivars of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.). *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*, (3). Retrieved from <https://agrobiodiversity.uniag.sk/scientificpapers/article/view/306>
- Kostecka-Gugała, A., Kruczek, M., Ledwożyw-Smoleń, I., & Kaszycki, P. (2020). Antioxidants and health-beneficial nutrients in fruits of eighteen *Cucurbita* cultivars: Analysis of diversity and dietary implications. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(8), 1792. doi:10.3390/molecules25081792
- Kulczyński, B., Gramza-Michałowska, A., & Królczyk, J. B. (2020). Optimization of extraction conditions for the antioxidant potential of different pumpkin varieties (*Cucurbita maxima*). *Sustainability*, 12(4), 1305. doi:10.3390/su12041305
- Leljak-Levanić, D., Čipčić Paljetak, H., Uzelac, L., Mihaljević, S., Bauer, N., Krsnik-Rasol, M., Jelaska, S. (2011). Extracellular glycoproteins in embryogenic culture of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). *Food Technol. Biotechnol.*, 49, 156–161.
- Lim, J., Taip, F. S., Ab Aziz, N., Ibrahim, M. N., & How, M. S. (2021). Effects of drying methods on the physicochemical properties of powder made from different parts of pumpkin. *Food Research*, 5(S1), 160–167. doi:10.26656/fr.2017.5(s1).058
- Litvynchuk, S., Galenko, O., Cavicchi, A., Ceccanti, C., Mignani, C., Guidi, L., & Shevchenko, A. (2022). Conformational changes in the structure of dough and bread enriched with pumpkin seed flour. *Plants*, 11(20), 2762. doi:10.3390/plants11202762
- Liubych, V., Novikov, V., Pushka, O., Pushka, I., Cherchel, V., Kyrpa, M., Kolibabchuk, T., Kirian, V., Moskalets, V., & Moskalets, T. (2023). Development of the recipe of pasta with pumpkin flour. *EUREKA: Life Sciences*, (1), 57-65. <https://doi.org/10.21303/2504-5695.2023.002788>
- Lopez-Moreno, C., Fernández-Palacios, S., Ramírez Márquez, P., Ramírez Márquez, S.J., Ramírez Montosa, C., Carlos Otero, J., López Navarrete, J.T., Ponce Ortiz, R., Ruíz Delgado, M.C. (2023). Assessment of Acrylamide Levels and Evaluation of Physical Attributes in Bread Made with Sourdough and Prolonged Fermentation. *Food Science and Engineering*, 5(1), 34-48
- Ma, K., Mahesh, Vineeta, Gk, S., & Ad, S. (2019). Effect of pumpkin flour on the rheological characteristics of wheat flour and on biscuit quality. *Journal of Food Processing &*

- Technology, 10(10). doi:10.35248/2157-7110.19.10.814
- Mahmood, K., Alamri, M. S., Abdellatif, M. A., Hussain, S., & Qasem, A. A. A. (2018). Wheat flour and gum cordia composite system: pasting, rheology and texture studies. *Food Science and Technology*, 38(4), 691–697. doi:10.1590/fst.10717
- Mardiah, M., Fitriandini, S., Hafiani, N., Fitrilia, T., Widowati, S. (2020). Effect of Drying Method on Physicochemical Properties of Pumpkin Flour. *Int. J. Adv. Sci. Technol.*, 29, 3174–3189
- Matoso, V., Bargi-Souza, P., Ivanski, F., Romano, M. A., & Romano, R. M. (2019). Acrylamide: A review about its toxic effects in the light of Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) concept. *Food Chemistry*, 283, 422–430. doi:10.1016/j.foodchem.2019.01.054
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. doi:10.1021/ac60147a030
- Minarovičová, L., Lauková, M., Karovičová, J., & Kohajdová, Z. (2018). Utilization of pumpkin powder in baked rolls. *Potravinárstvo*, 12(1), 195–201. doi:10.5219/887
- Mollakhalili-Meybodi, N., Khorshidian, N., Nematollahi, A., & Arab, M. (2021). Acrylamide in bread: a review on formation, health risk assessment, and determination by analytical techniques. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(13), 15627–15645. doi:10.1007/s11356-021-12775-3
- Nurgozhina, Z., Shansharova, D., Umirzakova, G., Maliktayeva, P., & Yakiyayeva, M. (2022). The influence of grain mixtures on the quality and nutritional value of bread. *Potravinárstvo*, 16, 320–340. doi:10.5219/1767
- Oloyede, F. M., Adebooye, O. C., & Obuotor, E. M. (2014). Planting date and fertilizer affect antioxidants in pumpkin fruit. *Scientia Horticulturae*, 168, 46–50. doi:10.1016/j.scienta.2014.01.012
- Pereira, A. M., Krumreich, F. D., Ramos, A. H., Krolow, A. C. R., Santos, R. B., & Gularte, M. A. (2020). Physicochemical characterization, carotenoid content and protein digestibility of pumpkin access flours for food application. *Food Science and Technology*, 40(suppl 2), 691–698. doi:10.1590/fst.38819
- Pinna, N., Ben Abbou, S., Ianni, F., Angeles Flores, G., Pietercelie, A., Perretti, G., ... Cossignani, L. (2024). Phenolic compounds from pumpkin pulp: Extraction optimization and biological properties. *Food Chemistry: X*, 23(101628), 101628. doi:10.1016/j.fochx.2024.101628
- Pongjanta, J., Naulbunrang, A., Kawngdang, S., Manon, T., & Thepjaikat, T. (2006). Utilization of pumpkin powder in bakery products. *J. Sci. Technology*, 28, 71-79.
- Promsakha na Sakon Nakhon, P., Jangchud, K., Jangchud, A., & Prinyawiwatkul, W. (2017). Comparisons of physicochemical properties and antioxidant activities among pumpkin (*Cucurbita moschata* L.) flour and isolated starches from fresh pumpkin or flour. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(11), 2436–2444. doi:10.1111/ijfs.13528
- Que, F., Mao, L., Fang, X., & Wu, T. (2008). Comparison of hot air-drying and freeze-drying on the physicochemical properties and antioxidant activities of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) flours. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(7), 1195–1201. doi:10.1111/j.1365-2621.2007.01590.x
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*, 26(9-10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Rosén, J., Nyman, A., & Hellenäs, K.-E. (2007). Retention studies of acrylamide for the design of a robust liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for food analysis. *Journal of Chromatography A*, 1172(1), 19–24. doi:10.1016/j.chroma.2007.09.050
- Różyło, R., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Jakubczyk, A., Karas, M., & Różyło, K. (2014). Wheat Bread with Pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) Pulp^{SEP} as a Functional Food Product. *Food technology and biotechnology*, 52(4), 430–438. <https://doi.org/10.17113/ftb.52.04.14.3587>
- Rydberg, P., Eriksson, S., Tareke, E., Karlsson, P., Ehrenberg, L., & Tornqvist, M. (2003). Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7012–7018. <https://doi.org/10.1021/jf034649>
- Sadd, P. A., Hamlet, C. G., & Liang, L. (2008). Effectiveness of methods for reducing acrylamide in bakery products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6154–6161. doi:10.1021/jf7037482
- Sarion, C., Codină, G. G., & Dabija, A. (2021). Acrylamide in bakery products: A review on health

- risks, legal regulations and strategies to reduce its formation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(8), 4332. doi:10.3390/ijerph18084332
- Shajan, A. E., Dash, K. K., Hamid, Bashir, O., & Shams, R. (2024). Comprehensive comparative insights on physico-chemical characteristics, bioactive components, and therapeutic potential of pumpkin fruit. *Future Foods: A Dedicated Journal for Sustainability in Food Science*, 9(100312), 100312. doi:10.1016/j.fufo.2024.100312
- Shajan, A. E., Dash, K. K., Hamid, Bashir, O., & Shams, R. (2024). Comprehensive comparative insights on physico-chemical characteristics, bioactive components, and therapeutic potential of pumpkin fruit. *Future Foods: A Dedicated Journal for Sustainability in Food Science*, 9(100312), 100312. doi:10.1016/j.fufo.2024.100312
- Sharma, P., Kaur, G., Kehinde, B. A., Chhikara, N., Panghal, A., & Kaur, H. (2020). Pharmacological and biomedical uses of extracts of pumpkin and its relatives and applications in the food industry: a review. *International Journal of Vegetable Science*, 26(1), 79–95. doi:10.1080/19315260.2019.1606130
- Slamet, A., Praseptianga, D., Hartanto, R., & Samanhudi. (2019). Physicochemical and Sensory Properties of Pumpkin (*Cucurbita moschata* D) and Arrowroot (*Marantha arundinaceae* L) Starch-based Instant Porridge. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 9(2), 412–421. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.9.2.7909>
- Sridhar, K., & Charles, A. L. (2019). In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. *Food Chemistry*, 275, 41–49. doi:10.1016/j.foodchem.2018.09.040
- Stryjecka, M., Krochmal-Marczak, B., Cebulak, T., & Kiełtyka-Dadasiewicz, A. (2023). Assessment of phenolic acid content and antioxidant properties of the pulp of five pumpkin species cultivated in southeastern Poland. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(10). doi:10.3390/ijms24108621
- Surdyk, N., Rosén, J., Andersson, R., & Aman, P. (2004). Effects of asparagine, fructose, and baking conditions on acrylamide content in yeast-leavened wheat bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(7), 2047–2051. doi:10.1021/jf034999w
- Taeymans, D., Wood, J., Ashby, P., Blank, I., Studer, A., Stadler, R. H., ... Whitmore, T. (2004). A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation, and control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(5), 323–347. doi:10.1080/10408690490478082
- Tedom, W. D., Fombang, E. N., Ngaha, W. D., & Ejoh, R. A. (2019). Optimal conditions for production of fermented flour from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) for infant foods. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 125–136. doi:10.9734/ejnfs/2019/v10i230105
- Wahyono, A., Tifania, A. Z., Kurniawati, E., Kasutjjaningati, Kang, W. W., & Chung, S. K. (2018). Physical properties and cellular structure of bread enriched with pumpkin flour. *IOP Conference Series. Earth and Environmental Science*, 207, 012054. doi:10.1088/1755-1315/207/1/012054
- Waryat, Sunarmani, & Kurniasih, T. (2023). Chemical characteristics and sensory analysis of cake enriched pumpkin flour to improve food security. *E3S Web of Conferences*, 444, 04005. doi:10.1051/e3sconf/202344404005
- Weldeyohanis Gebremariam, F., Tadesse Melaku, E., Sundramurthy, V. P., & Woldemichael Woldemariam, H. (2024). Development of functional cookies form wheat-pumpkin seed based composite flour. *Heliyon*, 10(2), e24443. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e24443
- Xie, J., Wang, C., Zhang, B., Yang, A., Yin, Q., Huang, H., & Chen, M. (2013). Cucurmosin induces the apoptosis of human pancreatic cancer CFPAC-1 cells by inactivating the PDGFR- β signalling pathway. *Pharmacological reports*: PR, 65(3), 682–688. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(13\)71046-6](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(13)71046-6)
- Yang, X., Zhao, Y., & Lv, Y. (2007). Chemical composition and antioxidant activity of an acidic polysaccharide extracted from *Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(12), 4684–4690. <https://doi.org/10.1021/jf070241r>
- Yen, G.-C., & Chen, H.-Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(1), 27–32. doi:10.1021/jf00049a007
- Zahra, N., Nisa, A.-U.-, Hina, S., Masood, S., Kalim, I., Saeed, M. K., ... Arshad, M. (2020).

- Exploration of locally grown yellow and green pumpkin as a potential source of b-carotene and vitamin A. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 63(3), 238–241. doi:10.52763/pjsir.biol.sci.63.3.2020.238.241
- Zhao, H. (2019). Quantification of Acrylamide in a Variety of Food Matrices by LC/MS/MS Triple Quadrupole. *Agilent Technologies Application Note*, 5994-0820EN.
- Zhou, X., Duan, M., Gao, S., Wang, T., Wang, Y., Wang, X., & Zhou, Y. (2022). A strategy for reducing acrylamide content in wheat bread by combining acidification rate and prerequisite substance content of *Lactobacillus* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Current Research in Food Science*, 5, 1054–1060. doi:10.1016/j.crfs.2022.06.005
- Zhu, K.-X., Lian, C.-X., Guo, X.-N., Peng, W., & Zhou, H.-M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, 126(3), 1122–1126. doi:10.1016/j.foodchem.2010.11.144
- Zyzak, D. V., Sanders, R. A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H., Eberhart, B. L., Ewald, D. K., ... Villagran, M. D. (2003). Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4782–4787. doi:10.1021/jf034180i