

# Utjecaj inaktivacije amilolitičkih enzima i stupnja oštećenja škroba na amilografski profil pšeničnog brašna

---

Sermek-Marčec, Ivan

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:015128>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-06**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

**Ivan Sermek - Marčec**

**UTJECAJ INAKTIVACIJE AMIOLITIČKIH ENZIMA I  
STUPNJA OŠTEĆENJA ŠKROBA NA AMILOGRAFSKI  
PROFIL PŠENIČNOG BRAŠNA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj, 2015.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za prehrambene tehnologije  
Katedra za tehnologije prerade žitarice  
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Nastavni predmet:** Tehnologija pekarstva  
**Tema rada** je prihvaćena na IX. sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 23. lipnja 2015.  
**Mentor:** *izv. prof. dr. sc. Marko Jukić*  
**Pomoć pri izradi:** *izv. prof. dr. sc. Daliborka Koceva Komlenić*

### UTJECAJ INAKTIVACIJE AMILOLITIČKIH ENZIMA I STUPNJA OŠTEĆENJA ŠKROBA NA AMILOGRAFSKI PROFIL PŠENIČNOG BRAŠNA

*Ivan Sermek-Marčec, 221-DI*

#### **Sažetak:** (najviše 200 riječi)

Određeni stupanj oštećenja škrobnih granula ima povoljan utjecaj na kvalitetu pekarskih proizvoda, a svako odstupanje od optimalnih vrijednosti može se negativno odraziti na kvalitetu. Zbog toga, poznavanje ovog kvalitativnog parametra može imati veliki značaj u evaluaciji kvalitete brašna. Također, vrlo je malo istraživanja o utjecaju stupnja oštećenja škroba na pouzdanost ostalih metoda za ispitivanje kvalitete pšeničnog brašna.

Zadatak rada bio je ispitati utjecaj inaktivacije amilolitičkih enzima srebrovim nitratom ( $\text{AgNO}_3$ ) i stupnja oštećenosti škroba na ispitivanje uzoraka pšeničnog brašna pomoću Brabenderovog Mikro Visko-Amilografa i metodom broj padanja prema Harberg-Pertenu.

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, može se zaključiti da stupanj oštećenosti škroba i inaktivacija amilolitičkih enzima srebrovim nitratom značajno utječu na parametre amilografskog ispitivanja uzoraka pšeničnog brašna. Povećanjem stupnja oštećenosti škrobnih granula smanjuje se maksimalna viskoznost suspenzije što se može objasniti činjenicom da su oštećene škrobne granule podložnije enzimskom utjecaju što dovodi do brže razgradnje škroba i manjeg intenziteta želatinizacije. Stupanj oštećenosti škroba značajno utječe na određivanje broja padanja samo u slučajevima kad se ispituju uzorci s niskom amilolitičkom aktivnošću jer kod uzoraka s visokom amilolitičkom aktivnošću analiza ne traje dovoljno dugo da bi stupanj oštećenja škrobnih granula značajno utjecao na podložnost enzimskoj razgradnji.

**Ključne riječi:** stupanj oštećenosti škroba, amilografsko ispitivanje

**Rad sadrži:** 32 stranice  
16 slika  
23 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### **Sastav Povjerenstva za obranu:**

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. <i>Daliborka Koceva Komlenić</i> | predsjednik   |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Marko Jukić</i>               | član-mentor   |
| 3. izv. prof. dr. sc. <i>Jurislav Babić</i>            | član          |
| 4. doc. dr. sc. <i>Anita Pichler</i>                   | zamjena člana |

**Datum obrane:** 17. srpnja 2015.

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

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Food Technology  
Subdepartment of grain processing technologies  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

**Scientific area:** Biotechnical sciences  
**Scientific field:** Food technology  
**Course title:** Baking Technology  
**Thesis subject** was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. IX held on June 23, 2015  
**Mentor:** *Marko Jukić*, PhD, associate prof.  
**Technical assistance:** *Daliborka Koceva Komlenić*, PhD, associate prof.

### INFLUENCE OF THE INACTIVATION OF AMYLOLITIC ENZYMES AND THE DEGREE OF STARCH DAMAGE ON THE WHEAT FLOUR AMYLOGRAPHIC PROFILE

*Ivan Sermek-Marčec, 221-DI*

#### Summary: (up to 200 words)

A certain degree of starch damage has a favorable impact on the quality of baked goods, and any deviation from these values can have a negative impact on quality. Therefore, determination of this qualitative parameter can be of great importance in the evaluation of the quality of flour. Also, there is very little research on the impact of the degree of starch damage on the reliability of other methods for testing the quality of wheat flour.

The aim of this work was to explore the influence of the degree of starch damage, as well as inactivation of amylolytic enzymes with silver nitrate ( $\text{AgNO}_3$ ), on the evaluation of wheat flour using the Brabender Micro Visco-Amylograph and Harberg-Perten falling number method.

Based on the obtained results of research carried out in this paper, it can be concluded that degree of starch damage and inactivation of amylolytic enzymes have significant influence on the measured amylographic parameters. Increased degree of starch damage reduces the peak viscosity which can be explained by the fact that the damaged starch granules are more susceptible to enzymatic impact which leads to faster degradation of starch and lower intensity of gelatinization. The degree of starch damage has an influence on the determination of falling number only in cases when testing samples with low amylolytic activity as in samples with high amylolytic activity analysis does not last long enough to take effect of susceptibility of damaged starch granules to enzymes.

**Key words:** Degree of starch damage, Amylographic evaluation

**Thesis contains:** 32 pages  
16 figures  
23 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. <i>Daliborka Koceva Komlenić</i> , PhD, associate prof. | chair person |
| 2. <i>Marko Jukić</i> , PhD, associate prof..              | supervisor   |
| 3. <i>Jurislav Babić</i> , PhD, associate prof.            | member       |
| 4. <i>Anita Pichler</i> , PhD, assistant prof.             | stand-in     |

**Defense date:** July 17, 2015.

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

Zahvaljujem se svojem mentoru izv. prof. dr. sc. Marku Jukiću na predloženoj temi te na strpljenju, pomoći i vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

Najveća hvala mojim roditeljima koji su mi omogućili studiranje i bila potpora u posebnim trenucima. Također zahvaljujem svojim prijateljima tijekom studiranja koji su mi učinili studentske dane vrlo zabavne, nezaboravne i bili uz mene kad mi je to najviše trebalo.

# Sadržaj

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO.....</b>	<b>2</b>
2.1. PŠENICA.....	2
2.1.1. <i>Građa i karakteristike zrna pšenice</i> .....	3
2.2. KEMIJSKI SASTAV I SVOJSTVA PŠENIČNOG BRAŠNA .....	4
2.2.1. <i>Ugljikohidrati</i> .....	4
2.2.2. <i>Proteini</i> .....	5
2.2.3. <i>Lipidi</i> .....	6
2.2.4. <i>Mineralne tvari</i> .....	7
2.2.5. <i>Voda</i> .....	8
2.2.6. <i>Enzimi</i> .....	8
2.3. PŠENIČNI ŠKROB .....	11
2.3.1. <i>Građa škrobne granule</i> .....	12
2.3.2. <i>Želatinizacija i retrogradacija škroba</i> .....	15
2.4. REOLOGIJA .....	17
2.5. OŠTEĆENI ŠKROB.....	19
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>20</b>
3.1. ZADATAK.....	20
3.2. MATERIJALI .....	20
3.3. METODE .....	20
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>24</b>
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>29</b>
<b>6. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>31</b>
<b>7. LITERATURA .....</b>	<b>32</b>

## **1.UVOD**

Pšenica je biljka koja se uzgaja širom svijeta. Globalno, ona je najvažnija zrnata biljka koja se koristi za ljudsku prehranu i druga je na ljestvici ukupne proizvodnje žitarica odmah nakon kukuruza. Svrstana je u porodicu trava, rod *Triticum*, a postoji 27 vrsta. Znanstvenici svakodnevno rade na uzgajanju novih sorti pšenice s boljim prinosom, otpornosti na bolesti i štetnike, prilagodljivije sorte na promjene klime te na vrstu tla na kojem se uzgaja. Najviše se u svijetu uzgajaju meke vrste pšenica, čije se brašno koristi u pekarskoj industriji za proizvodnju kruha, u industriji za proizvodnju tjestenine te jednim dijelom i u konditorskoj industriji.

Meka i tvrda pšenica se razlikuju u nizu svojstava: obliku klasa, osjatosti, formi pljeva, vidljivosti klasnog vretena, popunjenosti vlati, pljevičavosti zrna, obliku i veličini zrna, staklavosti, prema svojstvima klice, bradici, brazdici i drugom.

Kemijski sastav zrna ovisi o sorti pšenice, te o klimatskim i agrotehničkim uvjetima. Pšenično brašno odličan je izvor ukupnih ugljikohidrata, najkorisniji izvor raspoložive energije u ljudskom tijelu. Namirnice dobivene od pšenice umjereni su izvor proteina. One mogu sadržati svih osam esencijalnih aminokiselina, ali ne u odgovarajućim omjerima. Sadrži male količine masti pa njezini proizvodi spadaju u niskomasne namirnice.

Tehnološka kakvoća brašna određuje se ispitivanjem kakvoće lijepka, a ispitivanje reoloških osobina vrši se pomoću farinografa, ekstenzografa, amilografa (mikro visko-amilografa) i alveografa te određivanjem broja padanja po Hagberg-Pertenu.

Škrob je ugljikohidrat, polisaharid opće formule  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . U zelenim biljkama nastaje fotosintezom, a predstavlja najvažniji rezervni ili gradivni sastojak tijekom mirovanja, klijanja i rasta. Zbog jedinstvenih kemijskih i fizikalnih svojstva te nutritivnih vrijednosti škrob predstavlja najvažniji polisaharid u ljudskoj prehrani. Škrob se u prirodi javlja u obliku granula.

Oštećeni škrob nastaje tijekom mljevenja pšenice uslijed mehaničkog smicanja između mlinskih valjaka. Iako sam naziv može navesti na mišljenje da je ovo nepoželjna pojava, određeni stupanj oštećenosti škrobnih granula ima povoljan utjecaj na kvalitetu pekarskih proizvoda. Oštećeni škrob se od neoštećenog razlikuje u dvije bitne značajke: mnogo je podložniji enzimskoj hidrolizi i ima povećanu sposobnost upijanja vode. Neoštećene škrobne granule mogu upiti vode do 40% svoje težine, dok oštećene upijaju i do 200%.



## **2.TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Pšenica

Pšenica je biljka koju čovjek od davnina uzgaja kao vrlo važan izvor hrane. Biljka ima korijen, stabljiku, listove i klas. Svrstana je u porodicu trava, rod *Triticum*, a ima dvadeset i sedam vrsta. Za proizvodnju brašna značajne su tri vrste. Od mekih vrsta pšenica *Triticum aestivum* i *Triticum compactum*, a od tvrdih vrsta *Triticum durum* (Kljusurić, 2000).

*Triticum aestivum* je pšenična vrsta koja se uglavnom koristi za dobivanje pšeničnog brašna. Unutar ove vrste postoje brojne sorte od kojih se proizvode brašna veoma različita po sastavu i osobinama, po kvaliteti i sadržaju bjelančevina, strukturi škrobnih zrnaca itd. Sadrže u prosjeku oko 11 - 13% bjelančevina. Ova pšenična vrsta je najrasprostranjenija.

*Triticum compactum* je vrsta pšenice poznata i kao patuljasta pšenica, ima meku strukturu zrna, a brašno ima niži sadržaj proteina. Od mekih sorti ove vrste pšenice dobiva se brašno za proizvodnju vafla, kolača i lisnatog tijesta.

*Triticum durum* ima tvrdu strukturu zrna staklastog presjeka s visokim sadržajem proteina čija kakvoća ne odgovara za proizvodnju kruha. Mljevenjem daje i preko 60% krupičastog brašna-griza koje se upotrebljava za proizvodnju tjestenine.

Premda su mnoge osobine pšenice uvjetovane sortom, pšenica se najčešće ne prodaje po sortama. Na tržištu se pšenica po kvaliteti grupira u klase.

O kakvoći pšenice ovisi njena upotrebna vrijednost kao sirovine za preradu u mlinske proizvode za ljudsku prehranu. Ona je određena botaničkom pripadnošću, organoleptičkim svojstvima, količinom i vrstom primjesa, sadržajem vode, određenim fizikalnim svojstvima, hektolitarskom težinom, prisutnošću mikroorganizama, kukaca i pesticida (Đaković, 1980.).

Pšenica je velik izvor ugljikohidrata tj. izvor energije, ali i esencijalnih aminokiselina neophodnih za rast i razvoj ljudskog organizma. U prehrani siromašnih zemalja predstavlja glavni izvor energije, čak do 80% energetske potrebe podmiruje se iz žitarica, jer su jeftine za proizvodnju, lako se čuvaju i transportiraju te ne podliježu kvarenju (Ugarčić-Hardi, 1999.)

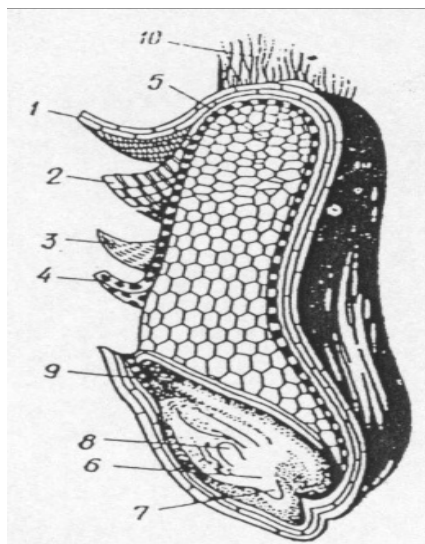
### 2.1.1. Građa i karakteristike zrna pšenice

Zrno pšenice je ovalnog oblika s uzdužnom brazdom usječenom u endosperm. Različite je veličine, ovisno o sorti što može utjecati na izbrašnjanje. Dužina zrna pšenice varira od 4,2 do 8,6 mm, širina može biti od 1,6 do 4,0 mm, a debljina zrna može biti od 1,5 do 3,8 mm. Pšenično zrno se sastoji od tri osnovna dijela: ovojnice ili ljuske, endosperma i klice.

Ovojnica čini od 6 do 26 % ukupne mase zrna. Sastoji se od plodne i sjemene ovojnice ispod kojih se nalazi aleuronski sloj.

Endosperm se sastoji od unutarnjeg i vanjskog dijela ili aleuronskog sloja. Pod endospermom misli se na samu jezgru pšeničnog zrna koja je vrlo bogata škrobom. Škrob se u endospermu nalazi u obliku škrobnih granula oko kojih se nalazi proteinski omotač. O sastavu endosperma ovisi i daljnja kvaliteta brašna (Jelača, 1972.).

Klica čini 1,4 – 3,8% dijela zrna pšenice. Sastoji se od embrijske osi i skuteluma (spremišta hrane. Sadrži 9,45% masti 1,55% fosfolipida, 0,2 do 3,5% reducirajućih šećer, od 4 do 6% rafinoze te je bogata linoleinskom, linolenskom, oleinskom, palmitinskom, stearinskom i lignocerinskom aminokiselinom. Zastupljeni su ksantofolioli sa tragovima karotena (Ugarčić-Hardi, 1999.).



**Slika 1** Presjek pšeničnog zrna (Novaković, 2008)

(1-3. Omotač ploda i sjemena, 4. Aleuronski sloj, 5. Endosperm, 6. Klica, 7. Začetak korjenčića, 8. Pupoljak, 9. Štitić, 10. Brazdica)

## 2.2. Kemijski sastav i svojstva pšeničnog brašna

Pšenično brašno se dobiva mljevenjem očišćene pšenice, korištenjem odgovarajućih strojeva uz što veće iskorištenje i što manji utrošak energije. Mljevenjem pšeničnog zrna ljuska se odvaja od endosperma. Mljevenjem ljuske se dobiju posije, a mljevenjem endosperma brašno. Ovisno o stupnju izmeljavanja pšenice, u brašnu ima manje ili više posija, a u posijama brašna. Što je proces prerade jednostavniji i ekonomičniji, a kakvoća pšenice bolja, to je i brašno bolje kakvoće (Kljusurić, 2000.).

Kvaliteta brašna je skup karakteristika koja predstavlja svojstva krajnjeg proizvoda. Najvažnija definicija kvalitete brašna je da se iz njega mogu proizvesti prihvatljivi krajnji proizvodi po prihvatljivoj cijeni uz zadane uvjete te da im je kvaliteta ujednačena. U pekarstvu se koristi izraz "jačina brašna" koji označuje kvalitetu brašna. Pod tim pojmom obično se podrazumijeva količina i kvaliteta proteina koji se nalaze u brašnu. Postoje brojne metode za utvrđivanje jačine brašna, ali je neophodno prethodno utvrditi odnos svake od izmjerenih vrijednosti prema komponentama brašna (Kljusurić, 2000.).

Kemijski sastav brašna ovisi o sorti pšenice te o klimatskim i agrotehničkim uvjetima. Pšenično brašno bogato je ugljikohidratima te sadrži umjerene količine proteina. Sadrži svih osam esencijalnih aminokiselina. Zbog male količine masti proizvodi od pšeničnog brašna spadaju u niskomasne namirnice. Bijelo brašno dobar je izvor mangana, selena, fosfora i tiamina dok u manjim količinama sadrži željezo, cink, niacin, pantotensku kiselinu i folate.

Kemijski sastav pšeničnog brašna:

- anorganski: voda, mineralne tvari
- organski: proteini, škrob, šećeri, celuloza, pentozani, lipidi, enzimi, vitamini, pigmenti.

### 2.2.1. Ugljikohidrati

U zelenim dijelovima biljaka iz jednostavnih spojeva, ugljičnog dioksida i vode, stvara se šećer glukoza. Ovaj proces poznat je pod imenom fotosinteza. Za ovaj proces potrebna je energija u obliku svjetla i klorofil kao katalizator. Glukoza (groždani šećer) je jedinica od koje je izgrađen škrob, celuloza i glikogen, ima važnu ulogu u biološkim procesima, ona je najčešći i najvažniji monosaharid u prirodi. U prirodi se vjerojatno nalazi više jedinica glukoze od bilo koje druge organske skupine. Glukoza je jednostavni šećer te jedan od glavnih produkata fotosinteze. Koristi se kao izvor energije kod životinja i biljaka. Prirodni oblik (D – glukoza ) ima primjenu i u prehrambenoj industriji.

Glukoza ( $C_6H_{12}O_6$ ) je heksoza, tj. monosaharid koji sadrži 6 ugljikovih atoma. Sadrži aldehidnu (-CHO) grupu, zbog toga se još svrstava u grupu šećera aldoza. Glukoza je univerzalno gorivo u biologiji.

Tisuće molekula glukoze mogu se povezati u mnogo veće molekule celuloze, koje sačinjavaju potporni skelet biljke. Molekule glukoze mogu se također spojiti u velike molekule škroba na nešto drugačiji način. Škrob se tada uskladišti u sjemenki kako bi poslužio kao hrana novoj biljci koja raste.

Škrob, a kod nekih životinja i celuloza, cijepaju se u prvobitne jedinice glukoze tijekom probave. Glukoza krvlju dolazi u jetru gdje se ponovno vežu u glikogen ili životinjski škrob. Po potrebi se glikogen može ponovno cijepati u glukozu, a ona se transportira krvlju u tkiva i tamo konačno oksidira u ugljični dioksid i vodu uz otpuštanje energije koja je primarno prihvaćena kao sunčeva svjetlost. Jedan dio glukoze prerađuje se u masti, jedan dio reagira sa spojevima koji sadrže dušik stvarajući aminokiseline, a one se povezuju u bjelančevine, od kojih se pretežno sastoji životinjski organizam.

Glukoza, celuloza, škrob i glikogen su organski spojevi poznati pod imenom ugljikohidrati. Ugljikohidrati sačinjavaju najveći dio naše hrane, tako npr. jedemo žito u kojem ima škroba, hranimo životinje od kojih dobivamo meso i mast, opet potrebne za jelo. Oblačimo se u celulozu u obliku pamuka, lana i umjetne svile – rejonu i celuloznog acetata. Gradimo kuće i pokućstvo od celuloze u obliku drva.

Tako nas ugljikohidrati doslovno opskrbljuju onim što trebamo za život: hranom, odjećom i skrovištem (Morrison – Boyd, 1973.).

### **2.2.2. Proteini**

Proteini ili bjelančevine su organske makromolekule sastavljene od velikog broja aminokiselina. Proteini brašna djelomično su topljivi u vodi (oko 15%). To su albumini (oko 9%) i u nešto manjoj količini globulini. Albumini koaguliraju pri zagrijavanju, a globulini se talože u odsustvu soli. Ostatak od oko 85% ukupnih bjelančevina brašna je netopljiv u vodi.

Kod ispiranja tijesta sa vodom dolazi do otapanja u vodi topljivih bjelančevina te one odlaze sa vodom, pritom netopljive bjelančevine upijaju određenu količinu vode te formiraju gumastu elastičnu masu zvanu "vlažni lijepak" ili gluten, koji sadrži oko 2/3 vode.

Gluten se sastoji od dvije frakcije bjelančevina na koje se može razdvojiti: niskomolekularnu frakciju sa molekulskom masom od 20 000 do 100 000 koja se naziva gliadin i na

visokomolekularnu frakciju sa molekulskom masom od 150 000 do 300 000 i više zvanu glutenin. Ove dvije frakcije u gluten dolaze u približno istim omjerima.

Glijadini su velika grupa proteina sličnih svojstava. Sa vodom daje ekstremno gustu, ljepljivu i žitku masu koja se lako razilazi. Utječe na na prinos zapremnine tijesta i smatra se da su odgovorni za kohezivnost tijesta.

Glutenini su heterogena grupa proteina. U izoliranom stanju pokazuje viskoelastične osobine i sa vodom formira čvrstu, žilavu i slabo rastezljivu masu. Glutenini određuju razvoj i vrijeme zamjesa tijesta te su odgovorni za elastičnost tijesta.

Za određivanje strukture protein gluten koristi se gel – elektroforeza (škrobni gel ili poliakrilamidni gel) ili Na – dodecil sulfat elektroforeza.

U dodiru s vodom, pri zamjesivanju tijesta dolazi do intenzivnog upijanja vode i solvatacije polipeptidnih lanaca, uslijed toga agregati bubre i poprimaju karakteristične plastično – elastične osobine, koje bjelančevine u suhom stanju ne posjeduju. Zahvaljujući sposobnosti međusobnog umrežavanja, pojedini agregati koji su se nalazili u zamjesivanju tijesta, stvaraju jednu neprekidnu makromolekularnu mrežu, razvijenu po čitavoj masi tijesta. Ovako nastali nabubrela konglomerat pšeničnih bjelančevina naziva se gluten i odlikuje se posebnim fizičkim i koloidno – kemijskim osobinama. Zbog prisutnosti bjelančevina u brašnu, tijesto posjeduje osobine kao što su rastezljivost, elastičnost, sposobnost zadržavanja plinova itd. (Jelača, 1972.).

### 2.2.3.Lipidi

Lipidi ili masti su tvari bez okusa i mirisa, koje se otapaju u organskim otapalima dok su u vodi netopljive. Po kemijskoj strukturi dijele se na jednostavne i složene lipide.

Jednostavni lipidi po kemijskom sastavu su gliceridi, tj. esteri alkohola glicerola i masnih kiselina. Složeni lipidi pored glicerola i masnih kiselina mogu sadržavati i druge spojeve, kao npr. anorganske kiseline (fosforu), monogliceride i dr.

Prema topljivosti u različitim otopinama razlikuju se slobodni i vezani lipidi. Slobodni lipidi ekstrahiraju se u nepolarnim otapalima (petroleter, dietileter, aceton, heksan i dr.), dok se vezani ekstrahiraju polarnim otapalima (n – butanol/voda, voda/etanoleter i dr.) Vezani lipidi u pšeničnom brašnu vezani su na molekule bjelančevina i škroba.

I slobodni i vezani lipidi dijele se na polarne i nepolarne lipide. Polarni su oni koji osim lipofilne, sadrže i hidrofilnu grupu (npr fosfoestersku). Ispitivanja su pokazala da polarni lipidi povoljno djeluju na tehnološku kakvoću brašna, dok nepolarni imaju negativan utjecaj. Ako su u tijestu prisutni polarni i nepolarni lipidi zajedno, nepovoljan utjecaj nepolarnih lipida se eliminira.

Najveći udio nepolarnih lipida čine takozvane neutralne masti, tj. trigliceridi, digliceridi i monogliceridi. Djelovanjem enzima lipidi se razgrađuju na glicerol i masne kiseline.

Slobodne masne kiseline i monogliceridi mogu sa škrobom (amilazom) stvarati komplekse. Stvaranje ovakvih kompleksa utječe na usporavanje procesa starenja kruha. Na taj način monogliceridi djeluju na osobine kruha i imaju povoljan utjecaj na očuvanje svježine kruha.

Od polarnih lipida značajni su glikolipidi i fosfolipidi, a vežu se s bjelančevinama i škrobom. Od glikolipida najvažniji je digalaktozil - diglicerid. Za vrijeme stvaranja tijesta stvaraju se makromolekularni kompleksi između glikolipida i bjelančevina (glijadina i glutenina preko vodikovih mostova i hidrofobnih veza, kao i između glikolipida i želatiniziranog škroba).

Ispitivanja su pokazala, da prinos volumena kruha ovisi o intezitetu međusobnog djelovanja i sposobnosti gradnje kompleksa između glikolipida i glijadina. Među najvažnije fosfolipide brašna ubrajaju se lecitin i lizolecitin. Lecitina ima u lipidima brašna pšeničnog brašna 10 – 20%, a poboljšava osobine ljepka i povećava sposobnost zadržavanja plinova u tijestu, te daje proizvode povećanog volumena, finije poroznosti i bolje elastičnosti sredine kruha.

Lizolecitin ima sposobnost stvaranja kompleksa sa škrobom. Smatra se da je stvaranje takvih kompleksa značajan uvjet za usporavanje procesa starenja kruha, čime se objašnjava pozitivno djelovanje lizolecitina na produljenje svježine kruha.

Utjecaj lipida na osobine tijesta, odnosno na kakvoću kruha svodi se na međusobne interakcije lipida s glavnim sastojcima pšeničnog brašna, škrobom i proteinima. Stvaranje kompleksa lipida i bjelančevina pridonosi učvršćenju mrežaste strukture bjelančevina brašna u tijestu i omogućuje optimalan razvoj glutena (Ugarčić – Hardi, 1999.).

#### **2.2.4.Mineralne tvari**

Mineralne tvari u zrnju pšenice različito su raspodijeljene. Najmanja količina nalazi se u endospermu, a najveća u aleuronskom sloju koji se nalazi ispod ljuske, dok ih u samoj ljusci ima nešto manje nego u aleuronskom sloju (Đaković,1980.). Udio mineralnih tvari u zrnju dobivamo kao ostatak nakon žarenja, tj. pepeo koji sadrži okside natrija, kalija, fosfora, kalcija i dr. Sadržaj i sastav pepela mjerilo je kvalitete brašna i služi za njegovu tipizaciju i dokazivanje porijekla (Marić, 2000.) Tipovi brašna se označavaju brojem koji je dobiven množenjem postotka pepela sa 1000 (Đaković, 1997.).

### 2.2.5.Voda

Vlaga je jedan od najvažnijih čimbenika koji utječe na kvalitetu pšenice te predstavlja vrlo značajan ekonomski faktor tijekom transporta i trgovine pšenicom.

Jedan od značajnih faktora je efekt vlage na očuvanje kvalitete pšenice kod skladištenja. Suha pšenica ako je odgovarajuće skladištena može se čuvati godinama, dok se pšenica sa prevelikim udjelom vlage može pokvariti za nekoliko dana. Nemoguće je međutim precizno odrediti graničnu vrijednost udjela vlage, zbog toga što mnogi faktori osim udjela vlage utječu na ponašanje pšenice tijekom skladištenja. S druge strane presuha pšenica sklona je lomljenju što također smanjuje njezinu kvalitetu. Slomljena zrna nemaju svoj puni značaj u preradi pošto se odstranjuju u fazama čišćenja.

U praksi kao granica za skladištenje pšenice uzima se udio vlage od 14%, odnosno sa povećanjem udjela vlage ograničava se vrijeme skladištenja pšenice. Sadržaj vode u brašnu iznosi 1 – 2 % manje nego što ga ima pšenica upotrijebljena za meljavu, jer se pri mljevenju pšenica zagrijava i dio vode ispari (Jelača, 1972.).

Prema Pravilniku o žitaricama, mlinskim i pekarskim proizvodima, tjestenini, tijestu i proizvodima od tijesta maksimalan dozvoljen udio vode u brašnu je 15 % (NN 78/2005., članak 18.). Minerali iz vode tijestu daju čvrstoću i elastičnost, potpomažu bubrenje proteina i sprječavaju razgradnju glijadina.

### 2.2.6.Enzimi

Enzimi su biokemijski katalizatori koji u vrlo malim količinama utječu na ubrzanje određenih biokemijskih reakcija, a da se pritom sami ne mijenjaju. Kod prerade brašna najvažniji su sljedeći enzimi: amilolitički (razgrađuju škrob), proteolitički (razgrađuju bjelančevine), enzim lipoksigenaza (aktivator oksidacije). Enzimi su ograničeni u svom katalitičkom djelovanju na samo određen tip biokemijskih reakcija, tj. imaju specifično djelovanje.

Molekulska masa enzima varira od 12 700 do preko 1000 000. Čak i enzimi sa veoma bliskim djelovanjem, kao npr.  $\alpha$  – amilaze koje cijepaju  $\alpha$  – 1,4 veze ugljikovih atoma mogu se značajno razlikovati po molekulskoj masi, zavisno od njihovog porijekla. Amilaze su široko rasprostranjene u prirodi i javljaju se u mnogim životinjskim tkivima, biljkama, plijesnima, kvascima i bakterijama. Ovisno od njihovog porijekla amilaze pokazuju velike varijacije u pH, optimalnoj temperaturi, termostabilnosti i otpornosti prema inaktivirajućim tvarima (Jelača, 1972.).



**Amilolitički enzimi** djeluju na škrob prevodeći ga u manje složene molekule, maltozu i dekstrine različite molekularne mase. Najveći dio maltoze bit će utrošen u procesu fermentacije, a dekstrina pri formiranju karakteristične boje pekarskih proizvoda (dekstrini i produkti proteolize – bjelančevine, čine komplekse zvane melanoidi koji daju boju kori). Maltoza koja nastaje razlaganjem škroba vrlo je važna za proces fermentacije budući da kvasac brzo utroši svu količinu slobodnih šećera u tijestu pa nastavak fermentacije ovisi o novonastaloj maltozi iz škroba (Ugarčić–Hardi, 1999.).

Najvažniji amilolitički enzimi su  $\alpha$  – amilaza,  $\beta$  – amilaza i  $\gamma$  – amilaza. Na razgradnju škrobnih molekula amiloze i amilopektina utječe koncentracija aktivnih enzima  $\alpha$  i  $\beta$  amilaze, sadržaj vode, stupanj topline i pH vrijednost sredine. Enzim  $\beta$  – amilaza razlaže škrob i manjim dijelom dekstrine višeg stupnja polimerizacije na maltozu, a  $\alpha$  – amilaza na niskomolekularne dekstrine i samo manju količinu maltoze.  $\alpha$  – amilaza hidrolizira 1,4 –  $\alpha$  – glikozidne veze u molekuli škroba u određenim točkama.  $\beta$  – amilaza razlaže škrobne lance na maltozne jedinice sa nereducirajućih krajeva škrobnih lanaca. Njezino djelovanje na amilazu se završava sa kompletnom hidrolizom amiloze u maltozu, a djelovanjem na amilopektin dobije se amiloza i oko 40 % dekstrina.

Djelovanje amilaza na škrob izražava se u smanjenju njegovog viskoziteta, gubitku kapaciteta škroba da daje plavu boju sa jodom, iščezavanju reducirajućih grupa i formiranju maltoze i dekstrina u formi oligosaharida različite dužine lanaca.

Hidroliziranje granule škroba bubre u suspenziji i gube moć dvojnog prelamanja polarizirane svjetlosti. One dispergiraju, a zatim se rastvaraju. Ovaj proces se ubrzava sa porastom temperature i radi se o već spomenutoj želatinizaciji.  $\alpha$ -amilaza kompleksno djeluje na molekulu škroba, napada dugačke lance škrobnih molekula u  $\alpha$ -1,4 glikozidnim vezama stvarajući kraće lance dekstrina, koji se dalje razgrađuju u molekule maltoze i maltotrioze. Proces razgradnje škroba  $\alpha$  - amilazom je relativno brz.

Pri dodatku  $\beta$ -amilaze škrobnoj pasti dolazi do brzog formiranja maltoze. Reakcija se zaustavlja kada prinos amilaze dostigne vrijednost od približno 50% od teorijski moguće količine. Preostali dio škroba zaostaje u obliku dekstrina koji zadržava veći dio osobina škroba. Enzim  $\beta$ -amilaza napada samo  $\alpha$ -1,4 glikozidne veze, ona cijepa škrobne lance sa nereducirajućeg kraja na jedinice maltoze i reakcija se zaustavlja u mjestima račvanja amilopektinskih  $\alpha$ -1,6 glikozidnim vezama (Jelača, 1972.).

Budući da  $\beta$  – amilaza odvaja iz molekula amiloze i amilopektina samo rubne molekule molekule maltoze, to je njezina efikasnost veća ako je prethodno protekla intenzivnija dekstrinacija supstrata. Iz tog razloga djelovanje ovih enzima međusobno se dopunjava.

Pšenična brašna redovito sadržavaju dovoljne količine  $\beta$  – amilaze, dok je količina  $\alpha$  – amilaze malena. Samo kod brašna od proklijale i oštećene pšenice količina  $\alpha$  – amilaze je velika, stoga se pri izradi pekarskih proizvoda  $\alpha$  – amilaza često posebno dodaje.

Amilolitički enzimi se dodaju samo ako se prethodno odredi aktivnost amilaze u brašnu. Na taj se način mogu izbjeći negativni efekti prekomjernog doziranja, kao npr. pretjerana dekstrinacija škroba (ljepljiva i gnjecava sredina). Pozitivni efekti dodavanja amilolitičkih enzima su: ubrzavanje procesa fermentacije, povećanje volumena pekarskih proizvoda, poboljšanje boje i arome kore te produženje svježine pekarskih proizvoda (Ugarčić – Hardi, 1999.).

**Proteolitički** enzimi se najčešće smatraju nepoželjnim pratiocem brašna jer mogu umanjiti sposobnost tijesta (glutena) da zadrži nastale plinove u toku fermentacije. Međutim, njihova prisutnost u tijestu je poželjna ako je gluten jak, nedovoljno rastezljiv ili krhak.

Tako se pri preradi vrlo jakog pšeničnog brašna primjenom preparata s izraženom proteolitičkom aktivnošću ubrzava omekšanje tijesta skraćivanjem glutenskih lanaca i time poboljšavaju njegove fizičke osobine – rastezljivost. S tim u vezi se poboljšava volumen proizvoda i struktura sredine. Preparati koji sadržavaju proteolitičke enzime primjenjuju se pri izradi lisnatog tijesta i kora za pite jer povećavaju sposobnost razvlačenja tijesta i prhkost.

Stanovita količina ovih enzima je potrebna radi stvaranja nekih produkata razgradnje bjelančevina koji će zajedno s dekstrinima iz brašna formirati melanoide, spojeve odgovorne za boju kore pekarskog proizvoda (Ugarčić – Hardi, 1999.).

Proteolitički enzimi degradiraju komplekse proteina i njihove produkte u jednostavnije jedinice kao što su polipeptidi, peptone i slične supstance, hidrolizirajući peptidne veze proteina. Nastale jednostavnije proteinske komponente dalje se razlažu pomoću peptidaza u aminokiseline, osnovne jedinice proteinske strukture. Djelovanje proteinaza na gluten i tijesto izaziva jako omekšanje, smanjenje elastičnosti i povećanje žitkosti (Jelača, 1972.).

Od proteinaza u pšeničnom zrnu uglavnom nalazimo papain te njegove fermente sa optimalnim djelovanjem na pH od 4 – 5,5 te na temperaturi od oko 45 °C. Papain dolazi u dva oblika: oksidativnom i reducirajućem obliku. Iako pšenično brašno sadrži veliku količinu proteinaza, njihovo djelovanje dolazi do izražaja samo ako se nalazi u reducirajućem obliku, zbog toga što samo reducirajući oblik papaina ima hidrolitičku aktivnost.

Prisutnost proteolitičkih enzima ima pozitivno djelovanje na tehnološka svojstva tijesta tijekom pripreme pekarskih proizvoda, međutim posljedice prekomjerne prisutnosti očituju se razgradnjom glutena koji tada gubi sposobnost zadržavanja plinova.

**Lipoksigenaza** upotrebljava se u pekarstvu kao aktivator oksidacije i sredstvo za bijeljenje pigmenata brašna. Lipoksigenaza katalizira oksidaciju nezasićenih masnih kiselina uz prisutnost kisika iz zraka u hidroperokside, koji su sposobni da bijele bojene pigmente brašna. Nadalje utječe na oksidaciju – SH skupina proteina i aktivatora proteolize čime se popravljaju fizičke osobine glutena.

Skladištenjem pšenice pod nepovoljnim uvjetima i u uvjetima visoke vlage dolazi do povećanja kiselosti u njoj. Ovo povećanje može biti posljedica djelovanja pšenične lipaze, ali rezultati istraživanja pokazuju da enzimska aktivnost mikrobiološke flore u ovim reakcijama igra najveću ulogu.

U pekarstvu se koristi u količini od 0,5 do 1,0% računato na količinu brašna. Optimum njihovog djelovanja u pšeničnom brašnu je pri pH od 7,2 do 8,2. Optimalna temperatura je od 36 do 40 °C. Brašna veće ekstrakcijske vrijednosti imaju veću sposobnost aktivnosti lipaze (Jelača, 1972.).

### 2.3. Pšenični škrob

Škrob je polisaharid koji ima jedinstvena fizikalna i nutritivna svojstva koja ga razlikuju od svih ostalih ugljikohidrata. Većina škroba unosi se konzumacijom žitarica (pekarski proizvodi), voća, povrća i njihovih prerađevina. Danas se na bazi škroba proizvode sladila (glukozani, fruktozani i dr. sirupi), konditorski proizvodi, bezalkoholna pića i dr. Škrob se uz pomoć enzima u organizmu razgrađuje do jednostavnog šećera glukoze. Škrob se zbog složenije molekularne strukture duže razgrađuje u glukozu. Sporije se povisuje koncentracija glukoze u krvi, postupno se povećava lučenje inzulina i osiguravanje energije tijekom dužeg vremenskog razdoblja.

Škrob je je polisaharid opće formule  $(C_6H_{10}O_5)_n$  izgrađen od jedinica glukoze povezanih  $\alpha$ -1, 4 i  $\alpha$ -1,6 glikozidnim vezama. Nastaje kao produkt asimilacije u lišću zelenih biljaka te ga biljke ga skladište kao rezervnu hranu. U prirodi se javlja u obliku granula (zrnaca). Škrob je molekula sastavljena od amiloze i amilopektina.

U pšeničnom brašnu nalazi se preko 70% škroba. Škrob se nalazi u obliku škrobnih granula različite veličine. Škrobna zrna koja potječu iz centralnog dijela endosperma, a koja dopijevaju u bijela brašna, većeg su promjera od škrobnih zrna iz perifernih dijelova odnosno iz crnih brašna. Škrobna zrna pšeničnog brašna javljaju se u dvije veličine. Mala škrobna zrna su ona sa promjerom od 10  $\mu$ m, a velika sa promjerom većim od 25  $\mu$ m. Iako malih škrobnih zrna ima daleko više, njihov maseni udio je manji i iznosi oko 4% dok ostatak čine uglavnom velika škrobna zrna sa nešto srednjih po veličini.

Granule škroba pored molekula amiloze i amilopektina sadrže u manjim količinama i druge spojeve. Najznačajniji su minerali kojih ima oko 0.2%, masnoća oko 0.6% i oko 0.2% proteina. Na osnovi ovih podataka zaključujemo da škrobna granula predstavlja kemijski vrlo čistu supstancu.

Škrob se prilikom industrijske primjene u većini slučajeva mora otopiti. Otapanje škroba u vodi moguće je jedino uz zagrijavanje – želatinizaciju škroba. Želatinizacija je jedno od najvažnijih fizikalnih svojstava za karakterizaciju škroba.



**Slika 2** Kristalna struktura škroba (Novaković, 2008)

### 2.3.1. Građa škrobne granule

Škrob se u prirodi javlja u obliku granula. Granula se sastoji od dva polisaharida, amiloze i amilopektina koji čine 98 – 99% suhe tvari. To su dva strukturno različita ugljikohidrata izrađena od  $\alpha$  – D – glukoze. Jednake bruto formule  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , a razlikuju se po stupnju polimerizacije i razgranatosti. Odnos amiloze i amilopektina te njihova razgranatost ovise o porijeklu škroba.

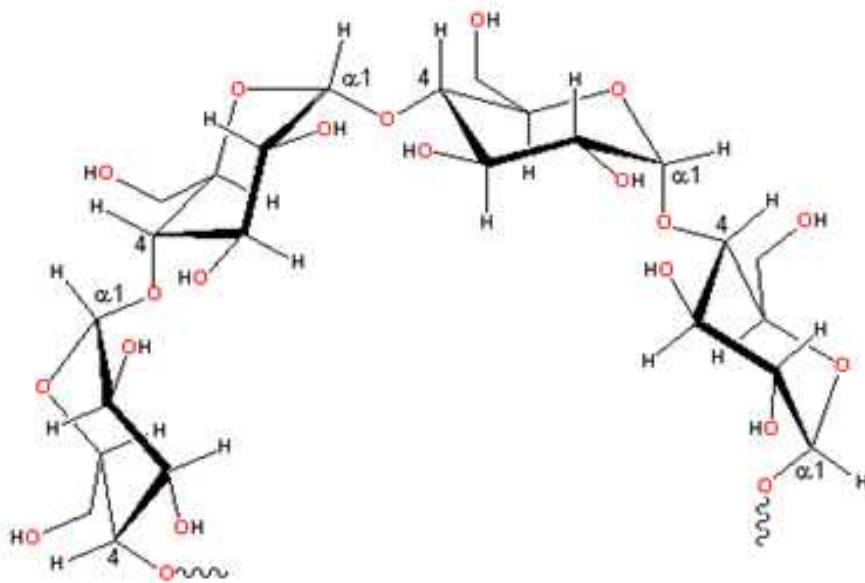
Amiloza

Amiloza je linearni polimer  $\alpha$  – D glukoze povezane  $\alpha$  – 1,4 vezama. Molekularna masa amiloze je oko 250 000. Molekularna masa ne zavisi samo od vrste biljke nego varira unutar iste vrste

ovisno o stupnju zrelosti biljke. Iako je to linearni polimer, ipak je prisutan mali stupanj grananja (Ugarčić – Hardi, 1999.).

Kada se postupak izdvajanja amiloze provodi na temperaturi želatinizacije, dobije se linearna amiloza. Kada se “ispiranje” provodi na višoj temperaturi dobije se amiloza veće molekularne mase i više umrežena. Enzimsko određivanje strukture amilaze, kao i mjerenja viskoziteta, pokazala su da amiloza sa razgrantim lancima sadrži oko nekoliko stotina glukoznih jedinica. Umrežavanje se događa na mjestima  $\alpha - 1,6$  veza kao i kod amilopektina, vrlo su rijetka pa možemo reći da je amiloza zapravo linearna (Ugarčić – Hardi, 1999.).

Molekula amiloze ima sposobnost stvaranja kompleksa sa jodom, organskim otapalima i kiselinama. Takvi kompleksi se zovu clathrates (Klarati) ili spojevi zatvoreni u uzvojnici. Amiloza se može percipitirati iz otopine škroba dodatkom  $n -$  butil alkohola (otopljena sa KOH ili dimetilsulfoksidom). Alkohol i amiloza stvaraju netopljivi kompleks strukture iste kao i struktura jod – amiloza. Dobro poznata plava boja kompleksa jod – škrob potječe od kompleksa jod – amiloza nastalog vlaženjem joda u uzvojnici amiloze. Dugačka linearna priroda amiloze je također odgovorna za međusobno udruživanje molekula amiloze (retrogradaciju) u otopini (Ugarčić – Hardi, 1999.).



**Slika 3** Struktura amiloze (Novaković, 2008.)

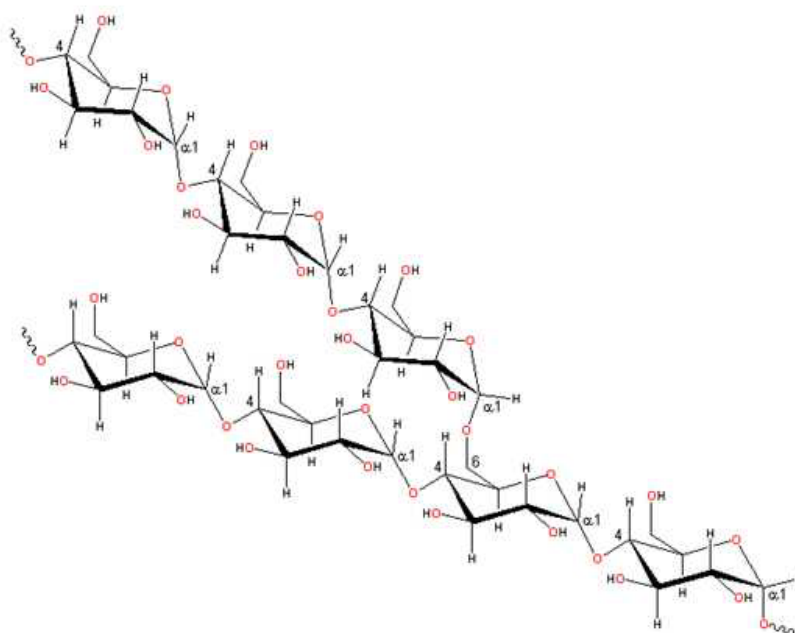
### Amilopektin

Amilopektin je umreženi polimer glukoze povezanih osim  $\alpha - 1,4$  vezama (4 – 5 % glukozidnih veza) i  $\alpha - 1,6$  vezama. Lanac amilopektina je prosječne duljine oko 20 – 25 glukoznih jedinica. Njegova molekularna masa se kreće oko  $10^8$ . To je jedna od najvećih molekula u prirodi.

Amilopektinska molekula ima tri tipa lanaca: A – lanci (ravnolančani dio u koje su anhidroglukozni ostaci povezani  $\alpha$  – 1,4 vezama), B – lanci (izgrađeni od glukoznih ostataka povezanih  $\alpha$  – 1,4 vezama i  $\alpha$  – 1,6 vezama) i C – lanci (izgrađeni od anhidroglukoznih jedinica povezanih  $\alpha$  – 1,4 vezama i  $\alpha$  – 1,6 vezama te od reducirajućih grupa na kraju lanca C – 1).

Struktura amilopektina je ispitivana korištenjem serije enzima koji djelomično razgrađuju molekulu na svako od njih specifičan način. Jedan od tih enzima je  $\beta$  – amilaza koja razgrađuje škrob polazeći od nereducirajućeg kraja i cijepa svaku drugu  $\alpha$  – 1,4 vezu.  $\beta$  – amilaza ne može pocijepati mjesta grananja, rezultat djelovanja  $\beta$  – amilaze su linearni lanci glukoze  $\beta$  – granični dekstrini i maltoza. Oko mjesta grananja zaostaju 2 ili 3 glukozne jedinice.  $\beta$  – amilaza razgradi amilopektin do 55 %. Molekularna masa  $\beta$  – graničnih dekstrina je još uvijek velika i iznosi  $10^4$ . Od drugih enzima korištenih u istraživanju sastava amilopektina najpoznatiji su pululanaze i izoamilaze. To su enzimi koji cijepaju  $\alpha$  – 1,6 veze i kao posljedica toga nastaju relativno kratki linearni lanci.

Razlika između djelovanja pululanaze i izoamilaze je u tome što pululanaza cijepa bočne lance sa 2 ili više glukoznih jedinica, dok izoamilaza cijepa bočne lance sa najmanje 3 glukozne jedinice (Ugarčić – Hardi 1999.).

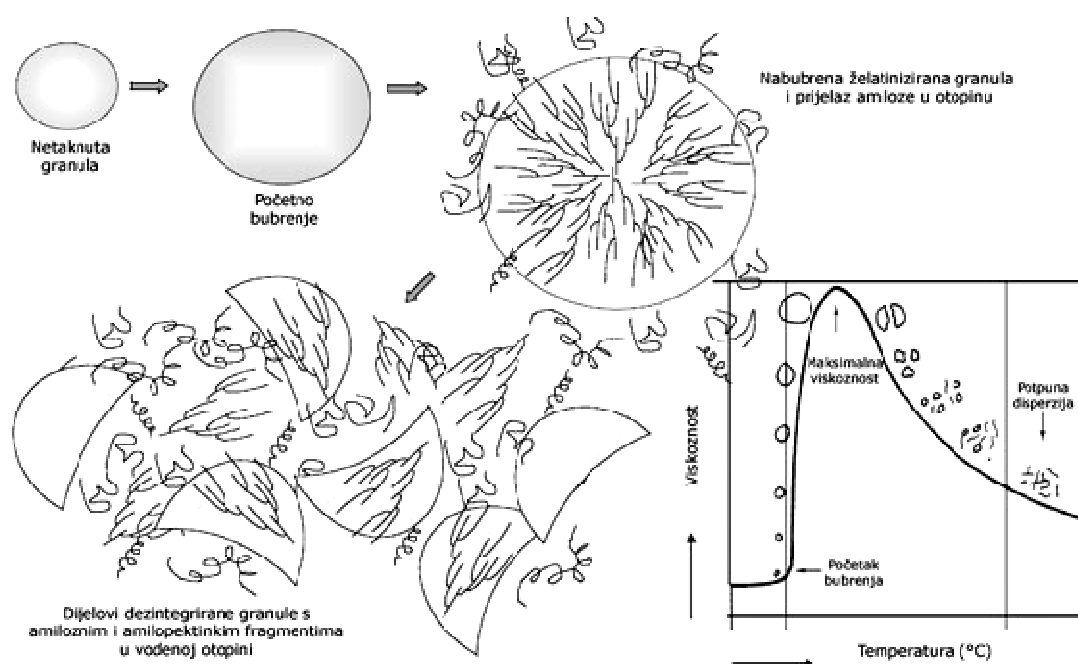


**Slika 4** Struktura amilopektina (Novaković , 2008.)

### 2.3.2. Želatinizacija i retrogradacija škroba

Škrobna granula predstavlja kemijski vrlo čistu supstancu. To je kemijski i fizikalno heterogena tvorevina. Ponašanje škrobnih granula ovisi o molekularnoj strukturi amiloze i amilopektina te njihovim interakcijama s okolinom tijekom dva najvažnija procesa: želatinizacije i retrogradacije. Neoštećene škrobne granule netopljive su u hladnoj vodi, ali mogu reverzibilno apsorbirati određenu količinu vode pri čemu dolazi do bubrenja škrobne granule. Otapanje škroba naziva se želatinizacija. Želatinizacija je jedno od najvažnijih termofizikalnih svojstava za karakterizaciju škroba, a provodi se zagrijavanjem škrobne suspenzije u vodi (Ljubić Herceg, 2011.).

**Želatinizacija** – prirodni škrobovi nisu topljivi u hladnoj vodi te se prilikom industrijske primjene u većini slučajeva moraju otopiti. Zagrijavanjem škrobne suspenzije doći će do narušavanja kristalnog uređenja granule što će uzrokovati ireverzibilne promjene; otapanje granule, nastajanje gela, povećanje viskoznosti, gubitka optičke aktivnosti, i dr.



**Slika 5** Proces želatinizacije škroba (Tester i sur., 2004.)

Želatinizacija škroba je složen proces koji se odvija u više faza. Na početku zagrijavanja škrobne suspenzije dolazi do reverzibilne hidratacije u amorfnim dijelovima granule škroba gdje su prisutne slabe vodikove veze. Prema sposobnosti otapala da prodiere unutar strukture čvrstog materijala, razlikujemo kapilarno i molekularno bubrenje. Kod kapilarnog bubrenja tekućina prodiere u područja između kristalnih zona, dok kod molekularnog bubrenja tekućina prodiere

između pojedinačnih molekula pri čemu dolazi do razaranja većeg broja poprečnih veza između makromolekula. Daljnjim zagrijavanjem dolazi do većeg narušavanja strukture i dodatnog bubrenja. U ovoj fazi dolazi do kidanja međumolekularnih vodikovih veza između molekula škroba te stvaranja vodikovih mostova između molekula vode i škrobnih molekula. Ukoliko se zagrijavanje nastavi granule kontinuirano primaju vodu i naglo ekspandiraju. Djelovanjem naprezanja dolazi do raskidanja veza u kristalnom području i razaranja granule.

Proces želatinizacije se odvija u određenom temperaturnom rasponu. Temperatura, odnosno temperaturni raspon gdje dolazi do želatinizacije prije svega ovisi o vrsti škroba i količini vode. Škrobovi koji sadrže veći udio amiloze (iznad 50 %) želatiniziraju pri višim temperaturama i daju pastu veće viskoznosti, međutim, imaju veću tendenciju retrogradacije (Šubarić i sur.).

Želatinizacija uglavnom započinje na temperature od 45 °C, a svoj maksimum ima pri 60 °C te završava pri 75 °C. Ovaj proces čini škrob potpuno podložan djelovanju amilolitičkih enzima.

**Retrogradacija** - tijekom hlađenja želatiniziranog sustava škrob/voda sustav spontano prelazi u stanje s manjim sadržajem energije. Molekularne interakcije (povezivanje molekula škroba vodikovim vezama) nakon hlađenja želatinizirane škrobne paste naziva se retrogradacija. Retrogradacija je proces pri kojem nabubreni i elastični sustavi bivaju reorganizirani pod određenim hidrotermičkim uvjetima. Pri hlađenju i stajanju sustav spontano prelazi u stanje s manjim sadržajem energije. Pri tome dolazi do vezivanja susjednih polimera preko vodikovih mostova, što je povezano sa gubitkom topljivosti. Kada govorimo o škrobu to znači prijelaz iz otopljenog, disperznog i amornog stanja u netopljivo kristalinično stanje. Tijekom retrogradacije škroba molekule amiloze se povezuju u strukturu dvostruke uzvojnice, dok se molekule amilopektina međusobno povezuju pomoću kratkih vanjskih lanaca. Međusobno povezivanje otopljenih molekula dovest će do njihove rekristalizacije, odnosno razdvajanje faza polimera i otapala (sinereza). Zbog toga retrogradacija ima značajan utjecaj na teksturu prehrambenih proizvoda koji sadrže nešto višu količinu škroba (npr. starenje kruha i drugih pekarskih proizvoda). Retrogradacija je vrlo složen proces na koji utječe mnoštvo čimbenika: priroda škroba, koncentracija škroba, temperatura želatinizacije, temperatura skladištenje, pH te prisutnost drugih tvari (lipida, elektrolita i šećera). S obzirom da je retrogradacija škroba kinetički kontroliran proces promjena vremena, temperature i sadržaja vode može dovesti do nastajanja različitih krajnjih produkata retrogradacije. Retrogradirani škrobovi imaju nižu temperaturu i entalpiju želatinizacije od prirodnih zbog slabe sposobnosti kristalizacije (Šubarić i sur.).



## 2.4. Reologija

Reologija je znanstvena disciplina koja se bavi tečenjem i deformacijom krutih i tekućih materijala. Pod deformacijom se podrazumijeva promjena oblika i dimenzija nekog tijela pod utjecajem sile, a pod pojmom tečenja kontinuirana promjena deformacije s vremenom. Poznavanje reoloških svojstava hrane od velikog je značenja, bilo da se radi o postizanju određenih svojstava hrane, bilo da se radi o vođenju procesa pri proizvodnji hrane.

Reološki podaci potrebni su u proračunima koji uključuju široku primjenu procesne opreme kao što su cjevovodi, pumpe, ekstruderi, miješalice, izmjenjivači topline, homogenizatori, "on-line" viskozimetri i dr. Osim u procesnom inženjerstvu, reologija se koristi i u razvoju novih proizvoda, definiranju parametara kakvoće, korelaciji sa senzorskom ocjenom hrane, itd.

Osnovna reološka svojstva krutih materijala su elastičnost i plastičnost, a tekućih (fluida) viskoznost. Materijal je idealno elastičan kada se deformacija pojavi trenutačno s djelovanjem sile, a nakon prestanka djelovanja sile deformacija nestaje. Ako materijal podliježe trajnoj deformaciji kada se postigne određeni prag naprezanja, za njega se kaže da pokazuje plastično ponašanje.

Viskoznost je izmjerena vrijednost koja se odnosi na unutrašnje trenje supstance u tečenju. Mjeri se određivanje sile, napona smicanja, potrebne da se pomaknu čestice materijala pri određenoj brzini deformacije, brzini smicanja. Omjer napona i brzine smicanja predstavlja viskoznost (Lovrić, 1991.).

**Micro Visco-Amilograf** predstavlja razvijeniji tip već prihvaćenog i u praksi dokazanog amilografa. Micro Visco-Amilograf je rotacijski viskozimetar. On mjeri viskoznost u određenom vremenu.

Mjerenje se vrši pri:

- određenoj temperaturi,
- ravnomjernom povećanju temperature,
- ravnomjernom snižavanju temperature.

Princip mjerenja bazira se na zagrijavanju suspenzije vode i škroba, odnosno vode i brašna pod kontroliranim uvjetima. Pritom se nastala brzina vrtnje pretvara u elektronički signal i putem specijalnog programa zapisuje i vrednuje. Aktualne mjerne vrijednosti prikazuju se istovremeno i numerički i grafički. Uređaj se pokreće isključivo s računalom, koje upravlja odvijanjem postupka i dokumentira vrijednosti.

Uređaj je prije svega koncipiran za prehrambenu industriju – za mjerenje karakteristika zgrušavanja i želiranja škroba i proizvoda koji sadrže škrob. Micro Visco-Amilograf koristi se u kemijskoj, kozmetičkoj, tekstilnoj industriji, te proizvodnji ljepljiva za mjerenje industrijskog škroba, tekućina, suspenzija, pasta.



**Slika 6** Mikro – Visko Amilograf

**Broj padanja po Hagberg-Pertenu** je međunarodna standardna metoda za određivanje aktivnosti  $\alpha$ -amilaze u žitaricama i brašnu, te sličnim proizvodima koji sadrže škrob, npr. pšenici i raži. Metoda se temelji na brznoj želatinizaciji suspenzije brašna ili krupice u vrućoj vodenoj kupelji te mjerenju likvefakcije škroba pomoću  $\alpha$ -amilaze. Vrijednost broja padanja obrnuto je proporcionalna udjelu  $\alpha$ -amilaze u uzorku.

Broj padanja odnosno FN (skraćeno od eng. „falling number“) se definira kao ukupno vrijeme od trenutka ulaganja kivete sa suspenzijom u vodenu kupelj pa do kraja penetracije miješalice viskozimetra kroz škrobni gel, odnosno to je zbir vremena potrebnog za miješanje i vremena za koje miješalica viskozimetra prijeđe određenu udaljenost kroz zagrijani škrobni gel koji se nalazi u fazi likvefakcije. Broj padanja izražava se u sekundama.

Prema vrijednosti broja padanja, pšenica se može podijeliti u tri razreda:

1. FN < 150 s visoka aktivnost  $\alpha$ -amilaze, pšenica je proklijala, kruh od ovog brašna imat će ljepljivu i vlažnu sredinu,

2. FN = 150 – 300 s optimalna aktivnost  $\alpha$ -amilaze, brašno pogodno za proizvodnju kruha; optimalan raspon vrijednosti broja padanja je između 250 i 300 s, optimalna aktivnost  $\alpha$ -amilaze može se podesiti dodatkom sladnog brašna pšenicom brašnu,

3. FN > 300 s niska aktivnost  $\alpha$ -amilaze, pšenica je uglavnom bez proklijalih zrna, fermentacija tijesta od takvog brašna je slaba pa se ono miješa sa dodatkom enzima ili s pšenicom (brašnom) visoke amilolitičke aktivnosti, kruh od ovog brašna bit će malog volumena, suhe i mrvljive sredine (Ugarčić-Hardi i sur. 2010.).



**Slika 7** Uređaj za određivanje broja padanja po Hagberg - Pertenu

## 2.5. Oštećeni škrob

Kod mljevenja pšenice i mehaničkog smicanja između mlinskih valjaka, određeni broj škrobnih granula se može oštetiti. U određenoj mjeri ova pojava je poželjna zbog povoljnog utjecaja na kvalitetu pekarskih proizvoda. Razlika između oštećenog i neoštećenog škroba je u tome da oštećeni škrob mnogo podložniji enzimskoj hidrolizi i ma povećanu sposobnost upijanja vode. Neoštećene škrobne granule mogu upiti vode do 40 % svoje težine, dok oštećene upijaju i do 200 %.

Prednosti oštećenog škroba zbog povećanog upijanja vode očituje se u ekonomskom smislu zbog veće iskoristivosti brašna tijekom pekarske proizvodnje, tj. dolazi do povećanja mase pekarskih proizvoda. Zbog veće podložnosti djelovanju amilolitičkih enzima stvara se veća

količina maltoze i dekstrina tijekom fermentacije. Ipak, preveliki stupanj oštećenosti škroba može dovesti do problema tijekom proizvodnje i snižene kvalitete pekarskih proizvoda.

Stupanj oštećenosti škroba ovisi o tvrdoći zrna i procesu mljevenja. Prilikom mljevenja tvrda staklasta zrna će dati veći udio oštećenih škrobnih granula od mekih zrna. Veći stupanj oštećenosti granula se može postići smanjenjem razmaka između mlinskih valjaka te ili višestrukim propuštanjem brašna kroz mlin.

U većini tipova brašna postotak oštećenog škroba iznosi 4 – 10% na ukupnu suhu tvar brašna. Optimalnim se smatra udio od 7% oštećenog škroba, a zbog gubitka na kakvoći proizvoda ovaj postotak ne bi smio biti veći od 9%. Ove vrijednosti određene su prema AACC metodi 76-30A, a preračunato na vrijednosti koje se dobivaju prema AACC (American Association of Cereal Chemists) metodi 76-31 (40% manje vrijednosti i izražavanje na ukupnu masu brašna) postotak oštećenosti škroba u brašnima se kreće od 2,5 – 6%, optimalno je 4,35%, a maksimalno 5,6% (Jukić, 2009.).

### **3.EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Zadatak

Zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj inaktivacije amilolitičkih enzima i stupnja oštećenja škrobnih granula na amilografski profil pšeničnog brašna.

### 3.2. Materijali

Uzorak pšenice podvrgnut je kvašenju da bi se potaknulo klijanje, odnosno da bi se dobio uzorak s visokom amilolitičkom aktivnošću. Uzorak je potopljen u vodu 2 h te procijeđen i ostavljen u komori još 23 h. Nakon toga uzorak se, na perforiranim aluminijskim tacnama, sušio 3 dana na zraku. Dobiveni uzorak imao je broj padanja u iznosu od 61 s. Za potrebe daljnjih analiza pšenica je samljevena na laboratorijskom mlinu Perten 3100. Dobiveno pšenično brašno predstavljalo je uzorke s manjim stupnjem oštećenja škroba (DS1 = 3,15%). Polovica količine ovog brašna dodatno se izmeljavala i na mlinu Phillips te su dobiveni uzorci s većim oštećenjem škroba (DS2 = 6,13%).

Otopina srebrovog nitrata ( $\text{AgNO}_3$ ) se koristila kako bi se inaktivirali amilolitički enzime u brašnu. Pripremljene su otopine  $\text{AgNO}_3$  koncentracija 0.5 mM, 1 mM i 2 mM. Otopine su korištene tijekom određivanja broja padanja po Harbeg – Pertenu te amilografskog ispitivanja na Brabenderovom Mikro – Visko – Amilografu.

### 3.3. Metode

#### Ispitivanje stupnja oštećenosti škroba

Pri mljevenju brašna dolazi do oštećivanja škrobnih granula, a stupanj oštećenosti granula direktno utječe na moć upijanja vode kao i na svojstva tijesta pri zamjesu. Oštećene granule se rapidno hidratiziraju i hidroliziraju  $\alpha$ - i  $\beta$ -amilazom, dajući šećere.

Ispitivanje stupnja oštećenosti škroba se provodi prema AACC (American Association of Cereal Chemists) metodi br. 76-31 odnosno prema ICC (International Association for Cereal Science and Technology) metodi br. 164.

Stupanj oštećenosti škroba se definira kao postotak škroba (u odnosu na masu uzorka) koji je podložan enzimskoj hidrolizi. Princip metode se zasniva na hidrataciji i hidrolizi oštećenih škrobnih granula uzorka pomoću fungalne  $\alpha$ -amilaze pri 40°C kroz 10 minuta. Produkti hidrolize su maltooligosaharidi i  $\alpha$ -granični dekstrini. Ovi uvjeti omogućavaju gotovo potpunu hidrolizu oštećenih škrobnih granula uzorka i minimalnu razgradnju neoštećenih granula.

Enzimaska hidroliza se prekida nakon točno 10 minuta dodatkom razrijeđene sulfatne kiseline. Uzorak se centrifugira, a alikvot supernatanta (sadrži maltooligosaharide i  $\alpha$ -granične dekstrine) se tretira pročišćenom amiloglukozidazom. Nastaje glukoza koja s glukoza oksidaza/peroksidaza reagensom (GOPOD) stvara obojenje čiji se intenzitet određuje spektrofotometrijski.

**Postupak:** Odvagati  $100 \pm 10$  mg uzorka brašna u epruvetu za centrifugu (16 x 100 mm). Epruvetu sa uzorkom i epruvetu sa fungalnog  $\alpha$ -amilazom (ranije pripremljen reagens) staviti na 5 min u vodenu kupelj unaprijed zagrijanu na  $40^{\circ}\text{C}$  radi temperiranja. Dodati 1 ml otopine fungalne  $\alpha$ -amilaze u epruvetu s uzorkom brašna, vortexirati otprilike 5 sec te inkubirati u vodenoj kupelji temperature  $40^{\circ}\text{C}$  točno 10 min (mjereno od dodatka enzima). Epruvetu s  $\alpha$ -amilazom maknuti iz vodene kupelji, čuvati za drugu analizu u zamrzivaču. Nakon 10 min dodati 5 ml razrijeđene sulfatne kiseline te snažno promiješati na vortexu 5 sec. Dodatkom sulfatne kiseline inaktivira se enzim te zaustavlja reakcija hidrolize. Epruvetu zatim staviti u centrifugu na 3000 rpm (1000 g) na 5 min. Dodati 0,1 ml otopine amiloglukozidaze (unaprijed pripremljen reagens), vortexirati 5 sec te staviti na inkubaciju na 10 min ( $40^{\circ}\text{C}$ ).

Prirediti slijepu probu te glukozne standarde.

Slijepa proba se sastoji od 0,2 ml acetatnog pufera (100 mM, pH 5,0). Glukozni standard se sastoji od 0,1 ml acetatnog pufera (100 mM, pH 5,0) + 0,1 ml glukoznog standarda (1,5 mg/ml).

Dodati 4 ml GOPOD reagensa u sve epruvete, uključujući i slijepu probu te glukozni standard, i inkubirati 20 min na  $40^{\circ}\text{C}$ . izmjeriti apsorbanciju svih otopina na 510 nm.

Stupanj oštećenosti škroba se računa prema formuli:

$$\text{Oštećeni škrob} = \Delta E * F * 60 * 1/1000 * 100/W * 162/180 = \Delta E * F/W * 5,4 \quad [\%]$$

Gdje su:

- $\Delta E$  – apsorbancija umanjena za slijepu probu
- $F = 150 \mu\text{g}$  glukoze/apsorbanca glukoznog standarda
- 60 – korekcija volumena (0,1 ml uzeto iz 6,0 ml)
- 1/1000 – pretvaranje iz  $\mu\text{g}$  u mg
- $100/W$  – faktor za izražavanje oštećenosti škroba kao postotak od uzorka brašna
- $W$  – masa uzorka u mg
- 162/180 – prilagodba slobodne glukoze prema bezvodnoj glukozi kakva se pojavljuje u škrobu

### Određivanje reoloških svojstava Mikro Visko-Amilografom

Mikro Visko-Amilograf (Brabender OGH, Duisburg, Njemačka) je razvijeniji tip već prihvaćenog i u praksi dokazanog amilografa koji za razliku od njega koristi mnogo manju količinu uzorka (15 g), a moguće je i softverski regulirati brzinu zagrijavanja/hlađenja suspenzije. Metoda za ispitivanje brašna još nije standardizirana pa se analiza provodi prema preporuci proizvođača. Uzorci se pripremaju tako da se prvo na osnovi određenog udjela vode u brašnu korigiraju mase uzoraka brašna i potrebnog dodatka vode. Korekcija se vrši na 14%-tni udjel vode. Masa uzorka pri 14%-tnom udjelu vode je 15 g, a dodatak vode 100 g. U Erlenmeyer-ovu tikvicu se stavi točno odvagana količina brašna te se doda točno odvagana količina vode, a suspenzija se dobro promiješa. Nakon što je dobivena homogena suspenzija, iz tikvice se suspenzija stavi u mjernu posudu uređaja koja se potom stavlja u ležište Mikro Visko-Amilografa. Kod izrade diplomskog rada uz ispitivanje vodom korištene su i različite koncentracije otopine  $\text{AgNO}_3$ . Na mjernu glavu se pričvrsti mjerno tijelo i spusti u najniži položaj te započinje ispitivanje prema sljedećim uvjetima:

- broj okretaja:  $250 \text{ min}^{-1}$
- mjerno područje: 300 cmg
- početna temperature:  $30 \text{ }^\circ\text{C}$
- brzina zagrijavanja:  $5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$
- završna temperature:  $92 \text{ }^\circ\text{C}$
- vrijeme zadržavanja na  $92 \text{ }^\circ\text{C}$ : 5 min
- hlađenje  $5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  do  $50 \text{ }^\circ\text{C}$
- vrijeme zadržavanja na  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ : 1 min
- ukupno vrijeme trajanja ispitivanja: 50 min

Brabender Visco - Graph softver bilježi sve promjene viskoznosti suspenzije i temperature te se iz dobivenih podataka dobiva krivulja. Krivulja predstavlja ovisnost viskoznosti, odnosno zakretnog momenta, i temperature o vremenu tzv. amilogram.

Iz amilograma se mogu očitati:

- A = početna temperatura želatinizacije ( $^\circ\text{C}$ )
- B = temperatura maksimuma ( $^\circ\text{C}$ )



- B = maksimalna viskoznost (BU)
- C = viskoznost na početku prvog zadržavanja temperature, odnosno na kraju zagrijavanja (BU)
- D = viskoznost na početku hlađenja (BU)
- E = viskoznost na kraju hlađenja (BU)
- F = viskoznost na kraju drugog zadržavanja temperature (BU).

Iz navedenih vrijednosti izračunavaju se i sekundarni parametri:

- B-D = opadanje viskoznosti (BU)
- Povratni efekt (BU)

#### **Određivanje broja padanja po Hagberg Pertenu**

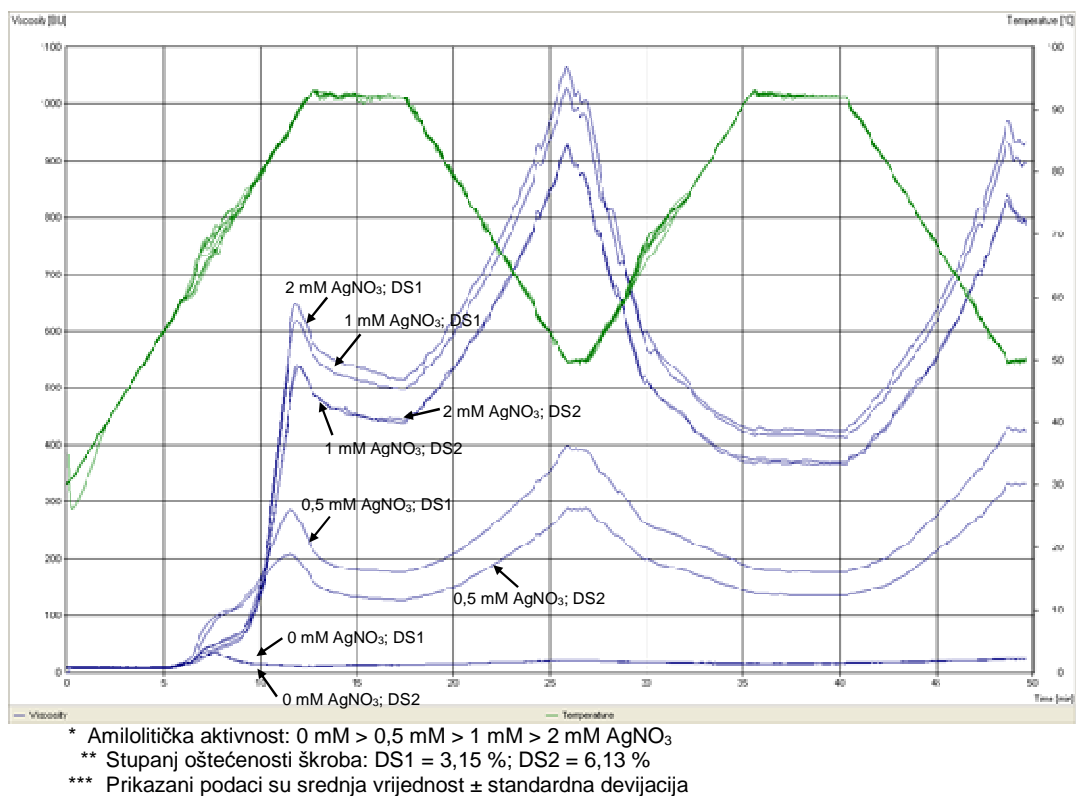
Broj padanja je međunarodna standardna metoda za određivanje aktivnosti  $\alpha$ -amilaze u žitaricama i brašnu te sličnim proizvodima koji sadrže škrob, npr. pšenici i raži. Metoda se temelji na brznoj želatinizaciji suspenzije brašna ili krupice u vrućoj vodenoj kupelji te mjerenju likvefakcije škroba pomoću  $\alpha$ -amilaze. Vrijednost broja padanja obrnuto je proporcionalna udjelu  $\alpha$ -amilaze u uzorku.

Broj padanja odnosno FN (skraćeno od eng. „falling number“) se definira kao ukupno vrijeme od trenutka ulaganja kivete sa suspenzijom u vodenu kupelj pa do kraja penetracije miješalice viskozimetra kroz škrobni gel, odnosno to je zbir vremena potrebnog za miješanje i vremena za koje miješalica viskozimetra prijeđe određenu udaljenost kroz zagrijani škrobni gel koji se nalazi u fazi likvefakcije. Broj padanja izražava se u sekundama.

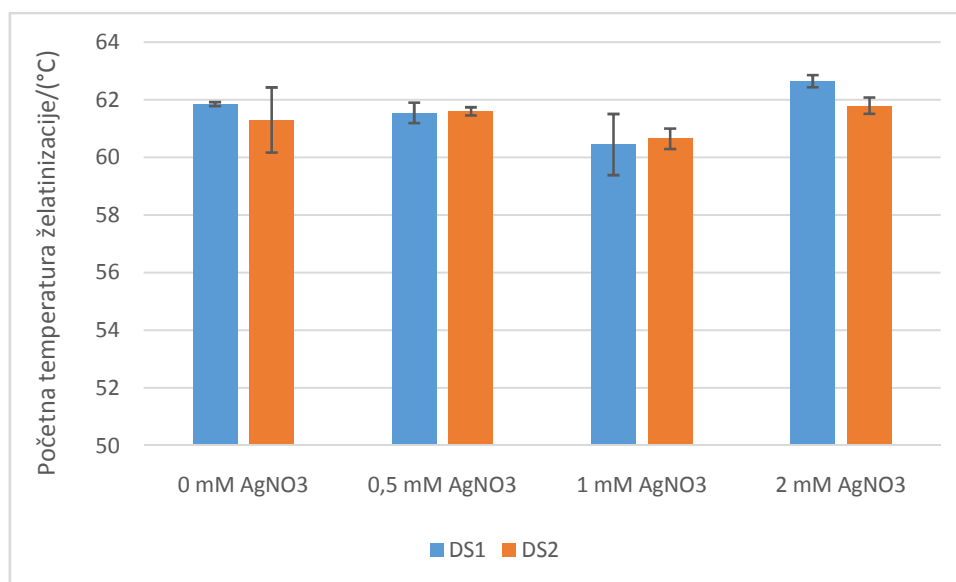
Prema vrijednosti broja padanja, pšenica se može podijeliti u tri razreda:

1. FN < 150 s visoka aktivnost  $\alpha$ -amilaze, pšenica je proklijala, kruh od ovog brašna imat će ljepljivu i vlažnu sredinu,
2. FN = 150 – 300 s optimalna aktivnost  $\alpha$ -amilaze, brašno pogodno za proizvodnju kruha; optimalan raspon vrijednosti broja padanja je između 250 i 300 s, optimalna aktivnost  $\alpha$ -amilaze može se podesiti dodatkom sladnog brašna pšeničnom brašnu,
3. FN > 300 s niska aktivnost  $\alpha$ -amilaze, pšenica je uglavnom bez proklijalih zrna, fermentacija tijesta od takvog brašna je slaba pa se ono miješa sa dodatkom enzima ili s pšenicom (brašnom) visoke amilolitičke aktivnosti, kruh od ovog brašna bit će malog volumena, suhe i mrvljive sredine (Ugarčić-Hardi i sur. 2010).

## **4.REZULTATI**

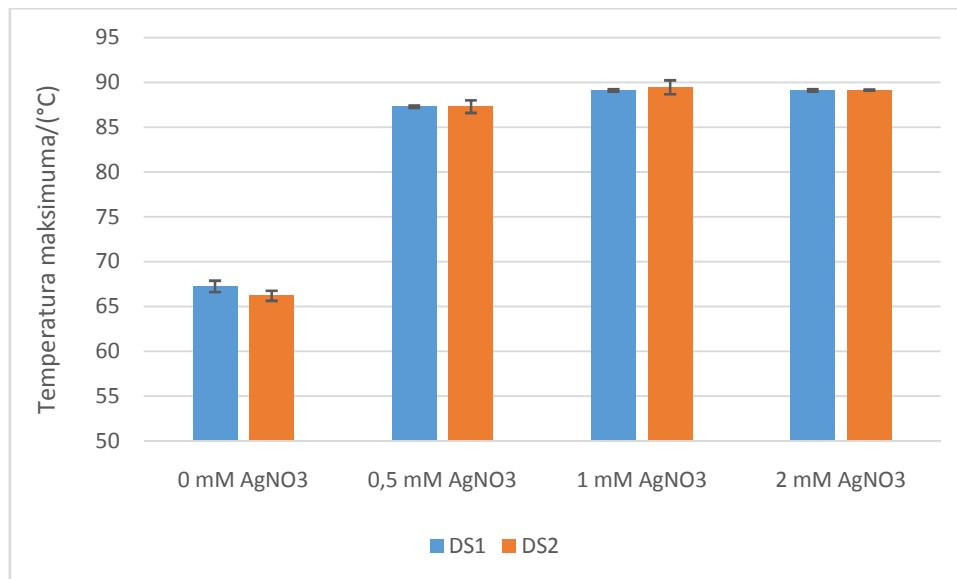


**Slika 8** Amilografski profili ispitivanih uzoraka pšeničnog brašna



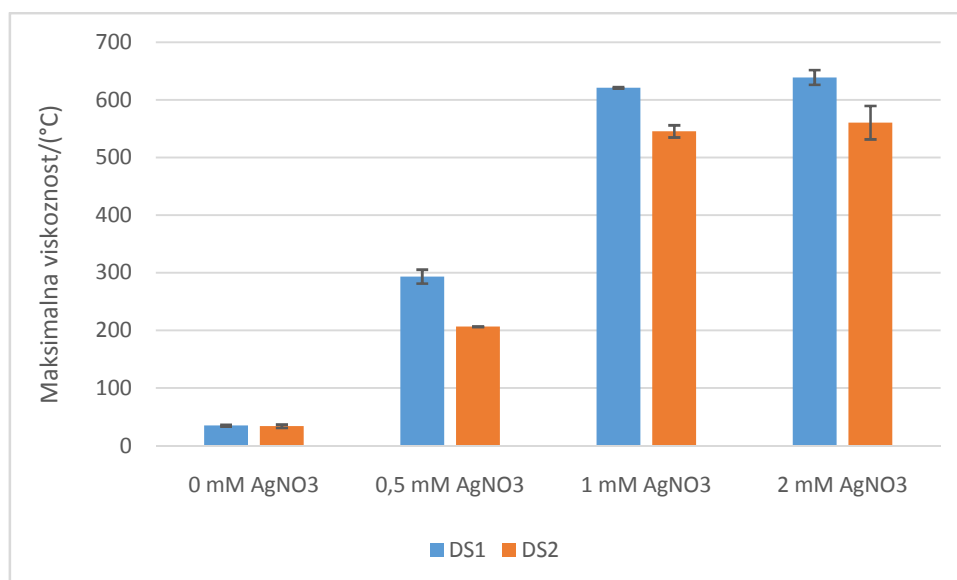
\* Amilolitička aktivnost: 0 mM > 0,5 mM > 1 mM > 2 mM  $\text{AgNO}_3$   
 \*\* Stupanj oštećenosti škroba: DS1 = 3,15 %; DS2 = 6,13 %  
 \*\*\* Prikazani podaci su srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija

**Slika 9** Utjecaj stupnja oštećenosti škroba i inaktivacije amilolitičkih enzima na početnu temperaturu želatinizacije



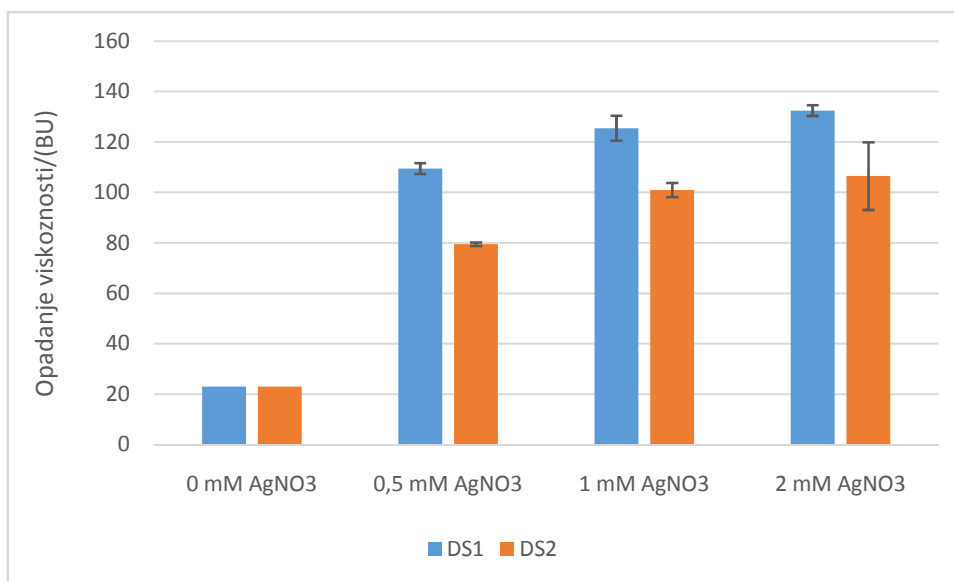
\* Amilolitička aktivnost: 0 mM > 0,5 mM > 1 mM > 2 mM AgNO<sub>3</sub>  
 \*\* Stupanj oštećenosti škroba: DS1 = 3,15 %; DS2 = 6,13 %  
 \*\*\* Prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija

**Slika 10** Utjecaj stupnja oštećenosti škroba i inaktivacije amilolitičkih enzima na temperaturu maksimuma



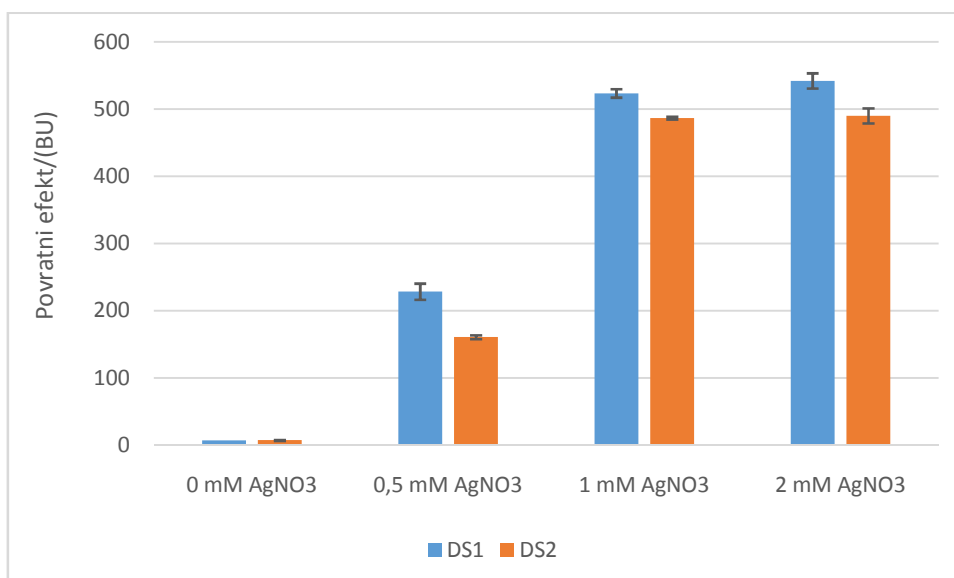
\* Amilolitička aktivnost: 0 mM > 0,5 mM > 1 mM > 2 mM AgNO<sub>3</sub>  
 \*\* Stupanj oštećenosti škroba: DS1 = 3,15 %; DS2 = 6,13 %  
 \*\*\* Prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija

**Slika 11** Utjecaj stupnja oštećenosti škroba i inaktivacije amilolitičkih enzima na maksimalnu viskoznost suspenzije



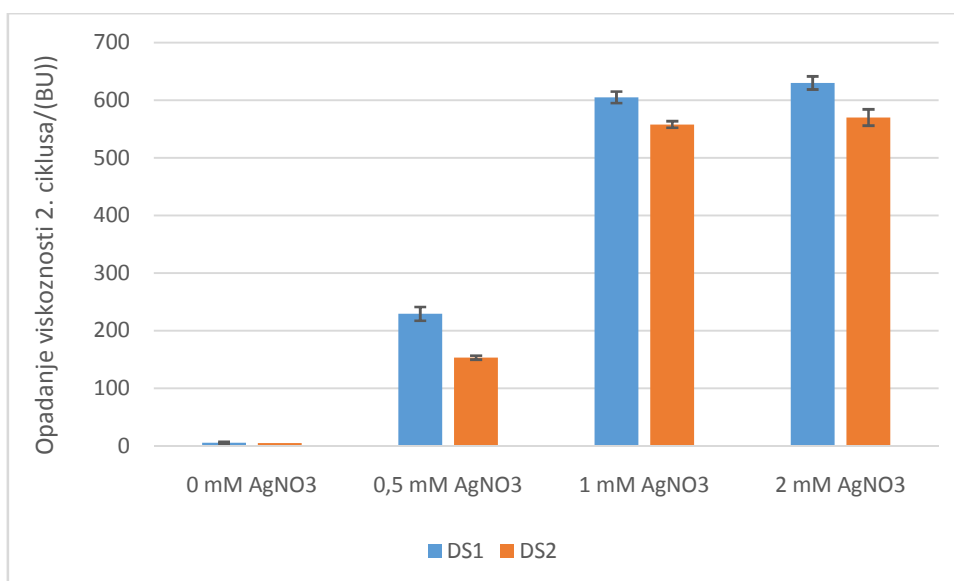
\* Amilolitička aktivnost: 0 mM > 0,5 mM > 1 mM > 2 mM AgNO<sub>3</sub>  
 \*\* Stupanj oštećenosti škroba: DS1 = 3,15 %; DS2 = 6,13 %  
 \*\*\* Prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija

**Slika 12** Utjecaj stupnja oštećenosti škroba i inaktivacije amilolitičkih enzima na opadanje viskoznosti



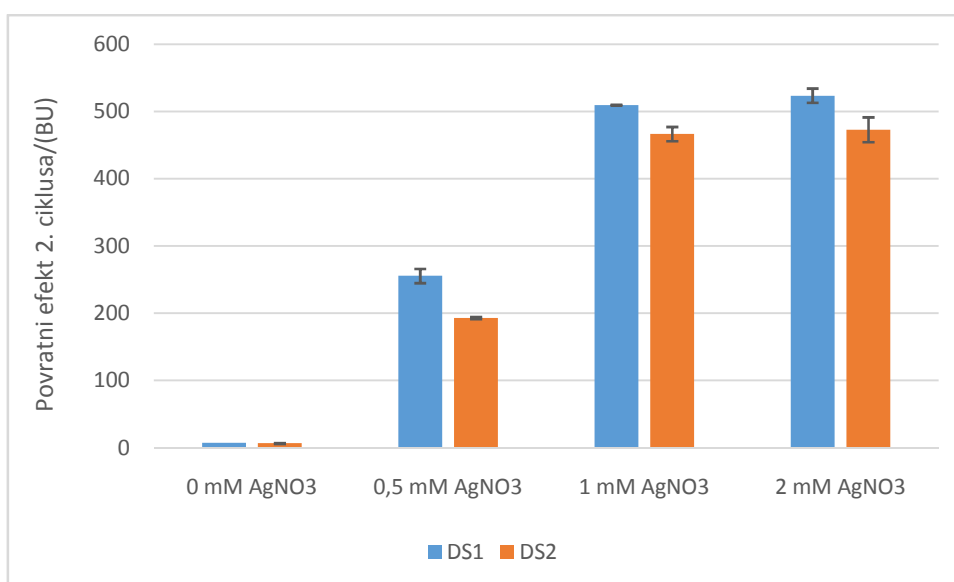
\* Amilolitička aktivnost: 0 mM > 0,5 mM > 1 mM > 2 mM AgNO<sub>3</sub>  
 \*\* Stupanj oštećenosti škroba: DS1 = 3,15 %; DS2 = 6,13 %  
 \*\*\* Prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija

**Slika 13** Utjecaj stupnja oštećenosti škroba i inaktivacije amilolitičkih enzima na povratni efekt



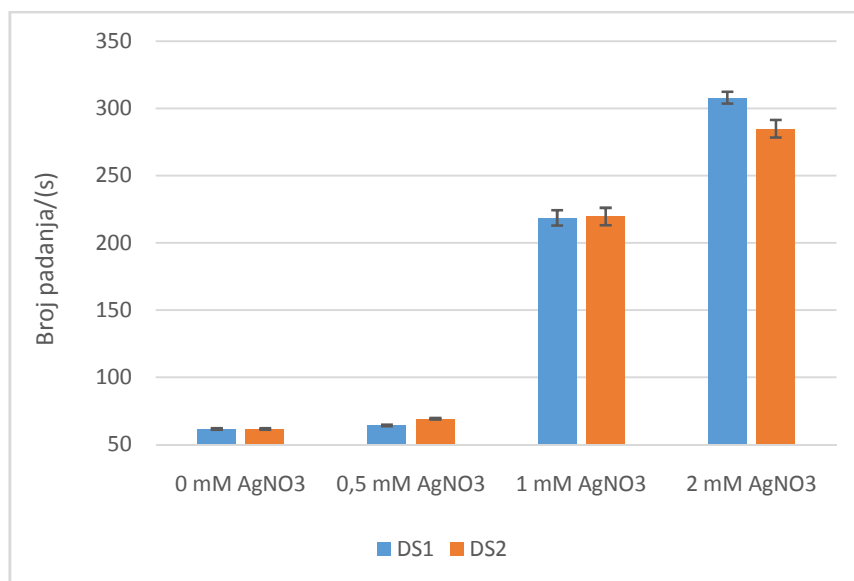
\* Amilolitička aktivnost: 0 mM > 0,5 mM > 1 mM > 2 mM AgNO<sub>3</sub>  
 \*\* Stupanj oštećenosti škroba: DS1 = 3,15 %; DS2 = 6,13 %  
 \*\*\* Prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija

**Slika 14** Utjecaj stupnja oštećenosti škroba i inaktivacije amilolitičkih enzima na opadanje viskoznosti 2. ciklusa



\* Amilolitička aktivnost: 0 mM > 0,5 mM > 1 mM > 2 mM AgNO<sub>3</sub>  
 \*\* Stupanj oštećenosti škroba: DS1 = 3,15 %; DS2 = 6,13 %  
 \*\*\* Prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija

**Slika 15** Utjecaj stupnja oštećenosti škroba i inaktivacije amilolitičkih enzima na povratni efekt 2. ciklusa



\* Amilolitička aktivnost: 0 mM > 0,5 mM > 1 mM > 2 mM AgNO<sub>3</sub>

\*\* Stupanj oštećenosti škroba: DS1 = 3,15 %; DS2 = 6,13 %

\*\*\* Prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija

**Slika 16** Utjecaj stupnja oštećenosti škroba i inaktivacije amilolitičkih enzima na broj padanja

## **5.RASPRAVA**



Na **Slici 8** prikazani su kompletni amilografski profili ispitivanih uzoraka pšeničnog brašna. Vidljiv je utjecaj inaktivacije amilolitičkih enzima srebrovim nitratom i različitog stupnja oštećenosti škroba uzoraka. Maksimalna viskoznost, kao indirektni pokazatelj amilolitičke aktivnosti ispitivanog uzorka, je vrlo važan podatak u evaluaciji kvalitete brašna. Istraživanja koja se odnose na amilografsko određivanje svojstava pšeničnog brašna uglavnom u obzir uzimaju utjecaj različite amilolitičke aktivnosti uzoraka, dok je vrlo mali broj istraživanja koja u obzir uzimaju i stupanj oštećenosti škrobnih granula.

**Slike 9-15** prikazuju utjecaj stupnja oštećenosti škrobnih granula i inaktivacije amilolitičkih enzima srebrovim nitratom na amilografske parametre.

Kad se pšenično brašno zagrijava u prisutnosti vode uz miješanje, škrobne granule apsorbiraju vodu i bubre, što rezultira povećanjem viskoznosti. Temperatura na samom početku ovog porasta viskoznosti može se smatrati početnom temperaturom želatinizacije. Nije uočen značajan utjecaj stupnja oštećenosti škrobnih granula i inaktivacije amilolitičkih enzima na početnu temperaturu želatinizacije (**Slika 9**).

Bubrenje škrobnih granula, uz izlazak amiloze u međugranularni prostor, povećava viskoznost. Viskoznost suspenzije povećava se do točke u kojoj je broj nabubrenih netaknutih škrobnih granula najveći, a ova točka se zove maksimalna viskoznost i smatra se pokazateljem sposobnosti vezivanja vode. Utjecaj stupnja oštećenosti škroba na temperaturu maksimuma nije bio značajan dok je inaktivacija amilolitičkih enzima već pri dodatku od 0,5 mM AgNO<sub>3</sub> značajno (> 20 °C) povećala temperaturu maksimuma (**Slika 10**).

Inaktivacija amilolitičkih enzima značajno povećava maksimalnu viskoznost suspenzije brašna i vode, dok se povećanjem stupnja oštećenosti škrobnih granula te vrijednosti smanjuju što se može objasniti činjenicom da su oštećene škrobne granule podložnije enzimskom utjecaju, što dovodi do brže razgradnje škroba i manjeg intenziteta želatinizacije (**Slika 11**). Najveće smanjenje (87 BU) utvrđeno je za uzorak s dodatkom 0,5 mM AgNO<sub>3</sub>. Ovi rezultati su u skladu s rezultatima koje su dobili Marioti i sur. (2005.) koji su u svom radu ispitivali utjecaj brzine zagrijavanja suspenzije na amilografsko ispitivanje različitih uzoraka brašna.

Tijekom daljnjeg zagrijavanja granule mogu puknuti, što rezultira smanjenjem viskoznosti. Tijekom razdoblja održavanja na 92 °C, uzorak je podvrgnut mehaničkom smicanju, što dovodi do daljnjeg narušavanja škrobnih granula i izlasku amiloze. Molekule amiloze se manje ili više orijentiraju u smjeru strujanja, što pridonosi opadanju viskoznosti.

Parametar "opadanje viskoznosti" je indikator stabilnosti i što je to opadanje viskoznosti veće, manja je stabilnost škrobne paste. Na **Slici 12** je vidljivo da se povećanjem stupnja

oštećenosti škroba smanjuje opadanje viskoznosti, odnosno povećava se stabilnost škrobne paste. Kod uzorka bez dodatka otopine srebrovog nitrata nije bilo promjene u opadanju viskoznosti s obzirom na stupanj oštećenosti škroba.

Kad se uzorak naknadno ohladi na 50 °C, preslagivanje amiloznih lanaca rezultira povećanjem viskoznosti i formacijom gela, koje se definira kao "povratni efekt". Ovaj parametar se odnosi na retrogradaciju amiloznih lanaca.

Iz rezultata prikazanih na **Slici 13** je vidljivo da se povećanjem dodatka srebrovog nitrata značajno povećava povratni efekt, što znači da se olakšava retrogradacija amiloze i stvaranje škrobnog gela, dok se povećanjem stupnja oštećenosti škroba povratni efekt smanjuje.

Opadanje viskoznosti drugog amilografskog ciklusa je bilo više izraženo nego, kod prvog ciklusa zbog pojave histereze u škrobnoj pasti kod svih uzoraka bez obzira na stupanj oštećenosti škroba i razine inaktivacije amilolitičkih enzima (**Slike 12 i 14**).

Kod povratnog efekta drugog amilografskog ciklusa nisu uočene razlike u odnosu na povratni efekt prvog ciklusa.

Na **Slici 15** prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja stupnja oštećenosti škroba i inaktivacije amilolitičkih enzima na broj padanja. Broj padanja nakon oštećenja škrobnih granula nije mijenjao svoju vrijednost osim kod najvećeg dodatka srebrovog nitrata (2 mM) gdje je izmjereno smanjenje od 23 s. To se može pripisati brzini metode određivanja broja padanja jer kod uzoraka s viskom amilolitičkom aktivnošću analiza ne traje dovoljno dugo da bi stupanj oštećenja škrobnih granula značajno utjecao na podložnost enzimskoj razgradnji.

## **6.ZAKLJUČCI**

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, može se zaključiti da stupanj oštećenosti škroba i inaktivacija amilolitičkih enzima srebrovim nitratom značajno utječu na parametre amilografskog ispitivanja uzoraka pšeničnog brašna.

Stupanj oštećenosti škrobnih granula nema utjecaj na temperaturu maksimuma, dok ju inaktivacija amilolitičkih enzima već pri dodatku od 0,5 mM AgNO<sub>3</sub> značajno povećava (> 20 °C).

Povećanjem stupnja oštećenosti škrobnih granula smanjuje se maksimalna viskoznost suspenzije što se može objasniti činjenicom da su oštećene škrobne granule podložnije enzimskom utjecaju, što dovodi do brže razgradnje škroba i manjeg intenziteta želatinizacije

Stupanj oštećenosti škroba značajno utječe na određivanje broja padanja samo u slučajevima kad se ispituju uzorci s niskom amilolitičkom aktivnošću jer kod uzoraka s visokom amilolitičkom aktivnošću analiza ne traje dovoljno dugo da bi stupanj oštećenja škrobnih granula značajno utjecao na podložnost enzimskoj razgradnji.

Dobiveni rezultati upućuju na potrebu određivanja stupnja oštećenja škroba kao vrlo važnog parametra prilikom evaluacije uzoraka pšeničnog brašna.

## **7. LITERATURA**

- Ćakarun J: Ispitivanje amilolitičke aktivnosti pšeničnog brašna Mikro Visko-Amilografom. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2012.
- Đaković Lj: *Pšenično brašno*. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1997.
- Jelača, S.L.: *Kemija i tehnologija pšenice*, Zavod za tehnologiju žita i brašna, Novi Sad., 1972.
- Jukić M.: Utjecaj enzima, hidrokoloida i emulgatora na dinamiku procesa starenja kruha, *Doktorski rad*, Osijek 2009.
- Kljusurić S: *Uvod u tehnologiju mljevenja pšenice*. Metković, 2000.
- Lovrić T: *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*. Skripta PBF, Sveučilište u Zagrebu, 1991.
- Ljubić Herceg I.: *Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na reološka i termofizikalna svojstva škrobnih suspenzija*, Osijek, srpanj 2011.
- Marić V: *Biotehnologija i sirovine*. Stručna i poslovna knjiga, Zagreb, 2000.
- Mariotti M, Zardi M, Lucisano M, Pagani MA: Influence of the heating rate on the pasting properties of various flours. *Starch-Starke* 57 (11), 564–572. 2005.
- Morrison R.T., Boyd R.T: *Organska kemija*, 1973.
- Novaković A.: Amiloza i Amilopektin, Novi Sad, 2008.
- Šubarić D., Babić J., Ačkar Đ.: *Tehnologija škroba*, Prehrambeno – tehnološki fakultet, Interna skripta
- Tester R.F., Karkalas J., Qi X.: Starch structure and digestibility Enzyme-Substrate relationship. *World Poultry Sci J*, 60, 186-195, 2004.
- Tkalec D.: Utjecaj stupnja oštećenosti škroba na amilografsko ispitivanje pšeničnog brašna, *Diplomski rad*, Osijek, studeni, 2013.
- Ugarčić-Hardi Ž.: *Tehnologija proizvodnje i prerade brašna*, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 1999.
- Ugarčić-Hardi Ž., Koceva Komlenić D., Jukić M., Kuleš A: *Tehnologija prerade sirovina biljnog podrijetla I (Žitarice)*. Upute za laboratorijske vježbe, Prehrambeno – tehnološki fakultet, Osijek, 2010. <http://www.ptfos.hr/index.php/hr/nastavni-materijali> (20. 12. 2011.)