

# Primjena visokonaponskog električnog pražnjenja i kemijskih postupaka pri modificiranju škrobova

---

Grgić, Ivanka

Doctoral thesis / Disertacija

2020

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:109:571912>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-11**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK



Repository / Repozitorij:

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



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

**Ivanka Grgić**

**PRIMJENA VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG  
PRAŽNENJA I KEMIJSKIH POSTUPAKA  
PRI MODIFICIRANJU ŠKROBOVA**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

Osijek, lipanj, 2020.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

## DOKTORSKA DISERTACIJA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Poslijediplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo  
Zavod za prehrambene tehnologije  
Katedra za tehnologiju ugljikohidrata  
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska  
UDK:

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Znanstvena grana:** inženjerstvo  
**Tema rada:** je prihvaćena na III. sjednici Fakultetskog vijeća  
Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 19. prosinca 2018.  
**Voditelj:** *izv. prof. dr. sc. Đurđica Ačkar*

### PRIMJENA VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG PRAŽNENJA I KEMIJSKIH POSTUPAKA PRI MODIFICIRANJU ŠKROBOVA

*Ivanka Grgić, 36/D*

**Sažetak:** Nativni škrob zbog svojih svojstava poput retrogradacije, nestabilnosti u kiselim uvjetima i pri visokim temperaturama, te nedostataka povezanih sa želatinizacijom ima ograničenu primjenu u prehrambenoj industriji. Da bi se poboljšala svojstva nativnog škroba provode se različiti postupci modifikacije. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj viskonaponskog električnog pražnjenja (HVED) na svojstva krumpirovog, kukuruznog, pšeničnog i tapiokinog škroba: želatinizaciju, kapacitet bubrenja, pastozna svojstva, topljivost, bistroću paste, udio amiloze, udio rezistentnog i oštećenog škroba, boju škroba, čvrstoću škrobnog gela i veličinu čestica, te sinergistički utjecaj HVED-a i kemijske modifikacije s natrijevim tripolifosfatom i natrijevim hidrogenfosfatom na promatrana svojstva. U tu svrhu praćen je utjecaj HVED-a prije i nakon kemijske modifikacije kako bi se utvrdio utjecaj redoslijeda tretiranja na postignuta svojstva. U radu je ispitana i morfologija škrobnih granula nativnih i modificiranih škrobova uz primjenu skenirajućeg elektronskog mikroskopa kao i FT-IR analiza s ciljem utvrđivanja prisustva novih veza u molekulama škroba. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da HVED primijenjen u ovom istraživanju uzrokuje promjene na škrobnim granulama, ali one nisu značajne, te da se HVED može primijeniti u modificiranju škroba i kao samostalan proces i u kombinaciji s kemijskim modifikacijama pri čemu je značajniji utjecaj HVED-a zabilježen u kombinaciji s natrijevim hidrogenfosfatom.

**Ključne riječi:** škrob, modifikacija, viskonaponsko električno pražnjenje, termofizikalna svojstva

**Rad sadrži:** 111 stranica  
70 slika  
3 tablice  
2 priloga  
114 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski  
**Sastav Povjerenstva za obranu:**

- |                                 |               |
|---------------------------------|---------------|
| 1. prof. dr. sc. Drago Šubarić  | predsjednik   |
| 2. prof. dr. sc. Jurislav Babić | član          |
| 3. prof. dr. sc. Zoran Herceg   | član          |
| 4. doc. dr. sc. Antun Jozinović | zamjena člana |

**Datum obrane:** 5. lipnja 2020.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Rektoratu sveučilišta u Osijeku, Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu te samo u elektroničkom obliku u Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici u Osijeku

## BASIC DOCUMENTATION CARD

DOCTORAL THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Postgraduate University Study-Food Engineering  
Department of Food Technologies  
Subdepartment of Carbohydrates Technology  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

**UDC:**

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Thesis subject** was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. III. held on December 19, 2018.

**Mentor:** *Đurđica Ačkar, PhD, associate prof.*

### APPLICATION OF HIGH-VOLTAGE ELECTRIC DISCHARGE AND CHEMICAL TREATMENTS IN STARCH MODIFICATION

*Ivanka Grgić, 36/D*

**Summary:** Native starch has limited use in the food industry due to its properties such as retrogradation, instability in acidic conditions and at high temperatures, and problems related to gelatinization has a limited use in the food industry. For that reason, different modification processes are being conducted to improve the properties of native starch. The aim of this research was to investigate the effect of high-voltage electrical discharge (HVED) on potato, corn, wheat and tapioca starch properties: gelatinization, swelling capacity, paste properties, solubility, paste clarity, amylose content, resistant and damaged starch contents, starch color, starch gel strength and particle size, and the synergistic effect of HVED and the chemical modification of starch with sodium tripolyphosphate and sodium hydrogen phosphate on the observed properties. For this purpose, the effect of HVED treatment will be monitored before and after chemical modification with sodium tripolyphosphate and sodium hydrogen phosphate to determine the effect of the treatment sequence on the properties. The morphology of the starch granules of native and modified starches was also investigated using a scanning electron microscope as well as a FT-IR analysis to detect the presence of new bonds in starch molecules. From the results, it can be concluded that HVED applied in this research causes insignificant changes on the starch granules and that it can be used in starch modification as a stand-alone process, as well as being used in combination with other chemical modifications in which a more significant effect of HVED was noted in combination with sodium-hydrogen-phosphate.

**Key words:** starch, modification, high-voltage electric discharge, thermophysical properties

**Thesis contains:** 111 pages  
70 figures  
3 tables  
2 supplements  
114 references

**Original in:** Croatian

**Defense committee:**

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. Drago Šubarić, PhD, prof.             | chair person |
| 2. Jurislav Babić, PhD, prof.            | member       |
| 3. Zoran Herceg, PhD, prof.              | member       |
| 4. Antun Jozinović, PhD, assistant prof. | stand-in     |

**Defense date:** June 5, 2020.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, University of Osijek; President's office, University Library in Zagreb and only in electronic version in University Library in Osijek



*Zahvaljujem cijenjenoj mentorici izv. prof. dr. sc. Đurđici Ačkar na pomoći, strpljenju i savjetima tijekom izrade ove doktorske disertacije. Bez Vaše pomoći puno teže bi bilo stići do cilja i zbog toga - HVALA Vam od srca!*

*Hvala djelatnicima Katedre za tehnologiju ugljikohidrata Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek na suradnji, pomoći i lijepim trenutcima provedenim u laboratoriju.*

*Zahvaljujem Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Brodsko-posavske županije i ravnatelju izv. prof. prim. dr. sc. Anti Cvitkoviću, dr.med. na omogućenoj edukaciji i znanstvenom usavršavanju.*

*Hvala Zorani Marić, dr. med. na riječima ohrabrenja i podrške kad je to bilo potrebno.*

*Silvana, Zvonka, Dragana hvala vam na svim zajedničkim druženjima, smjehu, razgovorima, poticajima....*

*Velika hvala mojoj obitelji bez čije bi podrške, ljubavi i razumijevanja sve bilo puno teže. Volim vas puno i sretna sam što vas imam!*

*Ovaj rad sufinanciran je sredstvima sveučilišnog projekta „Primjena plinske plazme i ultrazvuka u postupcima modifikacije škroba“ te sredstvima Brodsko-posavske županije i Općine Rešetari.*

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	3
2.1. Škrob .....	4
2.2. Škrobna granula .....	4
2.3. Proizvodnja škroba .....	9
2.4. Svojstva škroba .....	10
2.4.1. Želatinizacija i retrogradacija škroba .....	10
2.5. Modificirani škrobovi .....	12
2.5.1. Kemijski postupci modifikacije škroba .....	13
2.5.2. Fizikalni postupci modifikacije škroba.....	14
2.6. Netermičke metode modifikacije škroba.....	15
2.6.1. Visoki hidrostatski tlak.....	16
2.6.2. Ultrazvuk.....	17
2.6.3. Pulsirajuće električno polje.....	18
2.6.4. Visokonaponsko električno pražnjenje (HVED) i hladna plazma .....	19
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	26
<b>3.1. ZADATAK</b> .....	27
<b>3.2. MATERIJALI</b> .....	28
<b>3.3. METODE</b> .....	28
3.3.1. Modifikacija škroba primjenom visokonaponskog električnog pražnjenja .....	28
3.3.2. Modifikacija škroba natrijevim hidrogenfosfatom .....	28
3.3.3. Modifikacija škroba natrijevim tripolifosfatom .....	29
3.3.4. Ispitivanje utjecaja redoslijeda modifikacije .....	29
3.3.5. Određivanje udjela rezistentnog škroba metodom AOAC 2002.2.....	29
3.3.6. Određivanje stupnja oštećenosti škroba (AACC 76-31.01).....	30
3.3.7. Određivanje udjela amiloze pomoću kita Megazyme K-AMYL 04/06.....	31
3.3.8. Određivanje svojstava želatinizacije.....	31
3.3.9. Određivanje svojstava paste .....	32
3.3.10. Određivanje kapaciteta bubrenja i indeksa topljivosti škrobova .....	33
3.3.11. Određivanje bistroće škrobnih pasti .....	33
3.3.12. Određivanje boje škroba kromametrom .....	33
3.3.13. Određivanje veličine čestica škroba .....	34
3.3.14. Određivanje teksture škrobnih gelova .....	35
3.3.15. Snimanje granula škroba skenirajućim elektronskim mikroskopom .....	35
3.3.16. FT-IR analiza .....	35
3.3.17. Statistička obrada podataka.....	36

<b>4. REZULTATI</b> .....	37
4.1. Udio rezistentnog škroba, oštećenog škroba i amiloze.....	38
4.2. Svojstva želatinizacije određena diferencijalnim motridbenim kalorimetrom .....	40
4.3. Svojstva paste određena mikro visko-amilografom .....	42
4.4. Kapacitet bubrenja (KB) i indeks topljivosti (IT) škrobova.....	46
4.5. Bistoća škrobnih pasti.....	50
4.6. Boja škroba određena kromametrom .....	51
4.7. Veličina čestica škroba .....	53
4.8. Tekstura škrobnih gelova .....	54
4.9. Morfologija granula škroba određena skenirajućim elektronskim mikroskopom....	56
4.10. FT-IR analiza .....	72
<b>5. RASPRAVA</b> .....	76
5.1. Udio rezistentnog škroba, oštećenog škroba i amiloze.....	77
5.2. Svojstva želatinizacije nativnih i modificiranih škrobova .....	80
5.3. Svojstva paste nativnih i modificiranih škrobova .....	82
5.4. Kapacitet bubrenja (KB) i indeks topljivosti (IT) škrobova .....	85
5.5. Bistoća škrobnih pasti.....	86
5.6. Boja škroba.....	88
5.7. Veličina čestica škroba .....	90
5.8. Tekstura škrobnih gelova .....	91
5.9. SEM analiza granula škroba .....	93
5.10. FT-IR analiza .....	94
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	96
<b>7. LITERATURA</b> .....	99
<b>8. PRILOZI</b> .....	108

## Popis oznaka, kratica i simbola

AG	adhezija škrobnog gela
BD	„kidanje“ (engl. <i>break down</i> )
BIS	bistroća škrobne paste
BU	Brabenderova jedinica
C	zasićenost boje (engl. <i>Chroma</i> )
DBP	dielektrično barijerno pražnjenje
DMK	diferencijalna motridbena kalorimetrija
DS	stupanj supstitucije
HVED	visokonaponsko električno pražnjenje (engl. <i>Hight-voltage electric discharge</i> )
HVED+Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	tretman visokonaponskim električnim pražnjenjem i natrij hidrogenfosfatom
HVED+Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	tretman visokonaponskim električnim pražnjenjem i natrij tripolifosfatom
h°	ton boje (engl. <i>hue angle</i> )
IR	infracrvena spektroskopija
IT	indeks topljivosti
KB	kapacitet bubrenja
L*, a*, b*	parametri CIELab sustava za boje
MV	maksimalna viskoznost
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	natrij hidrogenfosfat
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> +HVED	tretman natrij hidrogenfosfatom i visokonaponskim električnim pražnjenjem
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	natrij tripolifosfat
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> +HVED	tretman natrij tripolifosfatom i visokonaponskim električnim pražnjenjem
OS	oštećeni škrob
PEP	pulsirajuće električno polje
RS	rezistentni škrob
SB	„seatback“
SEM	skenirajući elektronski mikroskop
SP	sila pucanja
T	transmitancija
T <sub>p</sub>	temperatura početka želatinizacije
t <sub>e</sub>	temperatura završetka želatinizacije
t <sub>g</sub>	temperatura staklastog prijelaza
t <sub>p</sub>	temperatura vrha želatinizacije
t <sub>0</sub>	početna temperatura želatinizacije
UA	udio amiloze
VC	veličina čestica škroba
Visk. 92°C	viskoznost škrobne paste na 92 °C
Visk. mij. 92 °C	viskoznost škrobne paste nakon 15 minuta miješanja na 92 °C
Visk. 50 °C	viskoznost škrobne paste na 50 °C
Visk. mij. 50 °C	viskoznost škrobne paste nakon 15 minuta miješanja na 50 °C
ΔE	ukupna promjena boje škroba
ΔH	entalpija želatinizacije

## **1. UVOD**

Škrob je, uz celulozu, najzastupljeniji ugljikohidrat u prirodi. Izgrađen je od ugljika, vodika i kisika, opće formule  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Nastaje kao produkt asimilacije u biljkama i nakuplja se u korijenu, gomolju, sjemenkama i stabljici. Jedan je od osnovnih nutrijenata u ljudskoj prehrani i važan izvor energije. Oko 70 – 80 % kalorija dobivamo konzumiranjem škroba. Čisti škrob je fini bijeli prah netopljiv u hladnoj vodi, bez mirisa je, neutralan i okusa po brašnu. Najznačajnije sirovine za proizvodnju škroba su: kukuruz, pšenica, krumpir, tapioka i riža. Fizikalno-kemijska i funkcionalna svojstva škroba ovise o njegovom botaničkom podrijetlu. Škrob se pojavljuje u obliku granula čija veličina, morfologija, oblik, sastav i molekularna struktura također ovise o botaničkom podrijetlu. Budući da je škrob vrlo raširen polimer, ima značajnu primjenu kako u prehrambenoj industriji, tako i u proizvodnji papira, tekstilnoj i farmaceutskoj industriji. U prehrambenoj industriji nativni i modificirani škrobovi koriste se u svrhu postizanja određenih svojstava proizvoda kao npr. za: ugušćivanje, stabilizaciju, vezivanje arome, stabiliziranje pjene te kao emulgatori, zamjena za masti, sredstvo za povećanje viskoznosti i dr. Nativni škrob zbog svojih svojstava kao što su: retrogradacija, nestabilnost u kiselim uvjetima i pri visokim temperaturama, te problemi vezani uz želatinizaciju ima relativno malu i ograničenu primjenu u prehrambenoj industriji. Kako bi se poboljšala svojstva nativnog škroba provode se fizikalni, kemijski i enzimski postupci modifikacije.

Kemijski postupci modifikacije podrazumijevaju uvođenje funkcionalnih skupina u molekule škroba, a u te postupke ubrajamo: eterifikaciju, esterifikaciju, kationizaciju, oksidaciju, umrežavanje i kombinaciju navedenih postupaka.

Fizikalnim postupcima modifikacije poboljšava se topljivost škrobnih granula u vodi i smanjuje njihova veličina. Fizikalne metode uključuju primjenu topline, vlage, smicanja i tlaka. Najčešći fizikalni postupci modifikacije škroba su: preželatizacija, obrada škroba toplinom i vlagom, ekstruzija i „bubrenje“.

Netermičke metode modifikacije škroba su postale predmet istraživanja u posljednje vrijeme, a najčešće uključuju primjenu visokonaponskog električnog pražnjenja, ultrazvuka, visokog hidrostatskog tlaka i pulsirajućeg električnog polja.

Cilj ovoga rada bio je ispitati utjecaj visokonaponskog električnog pražnjenja na svojstva krumpirovog, kukuruznog, pšeničnog i tapiokinog škroba, te mogućnosti kombiniranja ove obrade s kemijskim modifikacijama: fosforilacijom natrijevim tripolifosfatom i natrijevim hidrogen fosfatom. Škrob je tretiran visokonaponskim električnim pražnjenjem prije i nakon kemijskih modifikacija kako bi se utvrdio utjecaj redosljeda tretiranja na postignuta svojstva.

## **2. TEORIJSKI DIO**



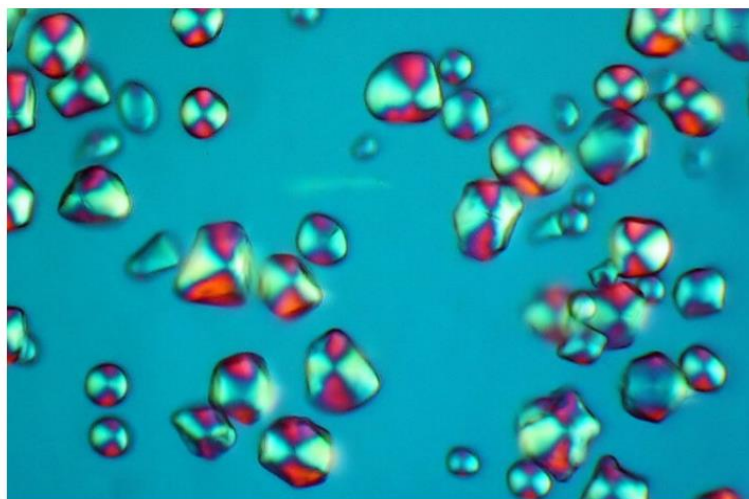
### 2.1. Škrob

Škrob je glavni rezervni polisaharid biljaka i, nakon celuloze, drugi najzastupljeniji ugljikohidrat u prirodi. Prisutan je u različitim biljnim izvorima kao što su sjemenke, stabljika, korijen (Alcázar-Alay i Meireles, 2015; Din i sur., 2017.). Škrob nastaje u kloroplastima zelenog lišća i amiloplastima, organelama odgovornim za rezerve škroba sintetizirane iz žitarica i gomolja i biljke ga koriste kao izvor ugljika i energije. Zastupljenost škroba u žitaricama je 40 - 90 %, u gomolju 65 - 85 %, u korijenju 30 - 70 % te u mahunarkama 25 - 50 % (Alcázar-Alay i Meireles, 2015.). Škrob je sastavljen od dva polisaharida: amiloze koja je izgrađena od jedinica D-glukoze povezane  $\alpha$ -D-(1 $\rightarrow$ 4) vezama i amilopektina koji je razgranat i gdje su molekule glukoze uz  $\alpha$ -D-(1 $\rightarrow$ 4) veze povezane i  $\alpha$ -D-(1 $\rightarrow$ 6) vezama. Takva konfiguracija pridonosi kristalnoj strukturi škrobne granule koja se odnosi na molekule amilopektina, dok amiloza čini većinu amorfnih tvari nasumično raspoređenih među amilopektinom (Bertolini, 2009.).

### 2.2. Škrobna granula

Škrob se u prirodi javlja u granulama čija veličina, morfologija, oblik, sastav i molekularna struktura ovise o botaničkom porijeklu. Granule su promjera od 0,1 do 200  $\mu$ m, a oblikom mogu biti okruglaste, ovalne, uglate. Udio amiloze i amilopektina također je određen botaničkim porijeklom. Većina škrobova sadrži 20 - 30 % amiloze i 70 - 80 % amilopektina (Jane, 2009.; Babić i sur., 2013.; Alcázar-Alay i Meireles, 2015.; Din i sur., 2017.), dok voštani škrobovi sadrže do 15 % amiloze, a visokoamilozni škrobovi više od 40 % amiloze (Tester i sur., 2004.). U prirodnom škrobu molekule amiloze i amilopektina međusobno su povezane u morfološki prepoznatljivu strukturu škrobne granule (Stephen i sur., 2006.). U škrobnoj granulici uz amilopektin i amilozu, prisutne su slobodne masne kiseline i fosfolipidi, koji, iako su zastupljeni u manjoj količini utječu na funkcionalna svojstva škroba (Jane, 2009.). Udio fosfora u škrobnoj granulici kao neškrobne komponente iznosi oko 0,003 % u voštanom kukuruznom škrobu, te do 0,09 % u krumpirovom škrobu. Prisutan je u obliku fosfatnih monoestera i fosfolipida. Fosfatni monoesteri povezani su kovalentnim vezama za amilopektinski dio škrobne granule i povećavaju bistroću i viskoznost škrobne paste, dok prisutnost fosfolipida rezultira neprozirnim i manje viskoznim pastama. Fosfolipidi prisutni u škrobu imaju sklonost formiranju kompleksa s amilozom i dugim razgranatim lancima amilopektina što ograničava bubrenje škrobnih granula. Pšenični i rižin škrob imaju veći udio fosfolipida i formiraju škrobne paste s manjom transmitancijom nego kukuruzni i krumpirov škrob koji imaju manji udio fosfolipida (Singh i sur., 2003.). U škrobnoj granulici amiloza i amilopektin čine od 98 do 99 % suhe tvari (Tester i sur., 2004.). Molekule amiloze i amilopektina u granulici škroba smještene su radijalno (okomito na površinu) i međusobno su povezane vodikovim vezama. Promatrajući škrobne granule pod mikroskopom uz korištenje polariziranog svjetla uočava se fenomen nazvan birefringencija do

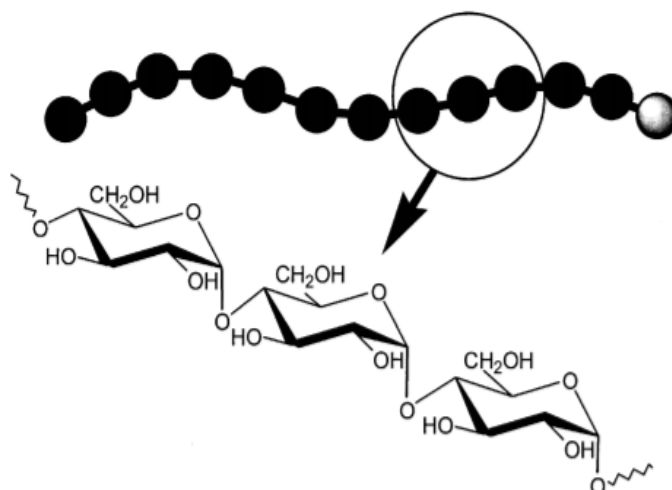
kojeg dolazi zbog refrakcije polarizirane svjetlosti koju uzrokuju neoštećeni kristalni dijelovi granule, što rezultira pojavom karakterističnog malteškog križa na površini granule (**Slika 1**).



**Slika 1** Škrobne granule kukuruza promatrane mikroskopom pod polariziranim svjetlom (preuzeto s Web 1)

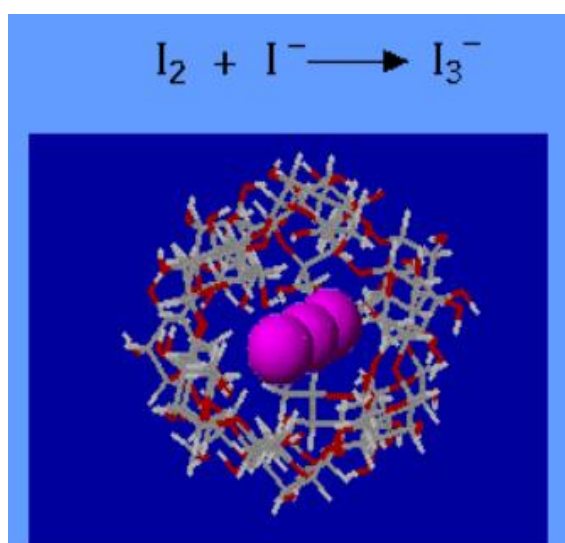
### *Amiloza*

Amiloza (**Slika 2**) je ravnolančana molekula u kojoj su glukozne jedinice međusobno povezane  $\alpha$ -(1→4)-glikozidnom vezom u ravni lanac s malim brojem razgranatih lanaca (Ačkar, 2010.; Zavareze i Dias, 2011.). Molekulska masa amiloze kreće se oko  $1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ , a stupanj polimerizacije iznosi 324 - 4920 s oko 9 - 25 točkaka grananja što je ekvivalentno 3 - 11 bočnih lanaca po molekuli (Tester i sur, 2004.). Amiloza ima strukturu uzvojnice čija unutrašnjost sadrži atome vodika, dok su hidroksilne skupine smještene s vanjske strane. Atomi vodika u unutrašnjosti uzvojnice čine amilozu hidrofobnom i omogućavaju formiranje kompleksa sa slobodnim masnim kiselinama, jodom i nekim alkoholima (Zavareze i Dias, 2011.). Amiloza izolirana iz škroba gomolja (npr. krumpira i tapioke) ima veću molekulsku masu nego amiloza iz škroba žitarica poput kukuruza i pšenice (Jane, 2009.; Gunaratne i Corke, 2016.). Pri višim koncentracijama otopljene molekule amiloze formiraju gel, dok pri nižim koncentracijama teže ka retrogradaciji (kristalizaciji), koja ovisi o stupnju polimerizacije, pri čemu molekule stupnja polimerizacije oko 80 imaju najvišu tendenciju retrogradacije, a molekule nižeg i višeg stupnja polimerizacije su stabilnije. Osim na retrogradaciju, stupanj polimerizacije utječe i na topljivost molekula na način da su molekule stupnja polimerizacije od 80 do 100 vrlo teško topljive, a topljivost se povećava u smjeru povećanja ili smanjenja stupnja polimerizacije (Ačkar, 2010.).



**Slika 2** Struktura molekule amiloze (Dumitriu, 2005.).

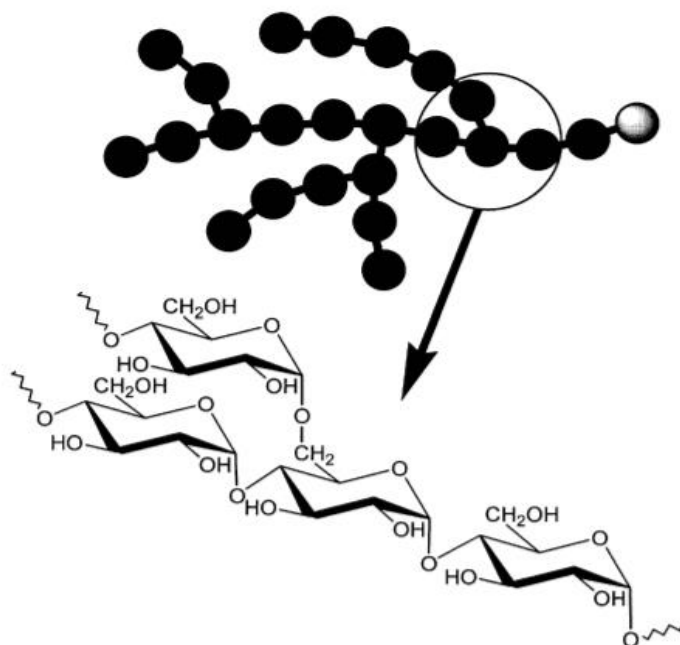
Molekula amiloze zbog hidrofobne unutrašnjosti, s jodom tvori kompleks plave boje (**Slika 3**) što se koristi za dokazivanje škroba u namirnicama (Ačkar, 2010.; Gunaratne i Corke, 2016.).



**Slika 3** Kompleks amiloza jod (preuzeto Web 2).

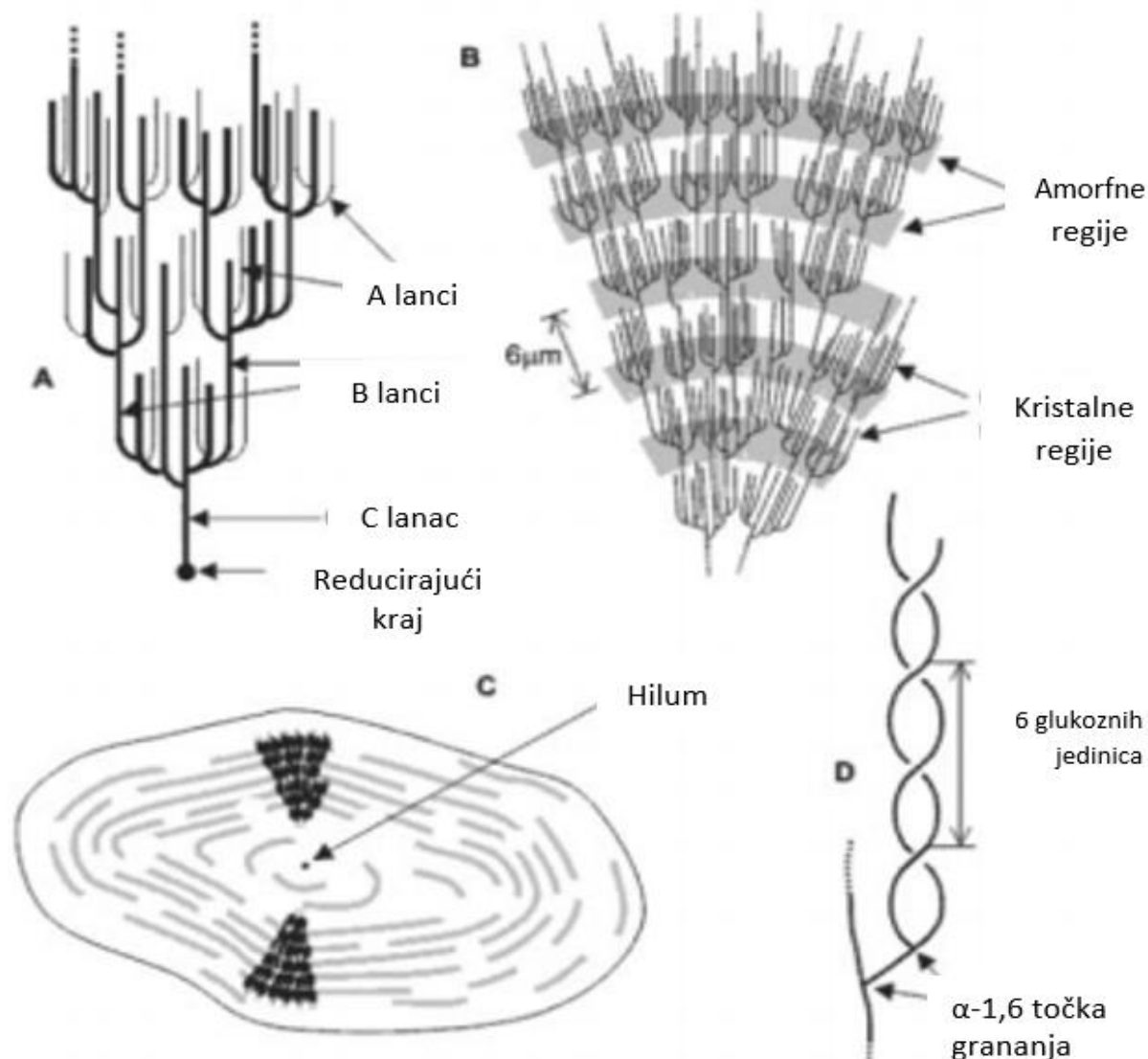
### *Anilopektin*

Anilopektin (**Slika 4**) je osnovna jedinica škrobne granule i jedan od najvećih prirodnih polimera. Molekule anilopektina smještene su radijalno unutar škrobne granule s krajevima lanaca usmjerenim prema površini granule (Denyer i sur, 2001.). Za razliku od amiloze anilopektin je puno veća molekula i ima molekulsku masu  $1 \times 10^7 - 1 \times 10^9$  (Tester i sur. 2004.).



**Slika 4** Struktura molekule amilopektina (Dumitriu, 2005.).

Amilopektin je razgranata molekula sastavljena od molekula glukoze povezanih  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) vezama u linearne lance i  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) vezama na mjestima grananja (Gunaratne i Corke, 2016.). Stupanj polimerizacije (SP) amilopektina je oko 2 milijuna, pri čemu su lanci različite duljine: kratki sa stupnjem polimerizacije 12 - 20, dugi sa stupnjem polimerizacije 30 - 45 i vrlo dugi lanci čiji je stupanj polimerizacije veći od 60. Molekula amilopektina je građena od tri vrste lanaca (**Slika 5**). A lanci su ravnolančani u kojima su molekule glukoze povezane  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) vezama. B lanci sadrže jedan ili više A lanaca gdje su molekule glukoze povezane uz  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) veze i  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) vezama. Treća vrsta je C lanac koji sadrži reducirajući kraj molekule (Ačkar, 2010.). Struktura molekule amilopektina opisuje se modelom grozda u kojem kratki A lanci (SP 12 - 16) tvore dvostruke uzvojnice i udio tih lanaca je 80 - 90 %. Oni su povezani s dužim B lancima koji čine preostalih 10 - 20 %. Većina B lanaca produžena je u dva (SP oko 40) ili tri grozda (SP oko 70), ali ima i onih koji formiraju više grozdova (SP oko 110). B lanci su povezani međusobno ili se vežu za C lanac koji ima reducirajući kraj i u jednoj molekuli prisutan je samo jedan C lanac. Polukristalna struktura škrobne granule utvrđena je difrakcijom X zraka, pri čemu oko 70 % mase škrobne granule čini amorfna regija i oko 30 % kristalna. Amorfna regija je većim dijelom sastavljena od amiloze, ali je prisutan i dio amilopektina, dok je kristalna regija prvenstveno sastavljena od amilopektina (Dapčević-Hadnađev, 2013.).



**Slika 5** A) osnovni oblik amilopektina; B) amorfna i kristalna regija s koncentričnim prstenovima rasta vidljivim pod svjetlosnim mikroskopom; C) orijentacija molekule amilopektina u poprečnom presjeku granule; D) struktura dvostruke uzvojnice (Sajlata i Kulkarni, 2006.).

Uz amilozu i amilopektin u škrobnoj granuli su prisutne i druge, tzv. neškrobne, komponente. Lipidi su jedna od važnijih takvih komponenti i njihova zastupljenost u škrobnoj granuli iznosi 5 - 10 g/kg, a većinom su izgrađeni od slobodnih masnih kiselina i fosfolipida (Svihus i sur., 2005.). Osim lipida, škrobna granula može sadržavati i proteine, pa tako pročišćeni škrob sadrži < 0,6 % proteina. U škrobnoj granuli mogu biti prisutne i male količine minerala (kalcij, magnezij, fosfor, kalij i natrij) pri čemu svi osim fosfora imaju mali funkcionalni značaj (Tester i sur., 2004.).

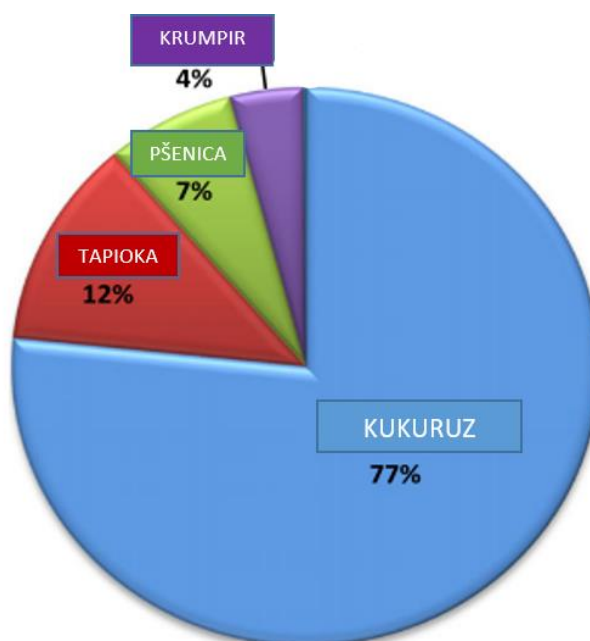
### 2.3. Proizvodnja škroba

Procjenjuje se da je ukupna proizvodnja škroba u 2015. godini iznosila 84 milijuna tona (MT). Glavni izvor škroba bio je kukuruz s približno 64 MT, zatim tapioka s 10,2 MT, a slijedi pšenica sa 6,0 MT i krumpir s 3,4 MT (**Slika 6**) (Shevkani i sur., 2017.).

Autori Ranum i sur. (2014.) navode glavne proizvođače kukuruza u 2012. godini među kojima su najveći SAD (274 MT), Kina (208 MT) i Brazil (71 MT) koji zajedno čine 63 % ukupne proizvodnje kukuruza. Glavni proizvođači pšenice su Kina (120 MT), Indija (95 MT), SAD (60 MT), slijedi Francuska na četvrtom mjestu s proizvodnjom od 40 MT (Shevkani i sur., 2017.).

Godišnja proizvodnja krumpira iznosi oko 373 MT i na četvrtom je mjestu po važnosti (iza pšenice, kukuruza i riže) (Singh i sur., 2014.). Prema Singh i sur. (2014.) prednost krumpirovog škroba u odnosu na druge vrste škrobova (kukuruzni, pšenični i rižin škrob) su niska temperatura želatinizacije i stvaranje prozirne paste visoke viskoznosti.

Tapioka je jedna od najvažnijih kultura Tajlanda. Korijen tapioke dobar je izvor škroba i dostupan je industriji tijekom čitave godine. Ukupna godišnja proizvodnja tapioka korijena je oko 30 MT (Deeyai i sur., 2013.).



**Slika 6** Komercijalni izvori škroba (Shevkani i sur., 2017.).

## 2.4. Svojstva škroba

### 2.4.1. Želatinizacija i retrogradacija škroba

Neoštećene škrobne granule netopljive su u hladnoj vodi, ali reverzibilno upijaju male količine vode. Zagrijavanjem škrobne suspenzije u vodi doći će do želatinizacije škrobnih granula pri čemu dolazi do narušavanja strukture unutar granule i njenog ireverzibilnog otapanja, gubitka optičke aktivnosti i kristalne strukture, te povećanja probavljivosti škroba (Ačkar, 2010.). U užem smislu želatinizacija je toplinsko narušavanje kristalne strukture škrobne granule, dok u širem smislu podrazumijeva bubrenje škrobne granule i otapanje topljivih polisaharida. Temperatura želatinizacije ovisi o vrsti i botaničkom porijeklu škroba, te o količini vode (Tester i Morrison, 1990.; Gunaratne i Corke, 2015.). Udio amiloze i raspon temperature želatinizacije za pojedine vrste škroba prikazani su u **Tablici 1**.

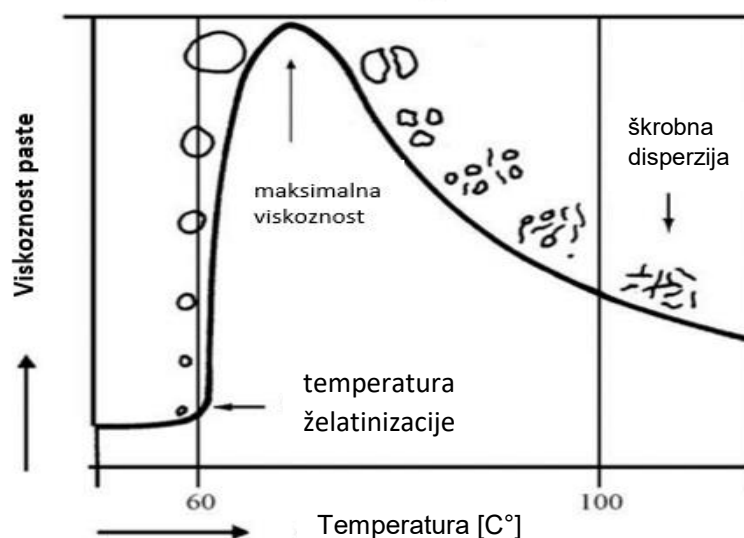
**Tablica 1** Udio amiloze i temperatura želatinizacije škroba (Gunaratne i Corke, 2015.)

Vrsta škroba	Udio amiloze (%)	Temperatura želatinizacije (°C)
<b>Pšenični</b>	25	57-67
<b>Kukuruzni</b>	26	65-81
<b>Krumpirov</b>	22	60-76
<b>Tapiokin</b>	17	63-81

Proces želatinizacije škroba odvija se u više faza. Na početku zagrijavanja škrobne suspenzije dolazi do reverzibilne hidratacije u amorfnim dijelovima škrobne granule, a daljnjim zagrijavanjem dolazi do većeg razaranja strukture škrobne granule i dodatnog bubrenja, te do razaranja međumolekularnih vodikovih veza između molekula škroba i stvaranja vodikovih mostova između molekula vode i škrobnih molekula. Daljnjim zagrijavanjem granule kontinuirano primaju vodu i naglo ekspandiraju. Djelovanjem naprezanja dolazi do raskidanja veza u kristalnom području i razaranja granule (Babić, 2007.). Želatinizacija započinje u amorfnom dijelu škrobne granule zbog slabih vodikovih veza prisutnih u toj regiji. Škrob s većim udjelom amiloze ima više amorfnih a manje kristalnih područja, što utječe na nižu temperaturu želatinizacije (Singh i sur., 2003.; Gupta i sur., 2009.). U početnoj fazi želatinizacije amiloza ima važnu ulogu (Ratnayake i Jackson, 2006.). Visokoamilozni škrobovi želatiniziraju na višim temperaturama u odnosu na normalne škrobove i pri tome formiraju pastu veće viskoznosti i imaju veću tendenciju retrogradacije. Škrobovi koji sadrže mali udio amiloze želatiniziraju lakše i pri tome formiraju paste veće bistroće (Denyer i sur., 2001.).

Topljivost i bubrenje škrobne granule karakteristike su koje označavaju jakost interakcija između molekula škroba u amorfnim i kristalnim područjima i zavise od udjela amiloze i amilopektina, njihove molekularne mase, stupnja razgranatosti, udjela drugih molekula poput lipida i proteina (Dapčević-Hadnađev, 2013.). Kapacitet bubrenja i topljivost škroba značajno se razlikuju s obzirom na botaničko porijeklo. Tako npr. krumpirov škrob ima puno veći kapacitet bubrenja i topljivost u odnosu na kukuruzni, pšenični ili rižin škrob, a što je vjerojatno posljedica većeg udjela fosfatnih skupina u molekuli amilopektina kod krumpirovog škroba (Singh i sur., 2003.). Voštani škrobovi bubre u većoj mjeri nego njihovi „parovi“ s normalnim udjelom amiloze jer amiloza ograničava bubrenje (Fredriksson i sur., 1998.).

Utvrđeno je da veličina škrobnih granula utječe na želatinizaciju na način da velike granule škroba imaju veću entalpiju želatinizacije u odnosu na male granule što se odražava i na veću kristaličnost velikih granula (Svihus i sur., 2005.). Mehanizam želatinizacije prikazan je na **Slici 7** (Kokić, 2017.).



**Slika 7** Bubrenje škrobne granule, pucanje i nastajanje škrobne disperzije (Kokić, 2017.)

Želatinizacija škroba je endotermni proces i za mjerenje parametara želatinizacije (temperatura i entalpija) najčešće se koristi diferencijalna motridbena kalorimetrija (DMK). Rezultat mjerenja je krivulja iz koje se očitavaju četiri vrijednosti: početna temperatura želatinizacije ( $t_o$ , engl. *onset temperature*), temperatura vrha želatinizacije ( $t_p$ , engl. *peak temperature*), završna temperatura želatinizacije ( $t_e$ , engl. *endset temperature*) i entalpija želatinizacije ( $\Delta H$ ) (Ačkar, 2010.).



Liu i sur. (2005.) su upotrijebili DMK za ispitivanje termičkih svojstava visokoamiloznog kukuruznog škroba, kao i utjecaj vode na proces želatinizacije, te su zaključili da entalpija želatinizacije raste s povećanjem sadržaja vode.

Retrogradacija je proces do kojeg dolazi uslijed hlađenja želatiniziranog škroba pri čemu molekule rekristaliziraju. Molekule amiloze povezuju se u strukturu dvostruke uzvojnice, a molekule amilopektina međusobno se povezuju kratkim vanjskim lancima pri čemu molekule amilopektina zbog razgranate strukture znatno slabije rekristaliziraju (Ačkar, 2010.). Retrogradacija škroba praćena je promjenama kao što su: porast viskoznosti, zamućenje paste, formiranje gela, izlučivanje vode, povećanje stupnja kristaliničnosti (Wang i sur., 2015.a.). Zhou i sur., (2011.) proučavali su retrogradaciju škroba i interakcije između amiloze i amilopektina u odnosu na sadržaj vode. Autori su utvrdili da amiloza utječe na kristalizaciju amilopektina kada je udio vode u škrobnoj otopini 70 – 80 %. Rodríguez-Sandoval i sur., (2008.) proučavali su retrogradaciju škroba u tapiokinom brašnu u uzorcima tretiranim na pari i uzorcima kuhanim u ključaloj vodi. Uzorci su nakon toga skladišteni na 5 °C i na - 20 °C kroz 24 sata. Uzorci tretirani parom i skladišteni na 5 °C pokazuju veći stupanj retrogradacije i kristaliničnosti nego uzorci kuhani u vodi, dok kod uzoraka skladištenih na - 20 °C nije bilo značajne razlike u odnosu na tretman. Parametri želatinizacije ( $t_0$ ,  $t_p$ ,  $t_e$ ) kod termički obrađenih i skladištenih uzoraka tapiokinog škroba bili su niži od temperature želatinizacije nativnog škroba. Tretman i temperatura skladištenja nisu imali značajan učinak na parametre želatinizacije.

### 2.5. Modificirani škrobovi

Nativni škrob zbog svojih svojstava kao što su retrogradacija, nestabilnost u kiselim uvjetima, mala stabilnost pri visokim temperaturama, te problemi vezani uz želatinizaciju, ima relativno malu i ograničenu primjenu u prehrambenoj industriji (Ljubić Herceg i sur., 2010.; Babić i sur., 2013.). Da bi se poboljšala svojstva nativnog škroba provode se fizikalni, kemijski i enzimski postupci modifikacije kao i njihove kombinacije. Kemijski postupci modifikacije škroba daju veliki učinak, ali imaju nedostatke poput cijene kemikalija, kemijskih rezidua i zbrinjavanja otpada. Suvremene metode modifikacije škroba su nekonvencionalne fizikalne metode koje su brze, ekološki prihvatljive i ne stvaraju štetne produkte (Thirumdas i sur., 2017.a.).

Modifikacija prirodnog škroba vrši se zbog postizanja specifičnih svojstava kao što su topljivost, tekstura, prijanjanje te otpornost na temperature zagrijavanja koje se primjenjuju u industrijskim procesima (Alcázar-Alay i Meireles, 2015.). Modificirani škrobovi često imaju veću bistroću paste, veću stabilnost i otporniji su na retrogradaciju (Gupta i sur., 2009.).

### 2.5.1. Kemijski postupci modifikacije škroba

Kemijska modifikacija škroba podrazumijeva uvođenje funkcionalnih skupina u molekule škroba i uzrokuje značajne promjene u ponašanju škroba, sposobnosti želatinizacije, retrogradaciji i svojstvima paste (Alcázar-Alay i Meireles, 2015.).

U kemijske postupke modifikacije škroba ubrajaju se: eterifikacija, esterifikacija, kationizacija, oksidacija, umrežavanje kao i i kombinacije ovih postupaka (Šubarić i sur., 2012.).

#### Škrobni esteri i eteri

Zamjenom hidroksilne skupine škroba esterskom ili eterskom skupinom nastaju škrobni esteri, odnosno eteri. Stupanj supstitucije (DS) označava količinu supstituiranih skupina u škrobnom lancu. DS se definira kao broj mola supstituenata po molu anhidroglukozne jedinice. Škrobni esteri su manje stabilni u kiselim uvjetima i tijekom miješanja pri visokim temperaturama za razliku od škrobnih etera koji su puno stabilniji. Škrobni esteri ili eteri u prehrambenoj industriji se koriste za postizanje odgovarajuće teksture i stabilnosti proizvoda (Babić i sur., 2013.). Za pripremu organskih i anorganskih monoestera škroba namijenjenih za prehrambene svrhe mogu se koristiti octeni anhidrid, vinil acetat, sukcinatni anhidrid, natrijev tripolifosfat (Cui, 2005.). Za pripremu škrobnog fosfata škrob se tretira vodenom otopinom smjese natrijevog tripolifosfata i natrijevog sulfata uz dodatak natrijevog trimetafosfata, zatim se suši na približno 100 °C. Za kontrolu početne pH vrijednosti koristi se natrijev hidroksid ili klorovodična kiselina. Nakon toga škrob se tretira (prži) na 130 °C, ispire s vodom i suši. Reakcijom škroba s tripolifosfatom pri vrijednosti pH između 6 i 10 nastaje škrobni monofosfat. Kada je pH iznad 10 dolazi do umrežavanja i nastanka diškrobnog fosfata. Škrobne fosfate karakterizira veća viskoznost i prozirnost te otpornost na retrogradaciju (Cui, 2005.).

#### Kationizacija

Kationski škrobovi nastaju uvođenjem amonijevih, amino, imino, sulfonij ili fosfonij grupa u molekulu škroba. Pri tome škrob dobiva pozitivan naboj. Temperatura želatinizacije kationskih škrobova smanjuje se povećanjem stupnja supstitucije (DS) i škrob počinje bubriti u hladnoj vodi pri DS 0,07. Kationski škrobovi pokazuju veću topljivost, stabilnost i bistroću škrobne paste. Glavna uporaba kationskih škrobova je u industriji papira (Cui, 2005.).

## **Oksidacija**

Za pripremu oksidiranih škrobova koriste se različita oksidirajuća sredstva kao što su: hipoklorit, vodikov peroksid, dikromat, permanganat, perjodat, persulfat ili klorit, a za prehrambenu industriju najčešće se pripremaju reakcijom s natrijevim hipokloritom. Na brzinu reakcije s hipokloritom utječe pH, pri čemu je reakcija najbrža pri pH 7, dok je na pH 10 vrlo spora (Cui, 2005.). Prilikom oksidacije škroba s hipokloritom dolazi do cijepanja polimernih lanaca i oksidacije hidroksilnih skupina u karbonilne i karboksilne. Cijepanje glikozidnih veza i nastanak karbonilnih i karboksilnih skupina dovodi do depolimerizacije amiloze i amilopektina što uzrokuje sniženje kapaciteta bubrenja i viskoznosti paste. Oksidacija se javlja na primarnoj hidroksilnoj skupini koja se nalazi na C-6 atomu i sekundarnoj hidroksilnoj skupini (na C-2 i C-3 atomu) (Cui, 2005.). Oksidirani škrobovi, iako imaju najveću upotrebu u tekstilnoj i papirnoj industriji, zbog male viskoznosti, visoke stabilnosti i bistroće sve se više upotrebljavaju u prehrambenoj industriji, gdje se koriste kao sredstva za ugušćivanje, za formiranje filma, povezivanje različitih sastojaka hrane i kao emulgatori (Babić i sur., 2013.).

## **Umreženi škrobovi**

Hidroksilne skupine škroba prisutne na primarnom (C-6) i sekundarnim (C-2 i C-3) atomima mogu reagirati s multifunkcionalnim reagensima stvarajući umrežene škrobove.

Umrežavanjem se dobiva škrob nižeg kapaciteta bubrenja kako bi se ograničila želatinizacija škroba tijekom zagrijavanja. Smatra se da umrežavanje škroba utječe na viskoznost paste preko dva osnovna mehanizma koji imaju suprotno djelovanje. Umrežavanjem se smanjuje gubitak topljivih tvari iz granule te se učvršćuje sama granula, što uzrokuje povećanje viskoznosti. Istovremeno se ograničava bubrenje granule i smanjuje njihov volumni udio u vodenoj fazi, a to djeluje na smanjenje viskoznosti paste (Ačkar, 2010.).

Umreženi škrobovi se koriste u preljevima za salate gdje djeluju kao zgušnjivač i osiguravaju stabilnost pri niskom pH. Također se koriste pri konzerviranju hrane gdje osiguravaju nisku početnu viskoznost, brzo povećanje temperature i prijenos topline, što je poželjno za brzu sterilizaciju (Cui, 2005.).

### **2.5.2. Fizikalni postupci modifikacije škroba**

Fizikalnim postupcima modifikacije poboljšava se topljivost škrobnih granula u vodi i smanjuje njihova veličina. Fizikalne metode uključuju primjenu topline, vlage, tlaka i smicanja. Ti postupci su jednostavni, jeftini i sigurni. Ne zahtjevaju kemijske ili biološke agense i poželjni su kada je u pitanju proizvod koji je namijenjen ljudskoj prehrani (Alcázar-Alay i Meireles, 2015.). Najčešći fizikalni postupci modifikacije škroba su: preželatinizacija, obrada škroba toplinom i vlagom, ekstruzija i „bubrenje“ (Šubarić i sur., 2012.).

*Preželatinizirani škrob* proizvodi se sušenjem prethodno želatiniziranog škroba raspršivanjem, na valjcima ili ekstruzijom. Najvažnije svojstvo mu je brza hidratacija i bubrenje već na sobnoj temperaturi, a nedostaci su teška homogenizacija, niža konzistencija i mutnoća. Koristi se kao dodatak u instant juhama, umacima i preljevima (Ačkar, 2010.).

*Obrada škroba vlažnom toplinom* provodi se pri vlažnosti < 35 % gdje se škrob tijekom određenog vremena podvrgava temperaturama iznad temperature staklastog prijelaza ( $t_g$ ), ali ispod temperature želatinizacije. Temperatura staklastog prijelaza je temperatura pri kojoj škrobne granule tijekom zagrijavanja u prisutnosti otapala poput vode ili glicerola prelaze iz uređenog, staklastog stanja, u neuređeno, gumasto stanje. Posljedica procesa je porast temperature želatinizacije i raspona želatinizacije, te porast stabilnosti na djelovanje kiselina (Ačkar, 2010.).

„*Bubrenje škroba*“ (engl. *annealing*) je tretman pri kojem se škrob određeno vrijeme drži u uvjetima suviška (> 60 %) ili umjerene vlažnosti (40 - 55 %) pri temperaturi između temperature staklastog prijelaza i temperature želatinizacije. Bubrenje škroba povećava temperaturu želatinizacije škroba, smanjuje raspon želatinizacije i smanjuje kapacitet bubrenja škroba (Cui, 2005.).

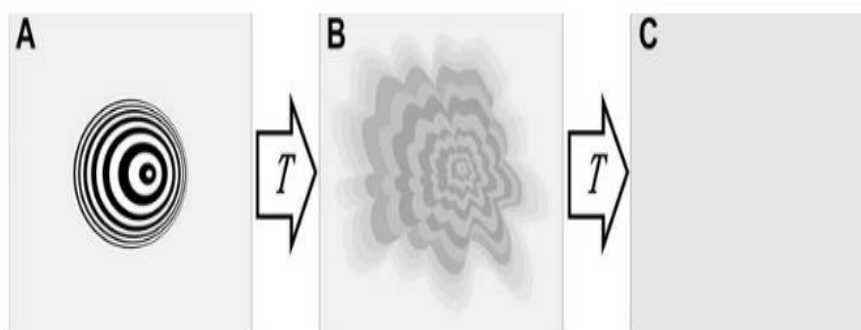
*Ekstruzija* je proces u kojem se škrob modificira kombiniranim djelovanjem visokog tlaka, topline i smicanja pri čemu dolazi do cijepanja škrobnih molekula na manje jedinice, a kristalna struktura škrobne granule se djelomično ili potpuno narušava. Ekstrudirane škrobove u odnosu na native karakterizira veća topljivost u vodi i početna viskoznost paste te niži kapacitet vezanja vode i retrogradacija (Babić i sur., 2013.).

### **2.6. Netermičke metode modifikacije škroba**

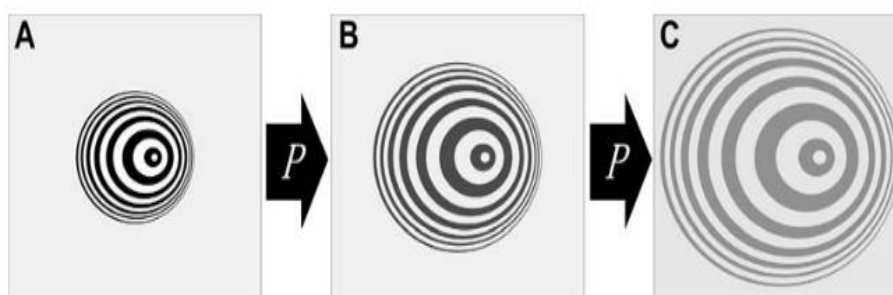
U posljednje vrijeme prehrambena industrija pokazuje veliki interes za razvoj postupaka koji omogućuju minimalno procesiranje hrane, a mogu pri tome zamijeniti standardne postupke konzerviranja koji se trenutno primjenjuju. Neke od tih metoda (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk, pulsirajuće električno polje, oscilirajuće magnetsko polje) omogućuju dobivanje proizvoda boljih organoleptičkih i nutritivnih svojstava uz manji utrošak energije i kraće trajanje tehnološkog procesa (Ljubić Herceg i sur., 2010.). Primjenom ovih metoda ne dolazi do promjene senzorskih svojstva niti do gubitka svježine prehrambenih proizvoda, a i minimalni je gubitak boje i okusa proizvoda (Ashogbon, 2018.). Netermičke metode koje se mogu primijeniti za modifikaciju škroba su visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk, pulsirajuće električno polje, hladna plazma (Thirumdas i sur., 2017.a.).

### 2.6.1. Visoki hidrostatski tlak

Procesiranje visokim tlakom sve više se primjenjuje jer povećava rok trajanja namirnice i inaktivira mikroorganizme pri niskim temperaturama, a pri tome ne dolazi do promjene senzorskih i nutritivnih svojstava proizvoda. Visoki tlak može modificirati funkcionalna svojstva proteina i inaktivirati enzime o kojima ovisi rok trajanja proizvoda, a osim na proteine djeluje i na komponente hrane poput vode i škroba (Cappa i sur., 2016.). Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na škrob, kao jednu od važnih komponenata hrane sve se više proučava. Želatinizacija škroba nastala primjenom topline (**Slika 8**) razlikuje se od one koja nastaje uslijed primjene visokog hidrostatskog tlaka (**Slika 9**) (Yamamoto i Buckow, 2009.).



**Slika 8** Shema toplinske želatinizacije škrobne granule. (A) Škrobna granula otopljena u vodi: poprečni presjek granule prikazuje lamelarnu strukturu koncentričnih elipsa. (B) Zagrijavanje uzrokuje bubrenje i oštećenje škrobne granule, gubi se lamelarna struktura. (C) Daljnje zagrijavanje dovodi do potpune želatinizacije – pojedinačne granule više se ne raspoznaju (Yamamoto i Buckow, 2009.).



**Slika 9** Želatinizacija škroba uslijed djelovanja tlaka. (A) Suspendiranje škrobne granule u vodi. (B) Djelovanjem visokog hidrostatskog tlaka djelomično želatiniziranje i bubrenje škrobne granule. (C) Potpuna želatinizacija škrobne granule djelovanjem visokog hidrostatskog tlaka pri čemu je zadržan oblik granule (Yamamoto i Buckow, 2009.).

Primjena visokog tlaka u prehrambenoj tehnologiji ima prednosti u odnosu na klasično termičko tretiranje ili zamrzavanje. Osnovne prednosti su postizanje antimikrobnog učinka bez promjene senzorskih i nutritivnih značajki, značajno skraćivanje termičkog tretiranja koje slijedi nakon tretiranja visokim tlakom, ravnomjerna i brza obrada namirnice pod djelovanjem tlaka (Lelas, 2006.). Primjenom hidrostatskog tlaka, uz uvjet da je tlak dovoljno visok, dolazi do želatinizacije škroba na temperaturi ispod nule. Ako se uz tlak primjeni i toplina, za želatinizaciju je potreban niži tlak. Visoke temperature ili tlakovi rezultirali su višim stupnjem želatinizacije rižinog škroba (Pei-Ling i sur., 2010.). Pri sobnoj temperaturi škrobovi žitarica osjetljiviji su na tlak od škrobova gomolja (Douzals i sur., 1998.). Pri konstantnoj temperaturi i tlaku iznad 300 MPa mnogi škrobovi djelomično želatiniziraju (npr. kukuruzni, voštani, rižin, pšenični), dok pri tlaku od 600 MPa želatiniziraju potpuno. Krumpirov škrob je otporniji na tlak nego drugi škrobovi pa je za potpunu želatinizaciju tog škroba potreban tlak veći od 600 MPa (Kawai i sur., 2012.). Prema Yamamoto i Buckow (2009.) B-tip škroba poput krumpirovog, otporniji je na djelovanje visokog tlaka nego kukuruzni škrob. Jiang i sur. (2015.) istraživali su utjecaj visokog hidrostatskog tlaka na reološka svojstva rižinog škroba i utvrdili da je maksimalna viskoznost značajno smanjena s povećanjem tlaka od 120 do 360 MPa.

### 2.6.2. Ultrazvuk

Ultrazvuk je tehnologija u kojoj se koriste zvučni valovi frekvencije iznad 20 kHz, odnosno veći od praga ljudskog sluha (Ogutu, 2015.; Zhu, 2015.). Obzirom na frekvenciju i intenzitet ultrazvuk se može klasificirati u tri grupe:

- ultrazvuk visokog intenziteta i niske frekvencije (20 - 10 kHz),
- ultrazvuk srednjeg intenziteta i frekvencije (100 kHz - 1 MHz),
- ultrazvuk visoke frekvencije i niskog intenziteta (> 1 MHz) (Ogutu, 2015.).

U prehrambenoj industriji se primjenjuje ultrazvuk niske i visoke frekvencije. To je jednostavna i učinkovita metoda koja se može primijeniti za modifikaciju polimera (Ogutu, 2015.).

U sustavu škrob-voda ultrazvuk formira jake sile smicanja, visoku temperaturu i slobodne radikale koji utječu na promjenu svojstava i strukture škroba. Opseg tih promjena ovisi o frekvenciji ultrazvuka, trajanju, temperaturi, sadržaju vlage i tipu škroba (Ljubić Herceg i sur., 2010.; Zhu, 2015.). Luo i sur. (2008.) su istraživali utjecaj ultrazvuka na fizikalno-kemijska svojstva nativnog, voštanog i visokoamiloznog kukuruznog škroba. Ultrazvučni tretman nije utjecao na veličinu i oblik škrobnih granula, ali je površina nativnog i voštanog kukuruznog škroba postala porozna i na površini visokoamiloznog kukuruznog škroba uočene su pukotine nakon tretmana ultrazvukom. Tretman ultrazvukom utjecao je na blagi porast vrijednosti početne temperature želatinizacije ( $t_0$ ) kod svih uzoraka u odnosu na netretirane uzorke, kao i

na smanjenje entalpije želatinizacije kod svih tretiranih uzoraka (Luo i sur., 2008.). Prema Zhu (2015.) kod A i B tipa škroba primjena ultrazvuka dovodi do oštećenja škrobnih granula stvarajući pukotine i pore na granulama, a čimbenici koji na to utječu su sastav i tip škroba, temperatura, frekvencija ultrazvuka i vrijeme trajanja tretmana.

Ljubić Herceg i sur. (2010.) su istraživali utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na reološka i pastozna svojstva škroba pšenice i utvrdili da tretman škroba ultrazvukom visokog intenziteta uzrokuje mehanička oštećenja škrobne granule, što omogućava lakše prodiranje vode u unutrašnjost granule tijekom zagrijavanja uslijed čega dolazi do značajnih promjena reoloških i pastoznih svojstava škroba. Tretman ultrazvukom utjecao je na smanjenje temperature želatinizacije kod tretiranog škroba u odnosu na nativni što je utjecalo na raniji stupanj bubrenja granule tijekom zagrijavanja (Ljubić Herceg i sur., 2010.).

### 2.6.3. Pulsirajuće električno polje

Procesiranje hrane pulsirajućim električnim poljem (PEP) temelji se na primjeni vrlo brzih električnih impulsa trajanja do 100  $\mu$ s pod visokim naponom polja (20 do 50 kV/cm) uz umjerenu temperaturu. Tretman PEP može biti alternativa tradicionalnim termičkim procesima budući da djeluje na mikroorganizme i neke enzime, a pri tome zadržava svježinu proizvoda. Učinak tretmana PEP ovisi o intenzitetu električnog polja, temperaturi namirnice i vremenu obrade (Bendichoy, 2002.; Jeličić i sur., 2012.). Tijekom samog procesa, zbog strujnih impulsa dolazi do stvaranja određene topline, ali je porast temperature minimalan i ne može se govoriti o toplinskoj obradi hrane (Jeličić i sur., 2012.).

Han i sur. (2009.) su ispitali utjecaj PEP na fizikalno - kemijska svojstva krumpirovog škroba primjenom diferencijalne motridbene kalorimetrije i utvrdili da krumpirov škrob tretiran pulsirajućim električnim poljem ima manju entalpiju želatinizacije u odnosu na nativni uzorak. Kada se vrijednost električnog polja povećala s 0 kV/cm na 30 kV/cm i 50 kV/cm vrijednost entalpije želatinizacije značajno se smanjila s 11,61 J/g (pri 0 kV/cm) na 10,04 J/g (pri 30 kV/cm) odnosno na 9,52 J/g (pri 50 kV/cm). Povećanjem jakosti PEP došlo je do smanjenja maksimalne viskoznosti koja je pri jakosti od 30 kV/cm iznosila 2771 BU, a pri 50 kV/cm 2641 BU, dok je vrijednost za netretirani škrob bila 2961 BU (Han i sur., 2009.). Osim toga Han i sur. (2012.) su istraživali utjecaj PEP na svojstva tapiokinog škroba i DMK analizom su utvrdili da su vrijednosti  $t_0$  i  $t_p$  tretiranih uzoraka manje nego kod nativnog tapiokinog škroba i da su parametri želatinizacije kod tretiranih uzoraka opadali s povećanjem jakosti PEP.

## 2.6.4. Visokonaponsko električno pražnjenje (HVED) i hladna plazma

Visokonaponsko električno pražnjenje odvija se između dvije elektrode koje mogu:

- biti uronjene u tekućinu koja služi kao medij za suspendiranje ili otapalo (najčešće voda),
- biti uronjene u tekućinu, uz dodatno upuhivanje plina,
- biti u plinskoj fazi
- biti u plinskoj fazi uz raspršivanje kapljica vode u obliku magle ili kapljica,
- kombinacija prethodnih izvedbi (Vanraes, 2016.).

Ovisno o tome je li dostupan plin tijekom visokonaponskog električnog pražnjenja, koliki je razmak između elektroda i kakvog su one oblika, može se tijekom pražnjenja generirati plazma. Plazma je ionizirani plin koji se sastoji od pobuđenih atoma, molekula, iona, slobodnih radikala, elektrona, pozitivnih i negativnih iona. Svaki izvor energije koji može ionizirati plin, može se koristiti za generiranje plazme (Misra i sur., 2016.).

Materijali koji su sastavljeni od atoma i molekula prilikom zagrijavanja i povećanja temperature, prelaze iz čvrstog u tekuće i nakon toga u plinovito stanje. S povećanjem temperature krutih materijala dolazi do povećanja energije i sve intenzivnijeg gibanja atoma koji u jednom trenutku napuštaju svoje mjesto određeno potencijalnom energijom i dolazi do prijelaza u tekuće stanje. Daljnjim zagrijavanjem tekućine, kinetička energija molekula postaje veća od njihove potencijalne energije što dovodi do ubrzanog gibanja, međusobnog sudaranja i prijelaza u plinovito stanje. S porastom temperature do nekoliko tisuća stupnjeva dolazi do ionizacije. Zbog intenzivnih sudara atoma dolazi do oslobađanja elektrona i nastajanja negativno nabijenih elektrona i pozitivno nabijenih iona. Te nabijene čestice u gibanju stvaraju električna i magnetska polja koja u povratu utječu na sve navedene čestice. Materija dovedena u takvo pobuđeno stanje naziva se plazma (Vukušić, 2016.).

### Klasifikacija plazmi

Plazme se može klasificirati prema nekoliko kriterija. Obzirom na tlak plina u kojem se kreću ionizirane čestice, plazme se razvrstavaju u niskotlačne i atmosferske plazme, dok se u odnosu na temperaturu pri kojoj se primjenjuju dijele na hladnu (engl. *cold plasma*) i vruću (engl. *hot plasma*) (Razić i Čunko, 2009.). Za vruću plazmu se kaže da se nalazi u stanju termodinamičke ravnoteže, odnosno da su temperature svih čestica u plazmi (iona, elektrona i neutralnih čestica) jednake. Takve plazme imaju temperaturu iznad 6000 K.

Temperatura elektrona u hladnoj plazmi znatno je viša od temperature iona i neutralnih čestica, te se takva plazma često naziva netermička, odnosno neravnotežna plazma. Kod takve plazme, gdje temperatura elektrona može iznositi i nekoliko desetaka tisuća Kelvina, teže



čestice (ioni) zadržavaju sobnu temperaturu pa je takva plazma prikladna za obradu termički osjetljivih materijala (Razić i Čunko, 2009.; Vukušić, 2016.).

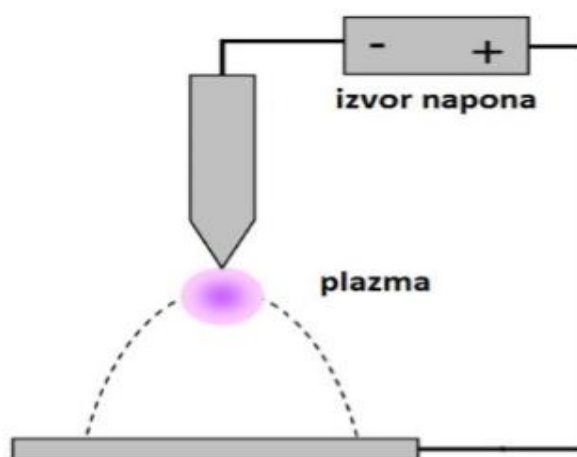
U niskotlačnoj plazmi zbog male gustoće srednji slobodni put čestica je dugačak zbog čega je frekvencija sudara niska. Stoga elektroni zadržavaju visoku temperaturu, dok teže čestice (ioni) ostaju hladne pa je niskotlačna plazma u pravilu uvijek i netermička. Nedostatak ove vrste plazme je taj što su vakuumski sustavi skupi i složeni, a volumen i oblik procesiranog materijala ovisi o dimenzijama vakuumske komore.

U atmosferskoj plazmi, koja je također primjer hladne plazme, srednji slobodni put čestica je puno kraći, frekvencija sudara je visoka i može se postići termodinamička ravnoteža. Prednost atmosferske plazme je što nema potrebe za generiranjem vakuuma, ali pri višim tlakovima potreban je veći napon za ionizaciju plina što stvara rizik od izbijanja električnih lukova između elektroda (Razić i Čunko, 2009.; Vukušić, 2016.).

Atmosferska plazma može se dobiti na nekoliko načina:

- pražnjenje koronom (engl. *corona discharge*)
- dielektrično barijerno pražnjenje (engl. *dielectric barrier discharge*)
- pražnjenje tinjanjem (engl. *glow discharge*) (Razić i Čunko, 2009.).

*Korona* predstavlja najstariji način dobivanja plazme koji nastaje kada se visoki napon priključi na dvije elektrode od kojih je jedna u obliku igle (šiljka). Da bi se postiglo pražnjenje koronom potreban je napon do 10 kV, razmak među elektrodama je oko 1 mm i ispunjen je plinom (Kramar, 2015.). Korona pražnjenje spada u neravnotežne plazme s niskom gustoćom struje. Ovo se pražnjenje javlja u obliku lokaliziranog sjaja (kruna = *corona*) u prostoru oko oštre elektrode u visoko nehomogenom električnom polju (**Slika 10**) (Vukušić, 2016.).



**Slika 10** Korona pražnjenje (Vukušić, 2016.).

*Dielektrično barijerno pražnjenje (DBP)* nastaje pri korištenju visokog napona (1-20 kV) između dvije paralelne elektrode postavljene na razmaku od 10 mm, između kojih se nalazi jedan dielektrični sloj. Kao dielektrik može se koristiti staklo, keramika i neki polimeri, a između elektroda se može koristiti bilo koji plin (Kramar, 2015.). Izvor DBP je napon izmjenične struje, frekvencija je od nekoliko Hz do nekoliko MHz. Gustoća elektrona je veća nego kod korone, a temperatura elektrona iznosi 20 000 do 50 000 K.

*Homogeno pražnjenje tinjanjem* na atmosferskom tlaku dobiva se primjenom niskog napona (oko 200 V) i visoke frekvencije (red veličine MHz) na dvije paralelne elektrode koje se nalaze na razmaku od nekoliko milimetara koje za razliku od dielektričnog barijernog pražnjenja nisu prekrivene dielektrikom. Ova vrsta plazme je dosta gušća u odnosu na plazmu dobivenu DBP (Kramar, 2015.).

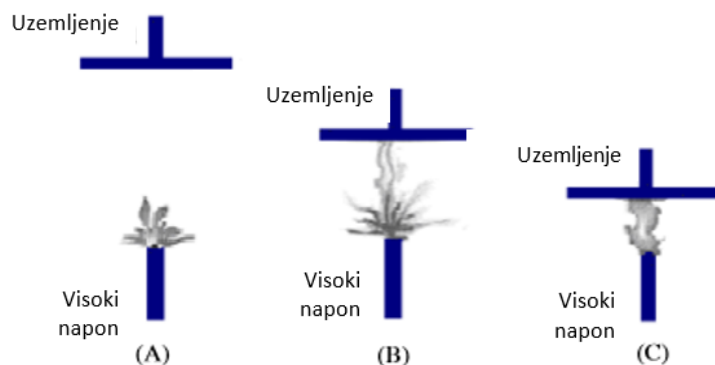
### Plazma u tekućinama

Električna pražnjenja u tekućinama slična su onima u plinovima, ali postoje i određene razlike. Tekućine su gušće pa je i srednji slobodni put kretanja elektrona kraći te je nemoguće postići akceleraciju elektrona kao u plinovima. Zbog većeg ionizacijskog potencijala kojeg imaju molekule u tekućini, potrebna je veća energija za uklanjanje elektrona.

Mehanizam nastajanja plazme u tekućinama još nije u potpunosti razjašnjen, ali postoje dvije glavne teorije: teorija mjehurića i teorija direktne ionizacije. Teorija mjehurića uključuje plinovitu i tekuću fazu. Tekućina sadrži veliki broj mikro-mjehurića u obliku otopljenih plinova ili raznih nečistoća. Električno pražnjenje započinje u mjehuriću, a izboji plazme se šire u tekuću fazu.

Teorija direktne ionizacije podrazumijeva direktnu ionizaciju molekula i atoma u tekućini.

Ova teorija nije podržana od nekih znanstvenika jer elektroni zbog gustoće tekućina ne mogu postići dovoljnu kinetičku energiju za ionizaciju pomoću sudara. Uslijed električnog pražnjenja u tekućinama, dolazi do različitih fizikalnih (jako električno polje, UV zračenje, udarni valovi) i kemijskih promjena (generiranje raznih reaktivnih vrsta: radikala, iona i neutralnih molekula). Na električno pražnjenje u tekućini utječe razmak između elektroda pri čemu se pražnjenje odvija putem izboja ako je razmak među elektrodama veći, dok smanjenjem razmaka dolazi do iskrenja (Vukušić, 2016.) (**Slika 11**).



**Slika 11.** Oblici električnog pražnjenja u odosu na razmak elektroda: (A) pražnjenje izbojem na razmaku elektroda od 45 mm; (B) pražnjenje izbojem i iskom na razmaku od 15 mm; (C) pražnjenje iskorom na razmaku od 6 mm (Cheng i sur., 2007.)

## Primjena plazme u prehrambenoj industriji

Za primjenu u prehrambenoj industriji, od primarnog interesa je hladna plazma nastala električnim pražnjenjem zbog njenog značaja u procesiranju hrane pri niskim temperaturama (Chizoba Ekezie i sur., 2017.). Plazma tretmanom mogu se inaktivirati mikroorganizmi, uključujući spore i viruse (Misra i sur., 2011.). Autori Niemira i Sites (2008.) ispitali su utjecaj hladne plazme na inaktivaciju bakterija *Salmonella Stanley* i *Escherichia coli* O157:H7. Sojeve bakterija tretirali su plazmom na agar pločama kao i sojeve inokulirane na površinu jabuke, te utvrdili da je došlo do inaktivacije oba patogena: i na agar pločama i na površini jabuke. Autori Basaran i sur. (2008.) ispitali su antifungalni utjecaj niskotlačne hladne plazme na plijesan *Aspergillus parasiticus*. Sporama *A. parasiticus* bili su izloženi lješnjaci, pistacije i kikiriki. Kao izvor plina za plazmu korišteni su zrak i sumporov heksafluorid ( $\text{SF}_6$ ). Primjena plazme s plinom  $\text{SF}_6$  bila je učinkovitija u smanjenju populacije plijesni u odnosu na zrak kao korišteni plin, dok je tretman niskotlačnom zračnom plazmom uzrokovao smanjenje aflatoksina za gotovo 50 %, a kod plazme uz plin  $\text{SF}_6$  smanjenje je iznosilo 20 % (Basaran i sur., 2008.). Utjecaj atmosferske plazme na patogene bakterije: *Salmonella*, *Lysteria monocytogenes* i *Escherichia coli* O157:H7 ispitali su Critzer i sur. (2016.). *Lysteria monocytogenes* je pokazala veću osjetljivost na tretman plazme u odnosu na druge dvije bakterije. Autori Wang i sur. (2012.) ispitali su utjecaj hladne atmosferske plazme na inaktivaciju mikroorganizama i na fizikalna i kemijska svojstva svježeg voća i povrća. Učinkovitost inaktivacije mikroorganizama odedena je brojem kolonija prije i nakon tretmana. U istraživanju su koristili kriške krastavaca, kruške i mrkve, te su utvrdili da je nakon tretmana hladnom plazmom došlo do smanjenja broja bakterija kod mrkve za 90 %, kod krastavaca za 60 % i kod kruške za 40 % u odnosu na

kontrolni uzorak. Ispitujući utjecaj hladne plazme na sadržaj vode i C vitamina u tretiranim uzorcima, utvrdili su da je gubitak vode bio manji od 5 %, a gubitak C vitamina manji od 4 % u svim tretiranim uzorcima. Tretirani uzorci pokazali su minimalni gubitak boje u odnosu na kontrolni uzorak (**Slika 12**) (Wang i sur., 2012.).



**Slika 12.** Uzorci mrkve, krastavaca i kruške (kontrolna skupina, stupac lijevo), uzorci nakon 0,5 s tretmana plazmom (srednji stupac) i uzorci nakon 4 s tretmana (desni stupac) (Wang i sur., 2012.).

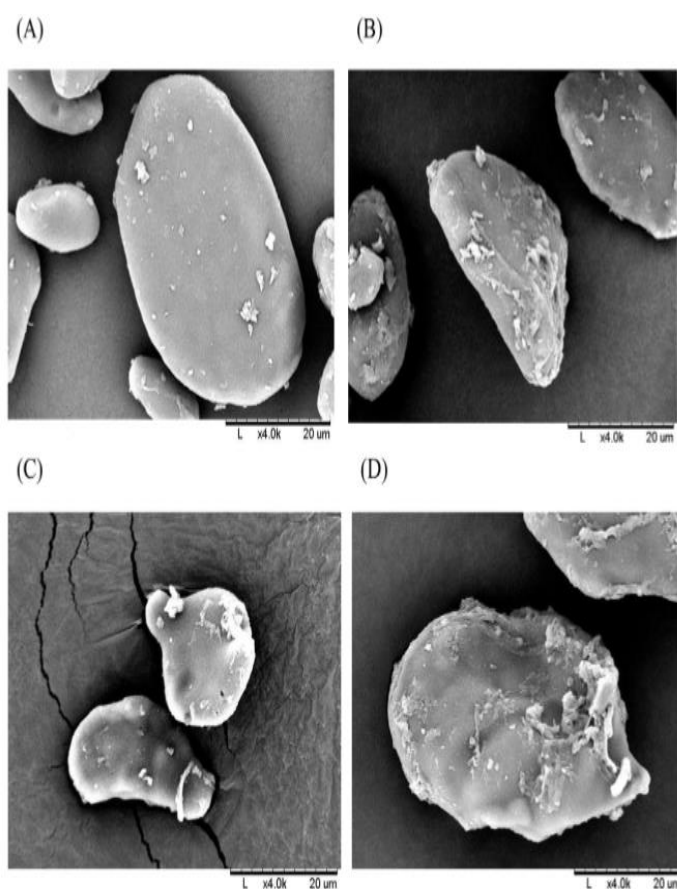
Ispitujući fizikalno kemijska svojstva smeđe riže tretirane plazma tretmanom autori Chen i sur. (2012.) utvrdili su da je nakon plazma tretmana smanjeno vrijeme kuhanja riže u odnosu na optimalno vrijeme kuhanja. Isto tako riža koja je bila tretirana plazmom imala je veću apsorpciju vode tijekom namakanja u odnosu na netretiranu rižu.

Škrob je jedan od glavnih sastojaka velikog broja prehrambenih proizvoda, ali obzirom na ograničenja prirodnog škroba (slabe topljivosti pri niskim temperaturama, visoke viskoznosti, retrogradacije) neka istraživanja upućuju na to da procesiranje hladnom plazmom može dovesti do poželjnih promjena u nativnom škrobu.

Autori Banura i sur. (2018.) ispitali su utjecaj plazme na funkcionalna, reološka i toplinska svojstva kukuruznog i tapiokinog škroba i utvrdili da je kapacitet vezivanja vode i kapacitet bubrenja škroba porastao kod obje vrste tretiranog škroba u odnosu na nativni. Također su uočili da je došlo do smanjenja vrijednosti temperature vrha želatinizacije ( $t_p$ ) i entalpije

želatinizacije ( $\Delta H$ ) kod kukuruznog škroba tretiranog plazmom, dok je kod tretiranog tapiokinog škroba došlo do povećanja vrijednosti  $t_p$  i  $\Delta H$ , a prema autorima razlog tomu može biti povećanje udjela amiloze nakon tretmana.

Ispitujući utjecaj plazma tretmana na rižin škrob Thirumdas i sur. (2017.b.) su utvrdili da je udio amiloze u rižinom škrobu tretiranom hladnom plazmom iznosio 22,83 %, dok je u nativnom škrobu udio amiloze bio 29,93 %. Plazma tretman smanjio je i bistroću škrobne paste s 30 % kod nativnog škroba na 18 % kod tretiranog rižinog škroba. Ispitujući svojstva viskoznosti paste tretiranog i netretiranog rižinog škroba zabilježeno je da je početna temperatura želatinizacije netretiranog škroba veća u odnosu na škrob tretiran hladnom plazmom. Maksimalna viskoznost bila je veća kod rižinog škroba tretiranog hladnom plazmom nego kod nativnog škroba (Thirumdas i sur., 2017.b.). Autori Wu i sur. (2018.) koristili su korona dielektrično pražnjenje za dobivanje plazme (30 kV, 40 kV i 50 kV) i istražili utjecaj tretmana na škrob banane. Utvrdili su da nakon tretmana plazmom nije došlo do promjene udjela amiloze i rezistentnog škroba kod tretiranih uzoraka u odnosu na nativni, ali je došlo do promjene morfologije površine škrobnih granula (**Slika 13**) (Wu i sur., 2018.).



**Slika 13** SEM mikrograf nativnog banana škroba i škroba tretiranog korona dielektričnim pražnjenjem: (A) nativni; (B) 30 kV/cm; (C) 40 kV/cm; (D) 50 kV/cm. (Wu i sur 2018.).

Početna temperatura želatinizacije ( $t_0$ ) primjetno je porasla kod škroba banane tretiranog plazmom u odnosu na nativni, dok je temperatura vrha krivulje želatinizacije ( $t_p$ ) bila značajno veća kod tretiranih uzoraka. Ispitujući pastozna svojstva nativnog škroba banane i uzoraka tretiranih plazmom, uočena je značajno manja vrijednost maksimalne viskoznosti koja je opadala s povećanjem napona. Entalpija želatinizacije također je smanjena povećanjem napona (Wu i sur., 2018.).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### 3.1. ZADATAK

Cilj ove doktorske disertacije bio je ispitati utjecaj visokonaponskog električnog pražnjenja u tekućoj fazi na svojstva četiri vrste škroba: krumpirov, kukuruzni, pšenični i tapiokin škrob, te mogućnosti kombiniranja ove obrade s kemijskim modifikacijama: fosforilacijom natrijevim tripolifosfatom ( $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) i natrijevim hidrogenfosfatom ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). Škrob je tretiran visokonaponskim električnim pražnjenjem (HVED-om) prije i nakon kemijskih modifikacija da bi se utvrdio utjecaj redoslijeda tretiranja na postignuta svojstva.

Istraživanje je obuhvatilo:

- pripravu modifikata škroba krumpira, kukuruza, pšenice i tapioke primjenom visokonaponskog električnog pražnjenja i kemijskih postupaka modifikacije s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ;
- pripravu modifikata škroba krumpira, kukuruza, pšenice i tapioke kombinacijom HVED-a i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ );
- pripravu modifikata škroba krumpira, kukuruza, pšenice i tapioke kombinacijom HVED-a i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ );
- pripravu modifikata škroba krumpira, kukuruza, pšenice i tapioke kombinacijom  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i HVED-a ( $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED);
- pripravu modifikata škroba krumpira, kukuruza, pšenice i tapioke kombinacijom  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i HVED-a ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED);
- određivanje udjela rezistentnog i oštećenog škroba u nativnim i modificiranim škrobovima;
- određivanje udjela amiloze u nativnim i modificiranim škrobovima;
- određivanje svojstava želatinizacije primjenom diferencijalne motridbene kalorimetrije (DKM Mettler Toledo DSC 822<sup>e</sup>);
- određivanje svojstava paste primjenom Brabenderovog mikro visko-amilografa (Micro visco-analyzer Tip 803202, Brabender GmbH & Co KG, Njemačka)
- određivanje kapaciteta bubrenja i indeksa topljivosti nativnih i modificiranih škrobova;
- određivanje bistroće škrobnih pasti;
- određivanje boje škroba kromametrom;
- određivanje veličine čestica škroba;
- određivanje teksture gelova nativnih i modificiranih škrobova (čvrstoća, adhezija i sila pucanja gela);
- snimanje granula škroba skenirajućim elektronskim mikroskopom;



- utvrđivanje prisustva novih veza u modificiranim škrobovima primjenom infracrvene spektroskopije i ispitivanje mogućnosti primjene tehnike u određivanju stupnja supstitucije (FT-IR analiza).

## 3.2. MATERIJALI

Materijali korišteni u istraživanju:

- pšenični škrob, izoliran na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek;
- kukuruzni škrob, Cargill, SAD;
- krumpirov škrob, Cargill, SAD;
- tapiokin škrob, Cargill, SAD;
- natrijev tripolifosfat, Acros Organics;
- natrijev hidrogenfosfat, Acros Organics;
- kit za enzimsko određivanje udjela rezistentnog škroba, Megazyme, Irska;
- kit za enzimsko određivanje udjela oštećenog škroba, Megazyme, Irska;
- kit za enzimsko određivanje udjela amiloze, Megazyme, Irska.

## 3.3. METODE

### 3.3.1. Modifikacija škroba primjenom visokonaponskog električnog pražnjenja

Pripravljeno je 200 mL suspenzije škroba koncentracije 1 g/mL koja je tretirana visokonaponskim električnim pražnjenjem (30 kV, 70 Hz, 30 min) uz miješanje na magnetskoj mješalici. Uređaj za generiranje visokonaponskog električnog pražnjenja napravljen je prema zahtjevima Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u suradnji s firmom Inganiare CPTS1, Hrvatska. U komori za tretiranje uzoraka nalaze se igla od nehrđajućeg čelika (promjer 2,5 mm) i elektroda za uzemljenje u obliku okrugle ploče (promjera 45 mm). Tijekom tretmana razmak između elektroda bio je 20 mm. Nakon tretmana suspenzija je centrifugirana pri 3000 o/min tijekom 5 min (centrifuga IEC Centra MP4R), izdvojena voda je oddekantirana, škrob je preko noći osušen na zraku, a zatim u sušioniku pri 130 °C tijekom 3 h, samljeven i zapakiran u polietilenske vrećice.

### 3.3.2. Modifikacija škroba natrijevim hidrogenfosfatom

Škrobni fosfat pripremljen je prema metodi koju su opisali Choi i sur. (2005.) i Prasanthi i Rama Rao (2010.) uz neke modifikacije. Škrob (100 g) i natrijev hidrogenfosfat (30 g) suspendirani su u 200 mL demineralizirane vode uz miješanje na magnetskoj mješalici tijekom 30 min. Nakon tretmana suspenzija je centrifugirana pri 3000 o/min tijekom 5 min (centrifuga IEC

Centra MP4R), izdvojena voda je oddekantirana, škrob je tri puta ispran suspendiranjem u vodi i centrifugiranjem. Tako dobiveni škrob je preko noći osušen na zraku, a zatim u sušioniku pri 130 °C tijekom 3 h, samljeven i zapakiran u polietilenske vrećice (Sung i sur., 2005.; Prasanthi i Rama Rao, 2010.).

#### **3.3.3. Modifikacija škroba natrijevim tripolifosfatom**

Modificiranje je provedeno prema metodi Lim i Seib (1993.). Ukratko, po 2,5 g natrijevog sulfata i natrijevog tripolifosfata otopljeno je u 200 mL demineralizirane vode i u dobivenoj otopini suspendirano je 100 g škroba tijekom 20 min. Nakon toga, dokapavanjem NaOH (0,45 M) pH suspenzije je podešen na 10,0 i suspenzija je miješana još sat vremena. Nakon tretmana, suspenzija je centrifugirana pri 3000 o/min tijekom 5 min (centrifuga IEC Centra MP4R), izdvojena voda je oddekantirana, škrob je tri puta ispran suspendiranjem u vodi i centrifugiranjem. Tako dobiveni škrob je preko noći osušen na zraku, a zatim u sušioniku pri 130 °C tijekom 3 h, samljeven i zapakiran u polietilenske vrećice (Lim i Seib, 1993.).

#### **3.3.4. Ispitivanje utjecaja redosljeda modifikacije**

Utjecaj redosljeda modifikacije ispitan je na sljedeći način:

Za modifikaciju uz naknadnu primjenu HVED-a: suspenzija pripravljena kao pod 3.3.2. ili 3.3.3., a zatim je tretirana primjenom HVED-a kako je opisano pod 3.3.1.

Za modifikaciju uz prethodnu primjenu HVED-a: prvo je pripravljena škrobna suspenzija bez dodatka kemijskog reagensa koja je tretirana kao pod 3.3.1., a zatim je dodan reagens i nastavljena obrada kako je opisano pod 3.3.2. ili 3.3.3.

#### **3.3.5. Određivanje udjela rezistentnog škroba metodom AOAC 2002.2**

Da bi se odredio udio rezistentnog škroba, uzorci su inkubirani u vodenoj kupelji s tresilicom sa želučanom  $\alpha$ -amilazom i amiloglukozidazom (AMG) 16 sati pri 37 °C i pH 6,0. Tijekom tog vremena nerezistentni škrob je kombiniranim djelovanjem dvaju enzima hidroliziran do glukoze. Reakcija je prekinuta dodatkom etanola te je rezistentni škrob (RS) centrifugiranjem pri 1500 g (3000 rpm) tijekom 10 minuta izdvojen u obliku taloga. Dobiveni RS ispran je dva puta etanolom (50 % v/v), uz centrifugiranje (1500 g, 10 minuta). Supernatant je oddekantiran, a talog RS je otopljen u 2 M KOH snažnim miješanjem u ledenoj kupelji na magnetskoj mješalici tijekom 20 minuta. Otopina je neutralizirana acetatnim puferom (pH 3,8) te je škrob kvantitativno hidroliziran do glukoze djelovanjem amiloglukozidaze (30 min/50 °C).

Udio glukoze određen je spektrofotometrijski pri 510 nm, nakon reakcije s glukoza oksidaza-peroksidaza-aminoantipirin (GOPOD) reagensom, a iz dobivene vrijednosti izračuna se udio rezistentnog škroba u uzorku.

Udio rezistentnog škroba izračunat je iz sljedeće jednakosti:

$$RS [\% \text{ s. tv.}] = \Delta E \times F \times \frac{10,3}{0,1} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} = \Delta E \times \frac{F}{W} \times 9,27$$

gdje je:

$\Delta E$  razlika apsorbance uzorka i apsorbance slijepe probe

F konverzija apsorbance u mikrograme (odredi se apsorbancu za 100  $\mu\text{g}$  glukoze u reakciji s GOPOD i računa:  $F = 100 (\mu\text{g glukoze}) / \text{apsorbancu GOPOD sa } 100 \mu\text{g glukoze}$ ).

100/0,1 korekcija volumena (0,1 mL uzet od 100 mL)

1/1000 konverzija iz mikrograma u miligrame

W masa suhe tvari uzorka = masa uzorka  $\times$  udio suhe tvari

162/180 faktor koji pretvara slobodnu glukozu, koja se detektira, u anhidro-glukozu koja se nalazi u škrobu

### 3.3.6. Određivanje stupnja oštećenosti škroba (AACC 76-31.01)

Princip metode zasniva se 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.

Uvjeti analize omogućavaju gotovo potpunu hidrolizu oštećenih škrobnih granula i minimalnu razgradnju neoštećenih granula. Enzimaska hidroliza prekida se nakon točno 10 minuta dodatkom razrijeđene sulfatne kiseline. Uzorak se centrifugira, a alikvot supernatanta (sadrži maltooligosaharide i  $\alpha$ -granične dekstrine) tretira se pročišćenom amiloglukozidazom. Nastaje glukozu koja s glukozu oksidaza-peroksidaza reagensom (GOPOD) stvara obojenje čiji se intenzitet određuje spektrofotometrijski. Stupanj oštećenosti škroba izračunat je prema formuli:

$$DS [\%] = \Delta E \times F \times 60 \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} = \Delta E \times \frac{F}{W} \times 5,4$$

gdje je:

DS stupanj oštećenosti škroba [%]

$\Delta E$  razlika apsorbance uzorka i apsorbance slijepe probe,

F konverzija apsorbance u  $\mu\text{g}$  (odredi se apsorbancu za 150  $\mu\text{g}$  glukoze u reakciji sa GOPOD i računa:  $F = 150 (\mu\text{g glukoze}) / \text{apsorbancu GOPOD sa } 150 \mu\text{g glukoze}$ ),

60 korekcija volumena (0,1 mL uzet iz 6,0 mL),

1/1000 konverzija  $\mu\text{g}$  u mg,

100/W faktor za izražavanje DS-a kao postotak od uzorka (W – masa uzorka [mg]),

162/180 faktor koji pretvara slobodnu glukozu, koja se detektira, u bezvodnu glukozu koja se nalazi u škrobu.

### 3.3.7. Određivanje udjela amiloze pomoću kita Megazyme K-AMYL 04/06

Uzorci škroba u potpunosti su dispergirani zagrijavanjem u dimetilsulfoksidu (DMSO). Lipidi su uklonjeni precipitacijom škroba u etanolu i oslobađanjem precipitiranog škroba. Nakon otapanja precipitiranog uzorka u otopini acetat/soli, amilopektin je zasebno precipitiran dodatkom *concanavalina A* (Con A) i centrifugiranjem. Amiloza je u alikvotu supernatanta enzimski hidrolizirana do glukoze koja se analizira reagensom glukoza oksidaza/peroksidaza. Ukupni škrob je iz posebnog dijela otopine acetat/sol također hidroliziran do glukoze te se kolorimetrijski mjeri uz glukoza oksidaza/peroksidazu. Udio amiloze u uzorku škroba određuje se kao omjer GOPOD apsorbance na 510 nm supernatanta uzorka precipitiranog s Con A i ukupnog škroba.

Udio amiloze u škrobu izračunat je prema sljedećoj jednakosti:

$$\text{Amiloza [\%]} = \frac{\text{Apsorbanca Con A supernatanta}}{\text{Apsorbanca alikvota za ukupni škrob}} \times \frac{6,15}{9,2} \times 100$$

Gdje su 6,15 i 9,2 faktori razrjeđenja za ekstrakte Con A i ukupnog škroba.

### 3.3.8. Određivanje svojstava želatinizacije

Određivanje svojstava želatinizacije provedeno je pomoću diferencijalnog motridbenog kalorimetra DSC 822E (Mettler Toledo, Njemačka), a mjerenja su se provodila u atmosferi dušika čistoće 5,0 (Linde). 5 mg uzorka je izvagano u ME-27331 posudicu od aluminijske (40 µL) te je dodana destilirana voda u omjeru 3:1 (voda:škrob). Posudica je hermetički zatvorena i tako pripremljena kondicionirana 20 minuta na sobnoj temperaturi. Kao referentna posudica korištena je prazna aluminijska posudica istih karakteristika.

Mjerenja su izvršena u temperaturnom području od 25 °C do 100 °C uz brzinu zagrijavanja od 4 °C/min. Toplinske karakteristike paste korištene su za izračunavanje entalpije i temperature početka i završetka želatinizacije škroba pomoću StarSoftware Mettler Toledo softvera.

DMK parametri želatinizacije: promjena entalpije ( $\Delta H$ ), temperatura početka procesa ( $t_o$ ), temperatura vrha krivulje ( $t_p$ ) i temperatura završetka procesa ( $t_e$ ) su dobiveni iz DMK egzotermne krivulje želatinizacije, odnosno retrogradacije škroba pomoću StarSoftware Mettler Toledo softvera.

#### 3.3.9. Određivanje svojstava paste

Određivanje pastoznih svojstava provedeno je Brabenderovim mikro visko-amilografom. Uređaj je povezan s računalom koje upravlja radom uređaja te vrši obradu dobivenih rezultata. Modificirani ili nativni škrob dodan je u destiliranu vodu (u posudu Brabenderovog mikro visko-amilografa) kako bi se pripravilo 100 g 7 %-tne suspenzije.

Kod mjerenja reoloških svojstava uzorci su bili podvrgnuti temperaturnom programu:

1. Zagrijavanje od 30 do 92 °C, brzina zagrijavanja 7,5 °C/min.
2. Izotermno na 92 °C, 15 minuta.
3. Hlađenje od 92 do 50 °C, brzina hlađenja 7,5 °C/min.
4. Izotermno na 50 °C, 15 minuta.

Mjerenje je provedeno pri okretanju mjernog tijela Brabenderovog mikro viskoamilografa od 250 min<sup>-1</sup>.

##### *Obrada rezultata*

Mjerenjem reoloških svojstava Brabenderovim mikro viskografom dobiju se parametri:

1. Temperatura početka stvaranja paste [ $T_p$  / °C].
2. Viskoznost vrha - označava maksimalnu vrijednost viskoznosti paste nastale želatinizacijom škroba, a izražava se u Brabenderovim jedinicama [MV / BU].
3. Vrijednost viskoznosti škrobne paste pri 92 °C [Visk. 92 °C / BU].
4. Vrijednost viskoznosti škrobne paste nakon 15 minuta miješanja pri 92 °C [Visk. mij. 92 °C / BU].
5. Vrijednost viskoznosti škrobne paste pri 50 °C [Visk. 50 °C / BU].
6. Vrijednost viskoznosti škrobne paste nakon 15 minuta miješanja pri 50 °C [Visk. mij. 50 °C / BU].
7. *Kidanje* [BD]. Izračunava se oduzimanjem vrijednost viskoznosti nakon 15 minuta miješanja pri 92 °C od vrijednost viskoznosti vrha. Označava stabilnost škrobne paste tijekom miješanja pri visokim temperaturama (92 °C).
8. *Setback* [SB]. Izračunava se oduzimanjem vrijednosti viskoznosti pri 92 °C nakon 15 minuta miješanja od vrijednosti viskoznosti pri 50 °C, označava sklonost škrobne paste retrogradaciji.

### 3.3.10. Određivanje kapaciteta bubrenja i indeksa topljivosti škrobova

Nativni ili modificirani škrob krumpira, kukuruza, pšenice i tapioke dodan je u destiliranu vodu (u Erlenmayer-ovoj tikvici) kako bi se pripravila 1,0 %-tna suspenzija. Suspenzija je potom zagrijavana pri temperaturama od 65 do 95 °C, u rasponu od 10 °C i u trajanju od 15 minuta u vodenoj kupelji s treslicom. Želatinizirani škrob je potom ohlađen na sobnu temperaturu, vagan, te mu je dodana eventualno isparena voda. Nakon toga uzorak je dobro homogeniziran. Tako priređen gel je centrifugiran (3000 rpm, 10 min). Nakon završetka centrifugiranja, supernatant je dekantiran, a ostatak tekućine iz kivete uklonjen je filter papirom. Kivete s gelom izvagane su te je određena suha tvar supernatanta ( $W_s$ ) sušenjem na 105 °C do konstantne mase. Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

*Kapacitet bubrenja*, KB [g hidratiziranih molekula / g suhe tvari škroba] računat je prema formuli:

$$KB \text{ [g hidratiziranih molekula / g suhe tvari škroba]} = \frac{W_G}{W_{STG}}$$

$W_G$  – masa gela [g]

$W_{STG}$  – masa suhe tvari u gelu [g]

*Indeks topljivosti*, IT [%] računat je prema formuli:

$$IT \text{ [%]} = \left( \frac{W_s}{W_0} \right) \cdot 100$$

$W_s$  – udio suhe tvari u supernatantu [%]

$W_0$  – udio suhe tvari u početnoj suspenziji (1,0 %)

### 3.3.11. Određivanje bistroće škrobnih pasti

Bistroća škrobnih pasti određena je metodom po Kerr-u i Cleveland-u (1959.). Vodena suspenzija (1,0 % s. tv.) škroba zagrijavana je 30 minuta u vrijućoj vodenoj kupelji uz povremeno miješanje. Nakon hlađenja na 25 °C tijekom jednog sata očitana je % transmitancije pri 650 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu. Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

### 3.3.12. Određivanje boje škroba kromametrom

Za određivanje boje škroba korišten je kromametar Konica Minolta CR-300. Prije mjerenja boje u sustavima CIELab i LCh kromametar je kalibriran pomoću kalibracijske pločice. Za svaki uzorak provedeno je pet mjerenja.

U CIELab sustavu određuju se tri parametra boje:

- $L^*$ , koji se kreće u rasponu 0 (crno) — 100 (bijelo)
- $a^*$ , pokazuje odnos crveno (pozitivne vrijednosti) — zeleno (negativne vrijednosti)
- $b^*$ , pokazuje odnos žuto (pozitivne vrijednosti) — plavo (negativne vrijednosti).

U CIELCh sustavu se uz  $L^*$  parametar koji je isti kao u CIELab sustavu, određuje još i  $C^*$  parametar koji predstavlja intenzitet ili zasićenost boje (engl. *chroma*) i kreće se u rasponu od 0 do 100 (što su vrijednosti niže, zasićenost boje je slabija) i  $h^\circ$  koji predstavlja ton boje (engl. *hue*), a izražava se u  $^\circ$  pri čemu  $0^\circ$  označava crveno, preko  $90^\circ$  za žuto,  $180^\circ$  za zeleno, do  $270^\circ$  za plavo.

Ukupna promjena boje izračunava se iz podataka dobivenih mjerenjem u CIELab sustavu prema jednakosti:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2}$$

Parametri s indeksom „0“ označavaju vrijednost boje za pojedinu vrstu nativnog škroba, a parametri bez indeksa pripadajuću vrstu modificiranog škroba.

Jednostavno ocjenjivanje odstupanja boja može se provesti na osnovu vrijednosti kolorimetrijske razlike, prema sljedećim kriterijima (Jukić i sur., 2007):

- $\Delta E = (0 - 0,5)$  razlika boja se ne vidi
- $\Delta E = (0,5 - 1,5)$  razlika boja se teško uočava ljudskim okom
- $\Delta E = (1,5 - 3)$  razliku boja uočavaju trenirani senzorski analitičari
- $\Delta E = (3 - 6)$  razliku boja uočavaju prosječne osobe
- $\Delta E = (6 - 12)$  očigledna odstupanja boja (boje pripadaju istoj skupini)
- $\Delta E > 12$  ekstremna razlika u boji (boje pripadaju različitim skupinama)

#### 3.3.13. Određivanje veličine čestica škroba

Veličina čestica škroba mjerena je uređajem Masterizer 2000, Malven Instruments LTD s Hidro 2000 MU adapterom. Mjerenje je rađeno na temperaturi od  $20^\circ\text{C}$ , a pumpa je postavljena na vrijednost od 2000. Zasićenje (engl. *obscuration*) je bilo između 15 i 20 % uz raspon mjerenja čestica od 0.020 do 2000  $\mu\text{m}$ . Prije svakog mjerenja, pripremljena otopina škroba 10 sekundi je tretirana ultrazvukom kako bi se razbili aglomerati škroba. Nakon toga uređaj je automatski napravio 4 serije mjerenja. Određena je srednja vrijednost, a rezultat je prikazan grafički kao postotak po volumenu određene veličine čestica škroba u mjerenom uzorku.

#### 3.3.14. Određivanje teksture škrobnih gelova

Za određivanje teksturalnih svojstava uzoraka korišten je uređaj TA-XT Plus, Stable microsystem, Velika Britanija.

##### *Priprema škrobnih gelova i mjerenje teksture*

Pripravljene su 11 %-tne suspenzije nativnih i modificiranih škrobova koje su potom zagrijavane pri temperaturi 95 °C u trajanju od 30 minuta u vodenoj kupelji uz konstantno miješanje. Želatinizirani škrob ohlađen je na sobnu temperaturu, vagan i dodana mu je eventualno isparena voda. Nakon toga smjesa je dobro homogenizirana. Po 35 g pripremljenog gela odvagano je u plastične posude sljedećih dimenzija: promjer = 35 mm; visina = 50 mm. Tekstura gelova mjerena je nakon 24 sata kako bi se tijekom toga vremena uklonili mjehurići zraka uklopljeni tijekom pripreme gelova.

Analiza teksture gela provedena je pomoću cilindričnog nastavka promjera 20 mm i visine 30 mm, sljedećim postupkom:

- brzina prije mjerenja – 3 mm/s;
- brzina mjerenja (tijekom penetracije) – 2 mm/s;
- brzina nakon mjerenja – 10 mm/s
- dubina penetracije mjernog tijela tijekom mjerenja iznosila je 20 mm, a sila mjerenja 1g.

#### 3.3.15. Snimanje granula škroba skenirajućim elektronskim mikroskopom

Snimanje granula nativnih i modificiranih škrobova učinjeno je skenirajućim elektronskim mikroskopom (SEM) JOEL JSM-7000F, optičke rezolucije 1,2 nm. Uređaj radi pri vrlo niskim radnim naponima čime se sprječava površinsko elektrostatsko nabijanje uzorka. Radno i mjerno područje: 10-500 000 x. Snimanje granula nativnih i modificiranih škrobova učinjeno je pri uvećanjima: 500 x, 2000 x i 5000 x.

#### 3.3.16. FT-IR analiza

Infracrvena spektroskopija (IR) je instrumentalna metoda za identifikaciju funkcionalnih skupina prisutnih u molekuli. Kao i kod drugih vrsta apsorpcije energije, prilikom apsorpcije infracrvenog zračenja molekule se nalaze u pobuđenom stanju i apsorbiraju određene frekvencije infracrvenog zračenja (Pavia i sur., 2009.). Infracrveno zračenje obuhvaća područje elektromagnetskog spektra s frekvencijama između 20 i 14500 cm<sup>-1</sup> (Mehrotra, 2000.).

Infracrveno zračenje se može podijeliti na tri područja:



1. blisko ( $4000\text{ cm}^{-1}$  –  $14500\text{ cm}^{-1}$ ),
2. srednje ( $400\text{ cm}^{-1}$  –  $4000\text{ cm}^{-1}$ ),
3. daleko ( $20\text{ cm}^{-1}$  –  $400\text{ cm}^{-1}$ ) (Mehrotra, 2000.).

Intenzitet i položaj apsorpcijskih vrpca određenih tvari jesu njezine izuzetno specifične karakteristike, te je zbog toga IR spektar kao vrlo karakteristično svojstvo, poput otisaka prstiju ljudi, moguće iskoristiti za identificiranje tvari (Gunzler i Gremlich, 2006.).

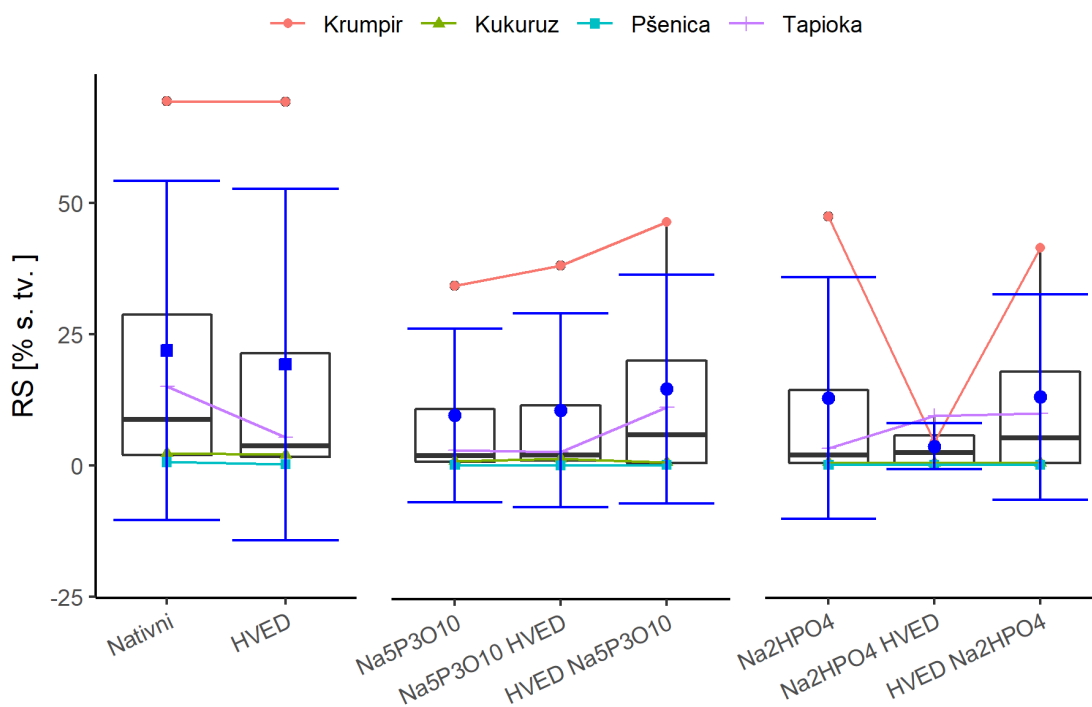
Mnogi autori kao mjernu jedinicu češće koriste valni broj nego valnu duljinu. Valni broj izražen u recipročnim centimetrima ( $\text{cm}^{-1}$ ) proporcionalan je energiji (veći valni broj odgovara većoj energiji). Najjednostavniji načini vibracijskog gibanja u molekulama su: istežanje i savijanje (ili deformacija). Vibracije istežanja imaju veću vrijednost valnog broja u odnosu na vibracije savijanja (Pavia i sur., 2009.). U ovome radu FT-IR spektri snimljeni su pomoću spektrometra Cary 630, Agilent, SAD u rasponu valnih duljina  $4000$  –  $650\text{ cm}^{-1}$ . Snimljena su po 32 spektra uz rezoluciju  $16\text{ cm}^{-1}$ .

#### 3.3.17. Statistička obrada podataka

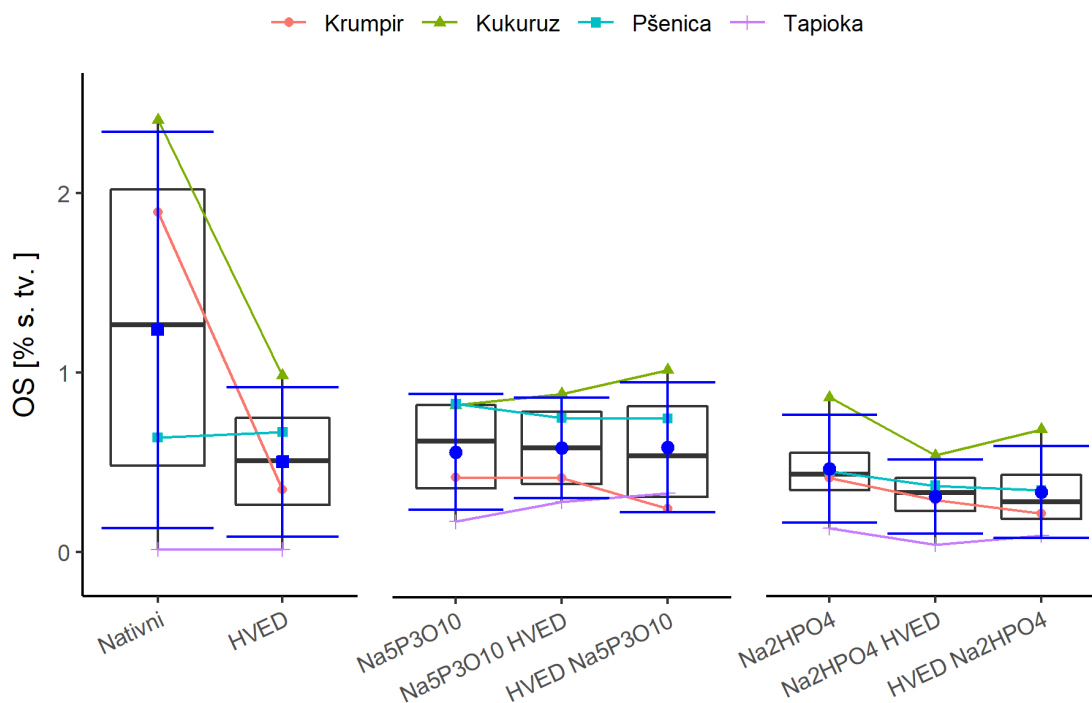
Za statističku obradu podataka korišten je programski jezik R (*verzija 3.5.2 (2018-12-20)*) i Microsoft Office Excel 2013. Za statističku analizu razlika u karakteristikama nativnih škrobova i škrobova modificiranih različitim tretmanima korištena je Bootstrap metoda s 9999 replika za zaključivanje o razlici očekivanja za zavisne uzorke.

## **4. REZULTATI**

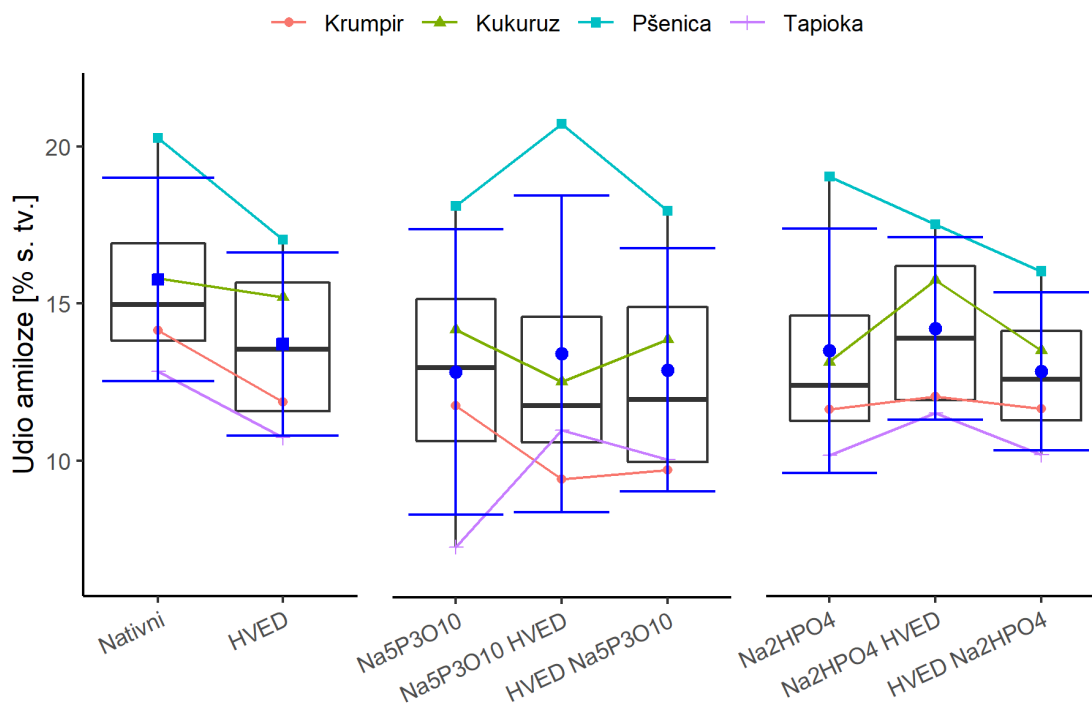
## 4.1. Udio rezistentnog škroba, oštećenog škroba i amiloze



**Slika 14** Udio rezistentnog škroba (RS) u nativnim škrobovima, škrobovima modificiranim HVED-om i škrobovima modificiranim Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a.

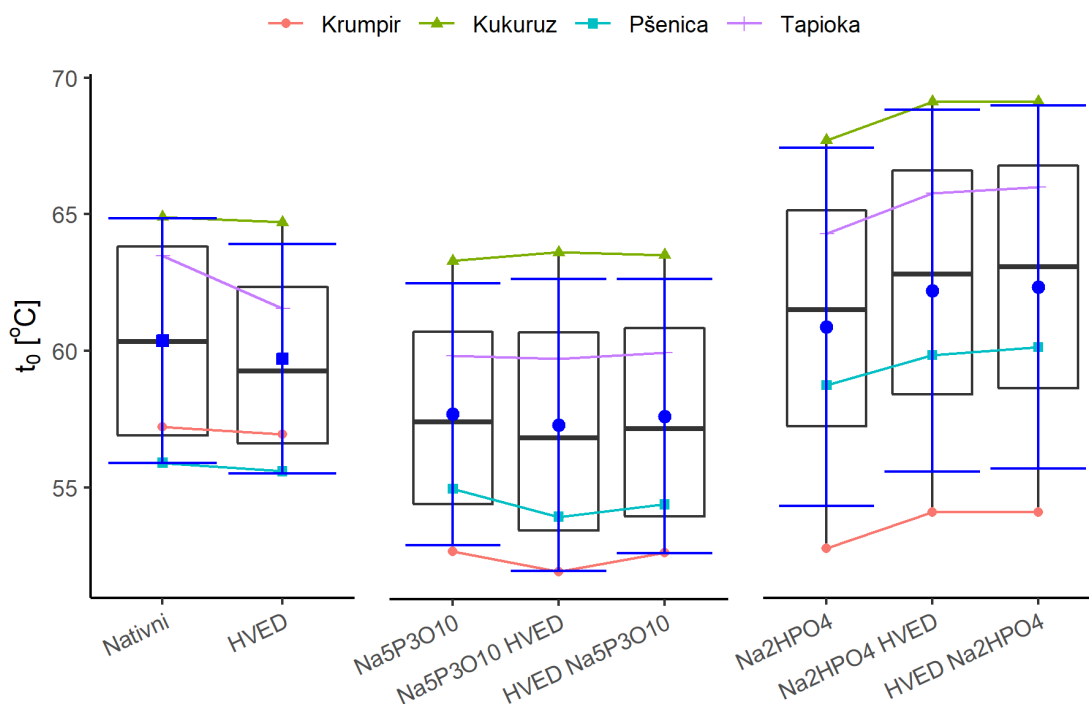


**Slika 15** Udio oštećenog škroba (OS) u nativnim škrobovima, škrobovima modificiranim HVED-om i škrobovima modificiranim Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a.

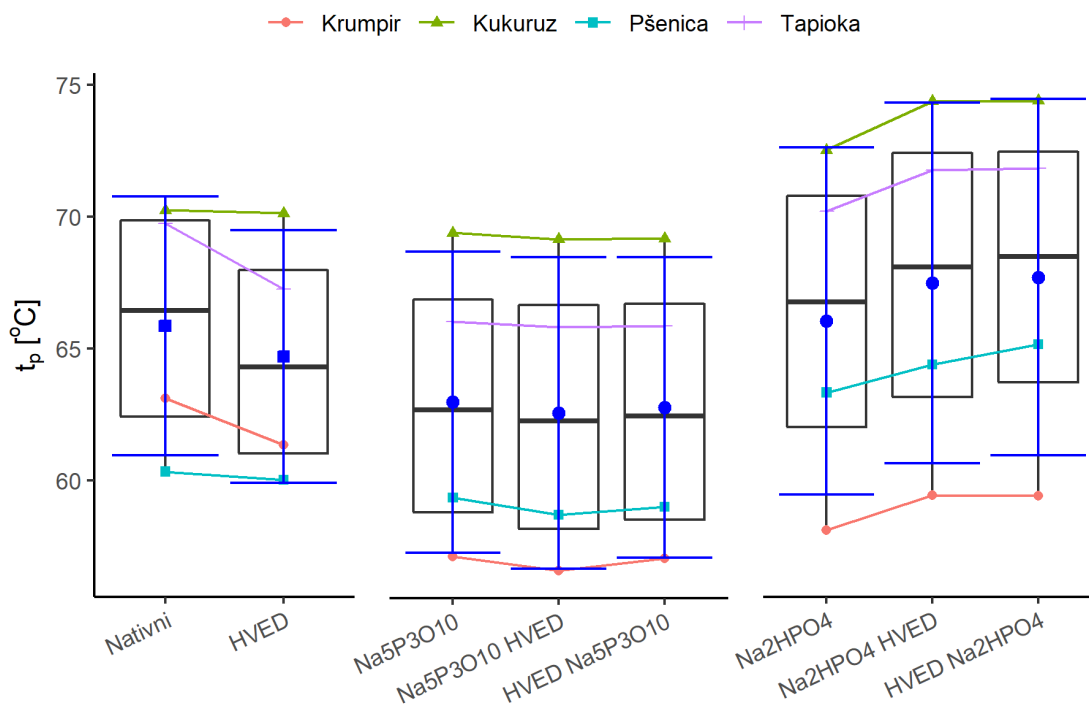


**Slika 16** Udio amiloze u nativnim škrobovima, škrobovima modificiranim HVED-om i škrobovima modificiranim  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

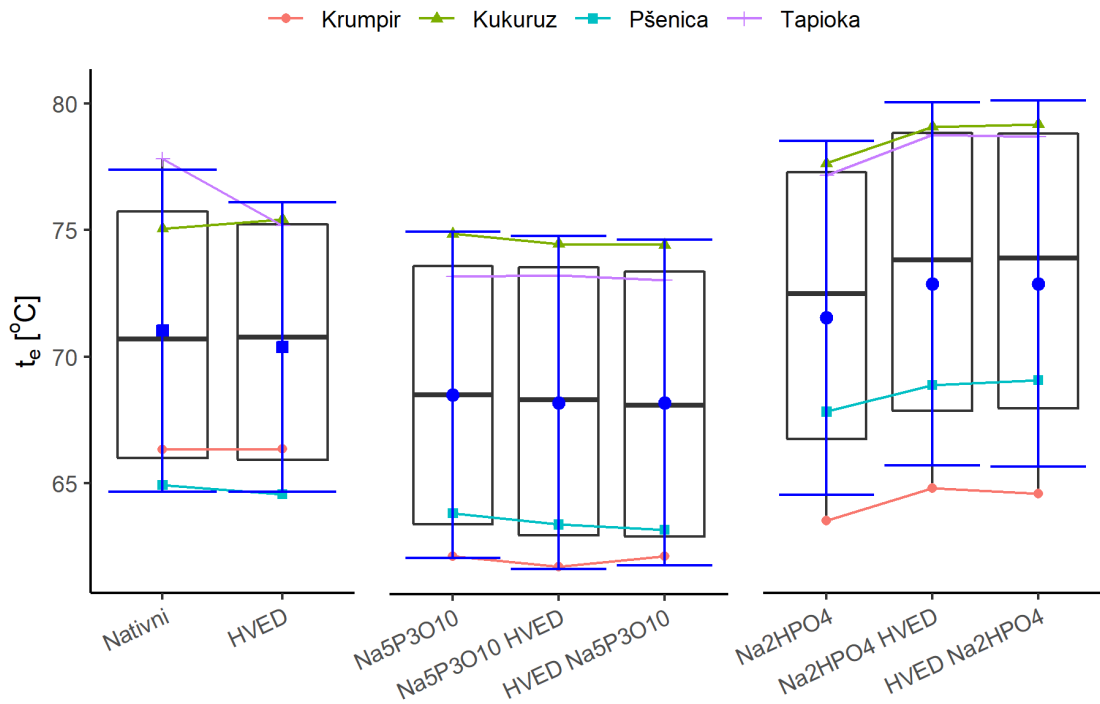
## 4.2. Svojstva želatizacije određena diferencijalnim motridbenim kalorimetrom



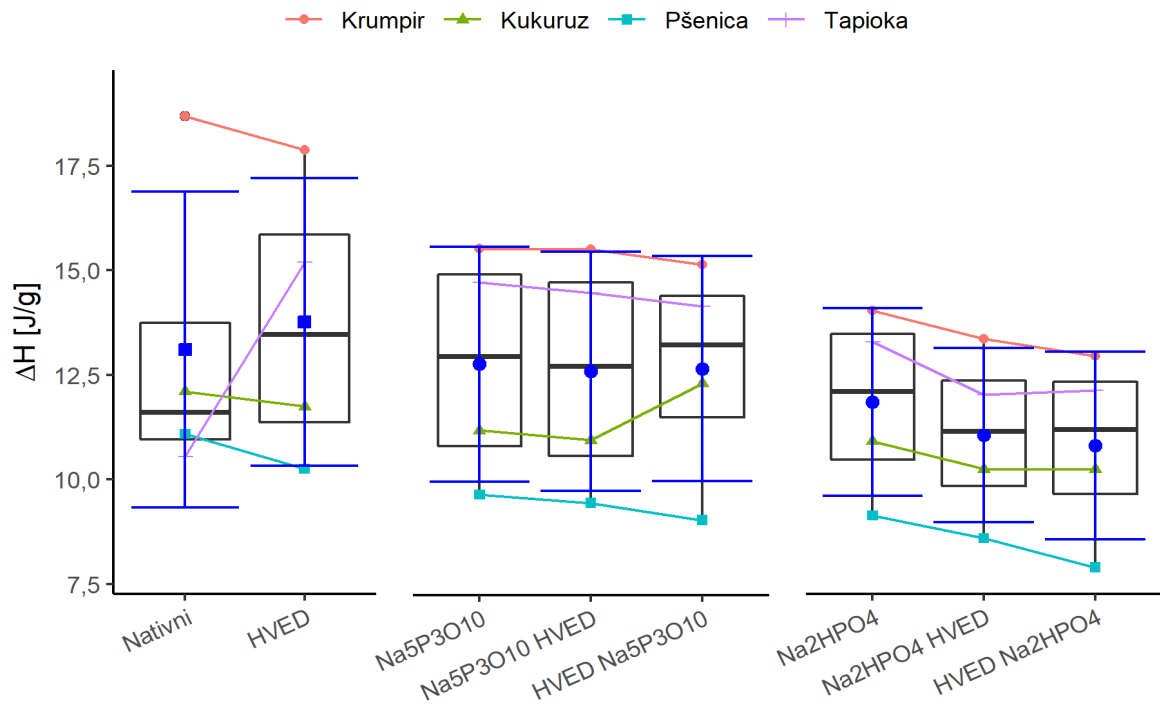
**Slika 17** Temperatura početka želatizacije ( $t_0$ ) nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a



**Slika 18** Temperatura vrha želatizacije ( $t_p$ ) nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a

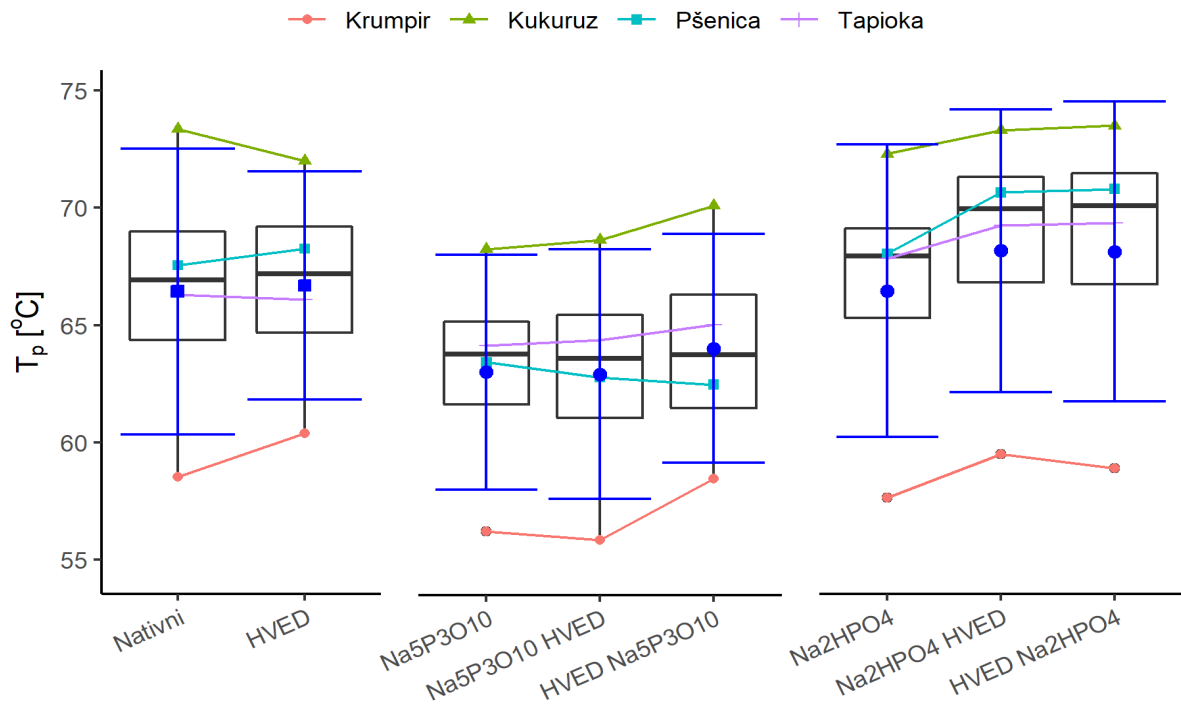


**Slika 19** Temperatura završetka želatinizacije ( $t_e$ ) nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

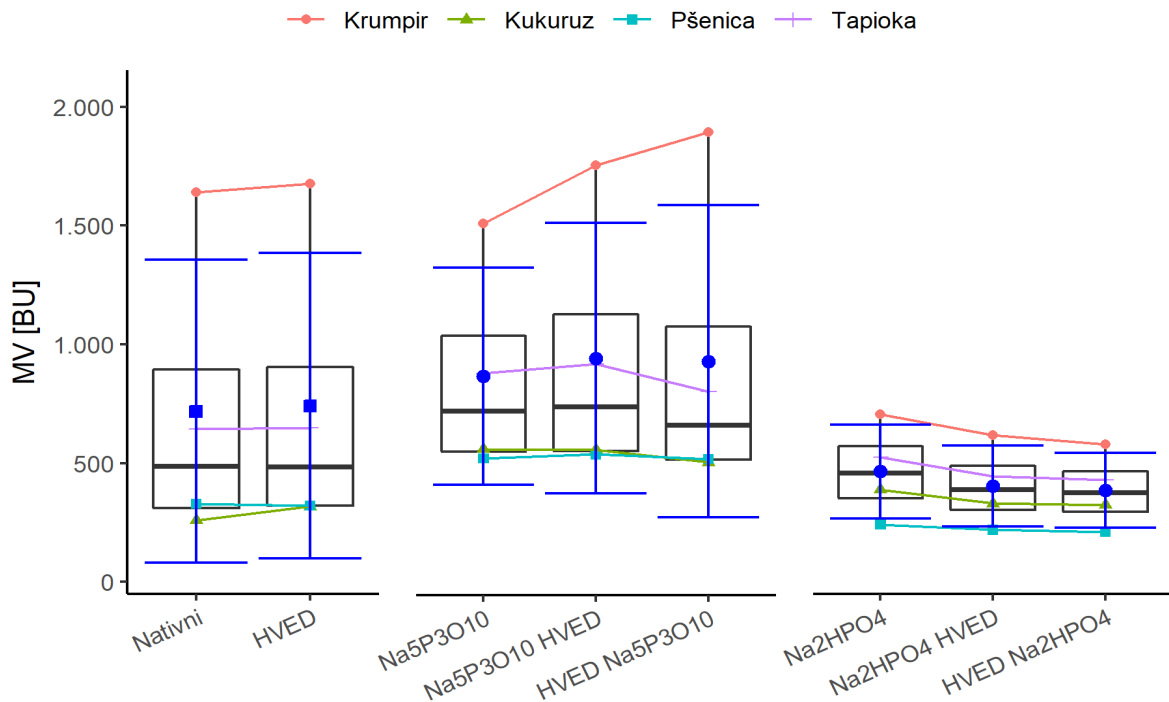


**Slika 20** Entalpija želatinizacije ( $\Delta H$ ) nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

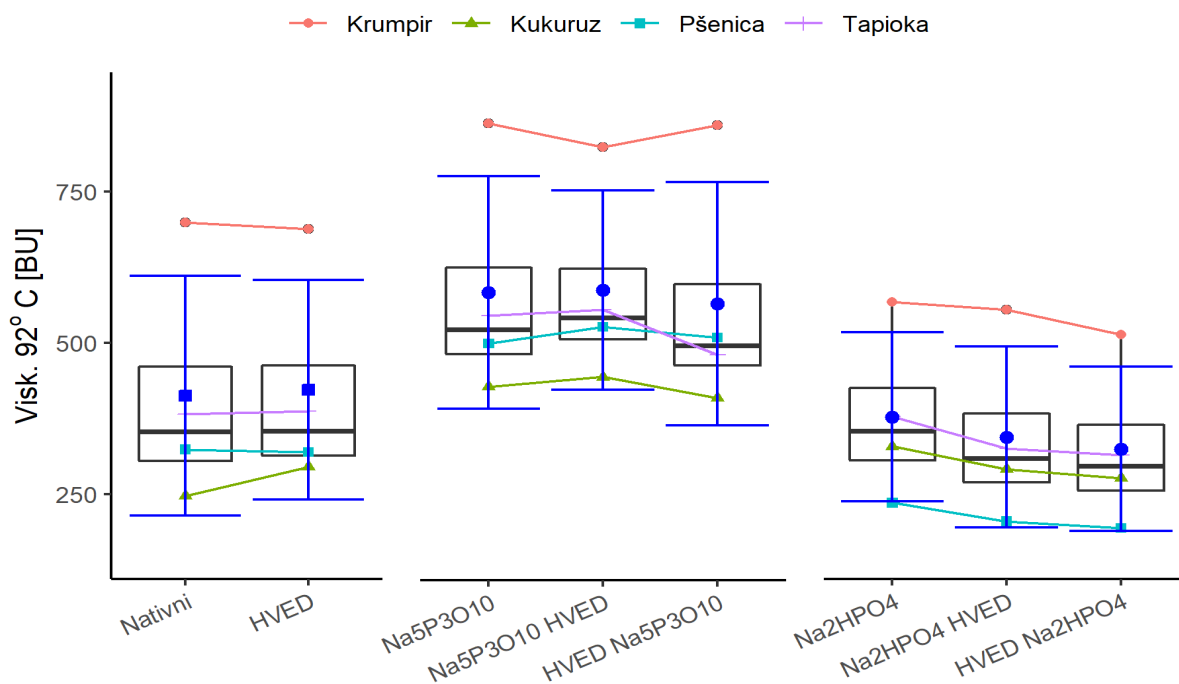
## 4.3. Svojstva paste određena mikro visko-amilografom



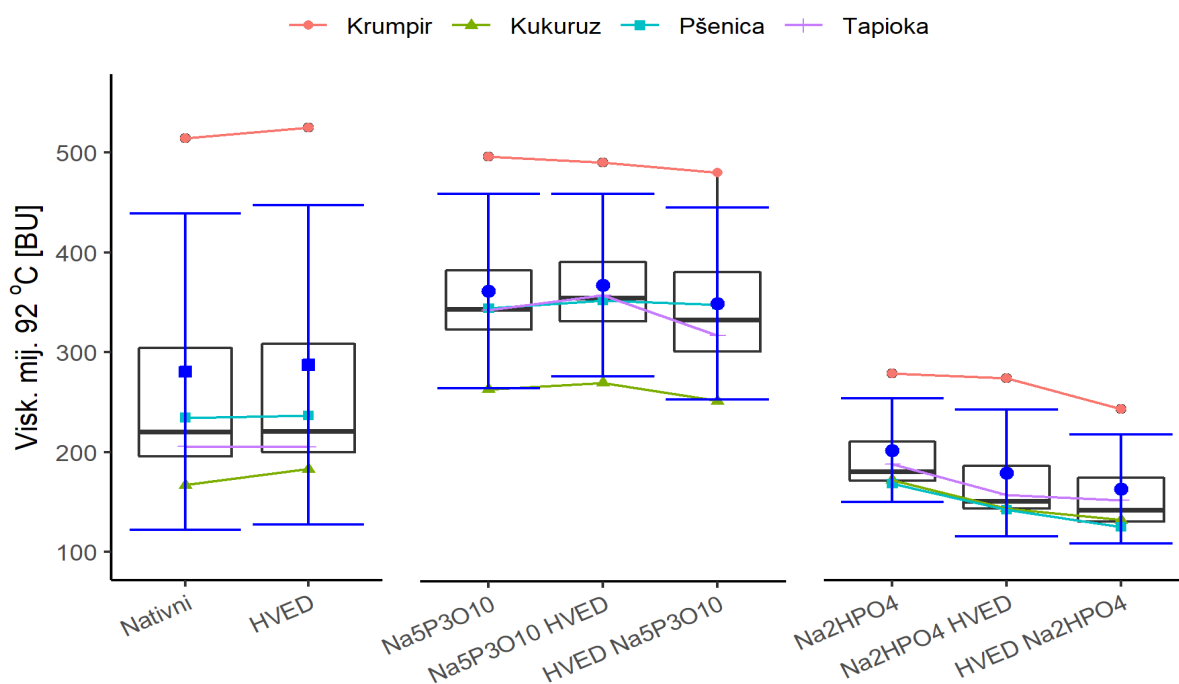
**Slika 21** Temperatura početka stvaranja paste ( $T_p$ ) nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a



**Slika 22** Maksimalna viskoznost paste (MV) nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

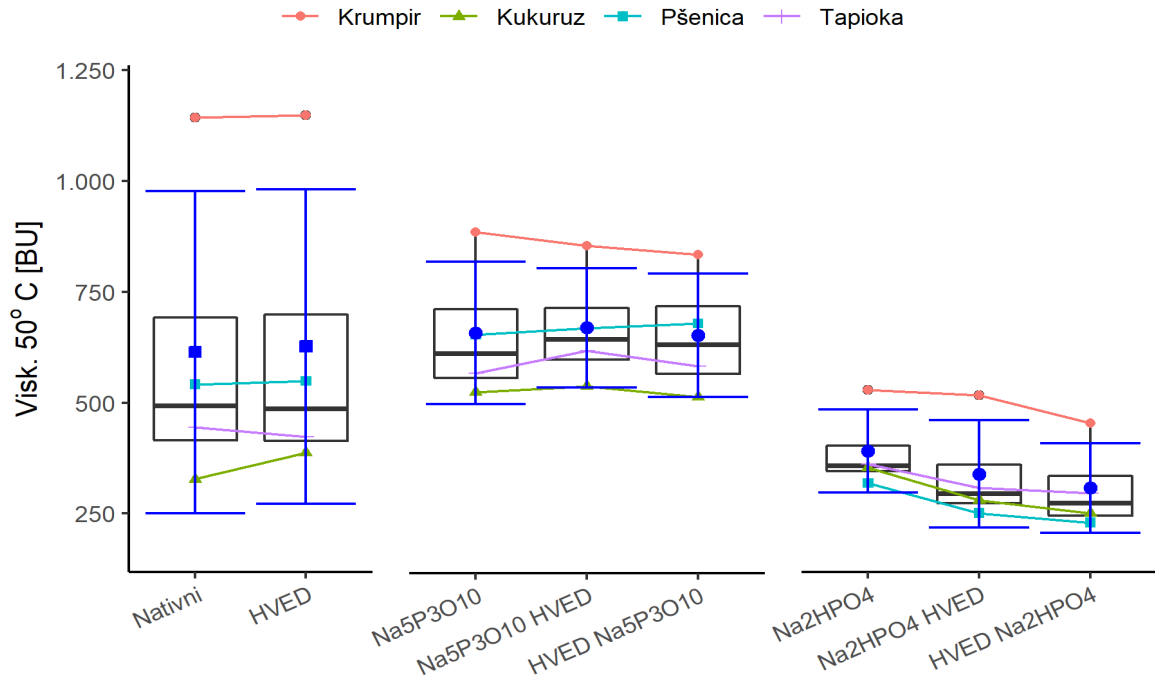


**Slika 23** Viskoznost paste (Visk.) na 92 °C nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

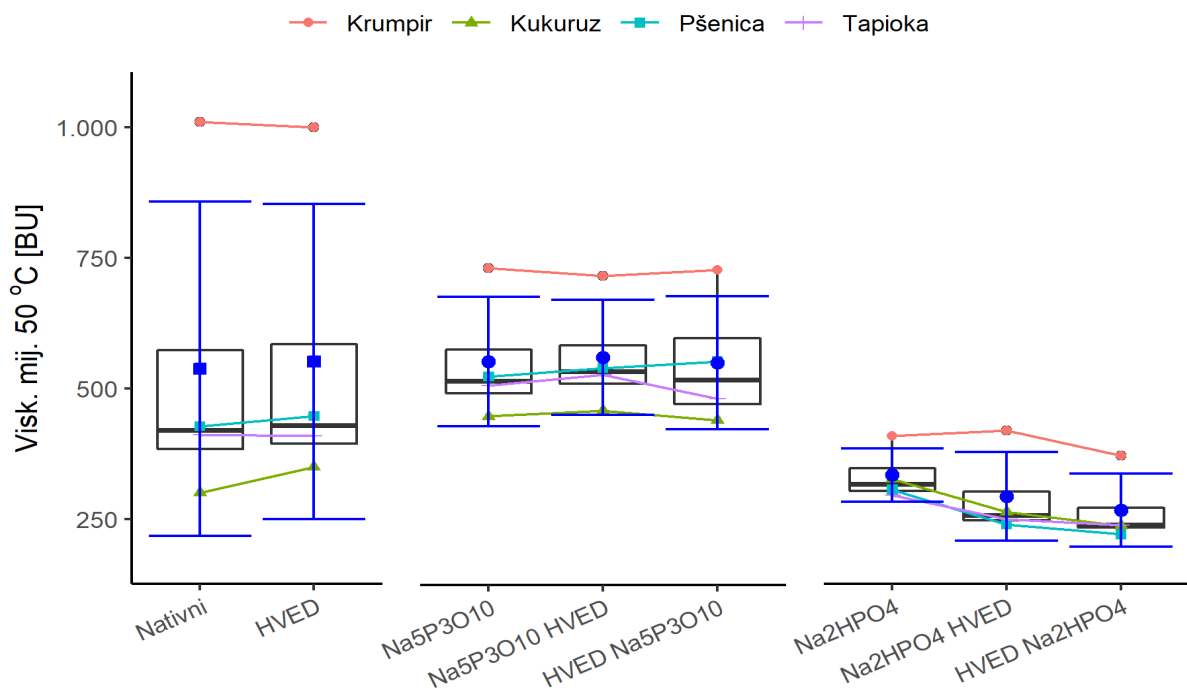


**Slika 24** Viskoznost paste nakon 15 minuta miješanja na 92 °C (Visk.mij.) nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

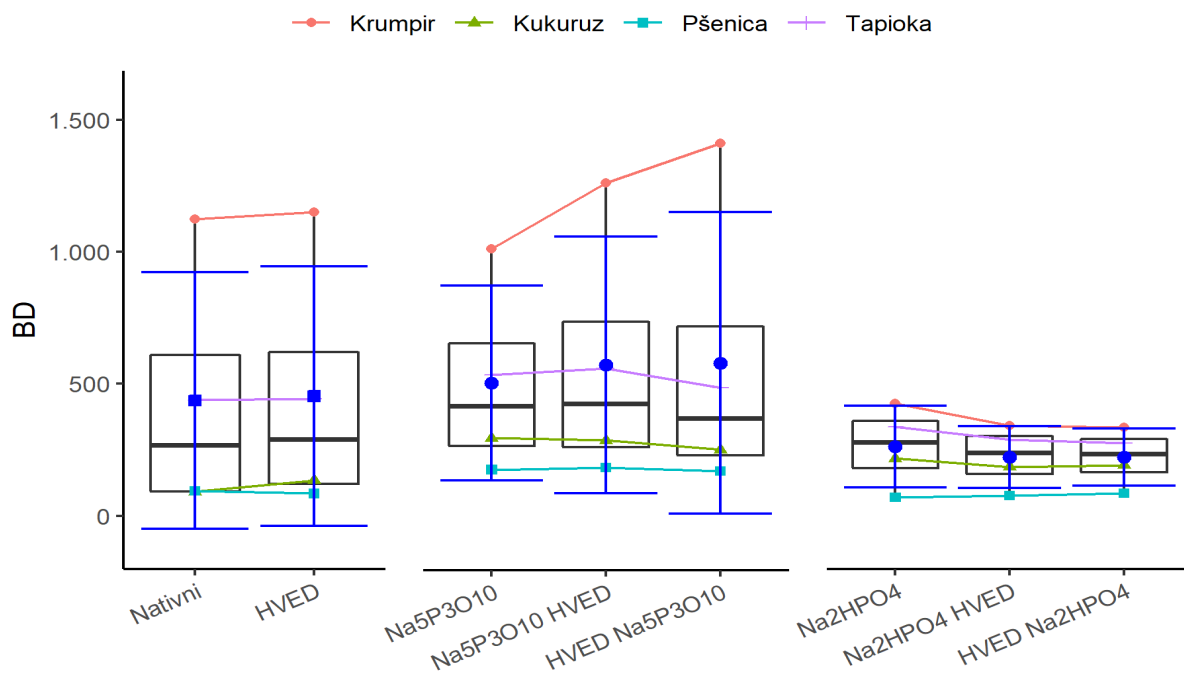




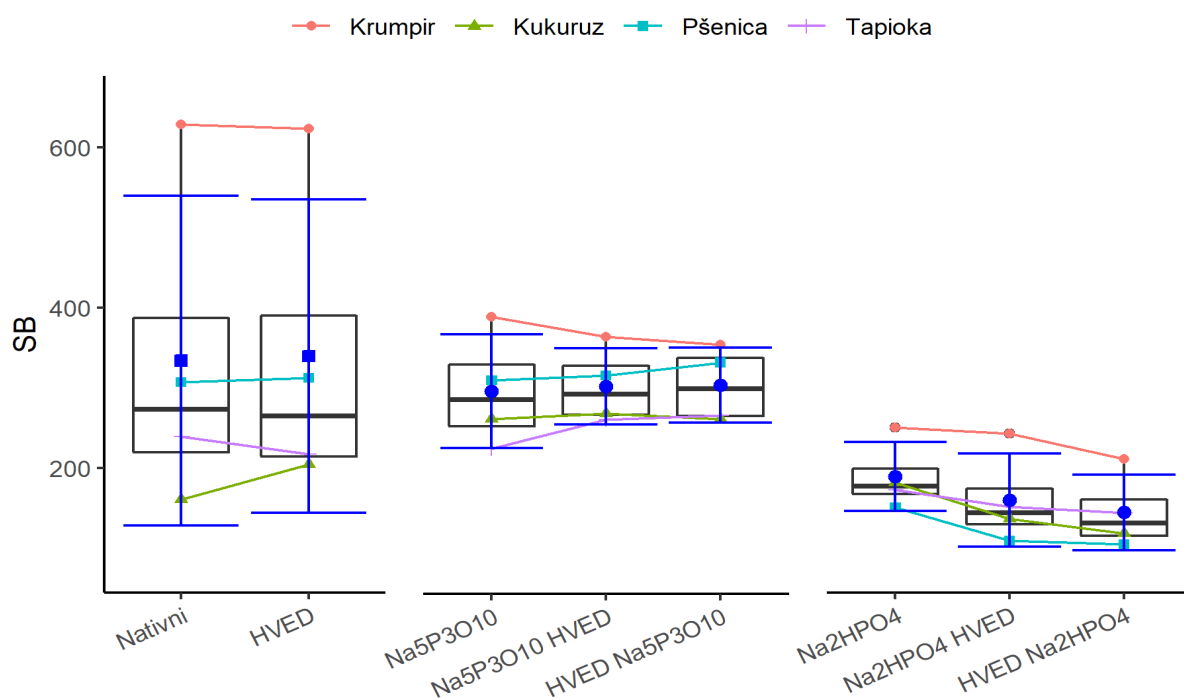
**Slika 25** Viskoznost paste (Visk.) na 50 °C nativnih škrobova, škrobova modifiziranih HVED-om i škrobova modifiziranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a



**Slika 26** Viskoznost paste nakon 15 minuta miješanja na 50 °C (Visk.mij.) nativnih škrobova, škrobova modifiziranih HVED-om i škrobova modifiziranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

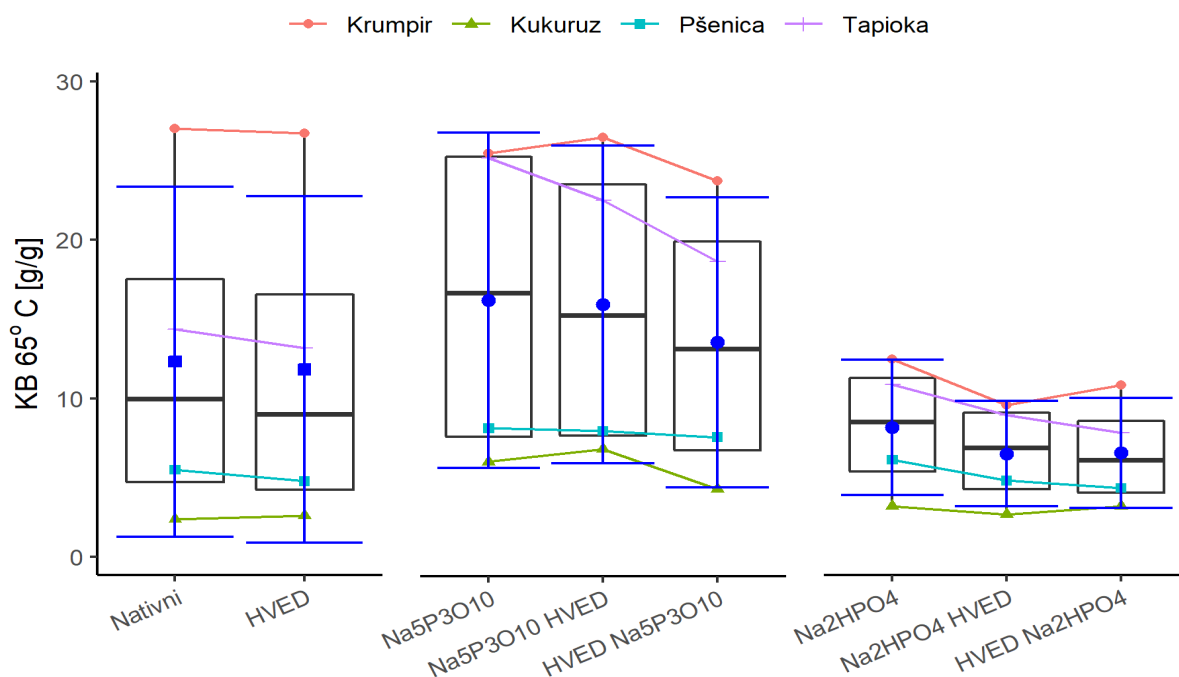


**Slika 27** Kidanje (BD) nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a

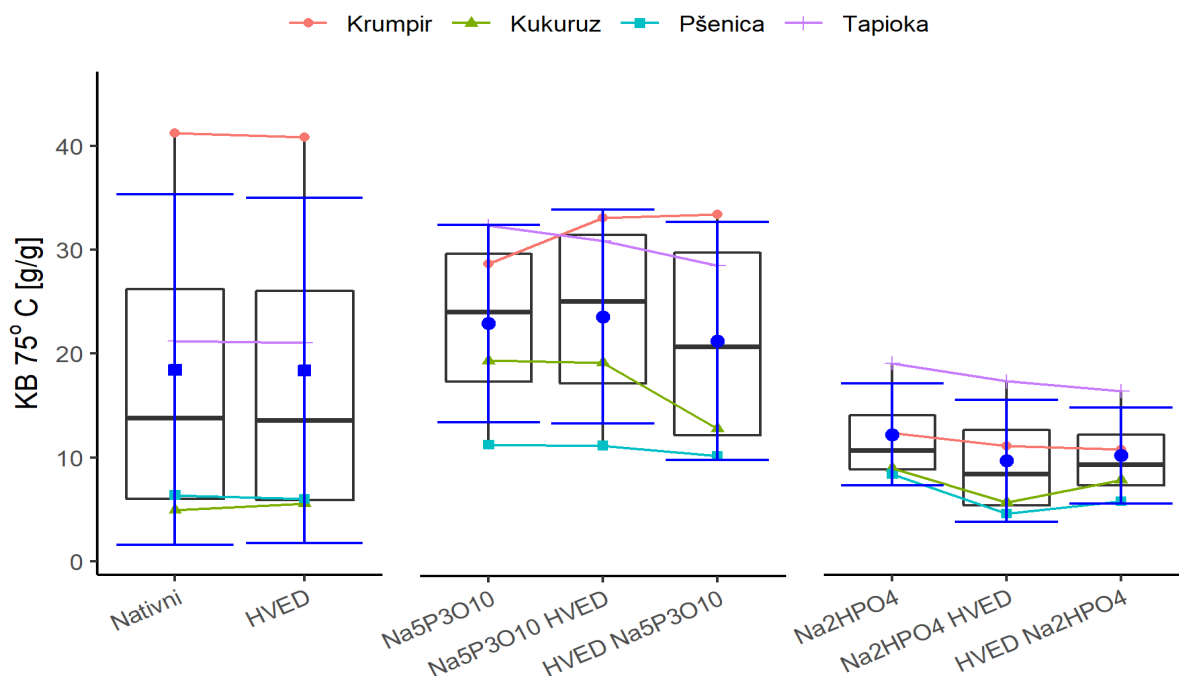


**Slika 28** „Setback“ (SB) nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a

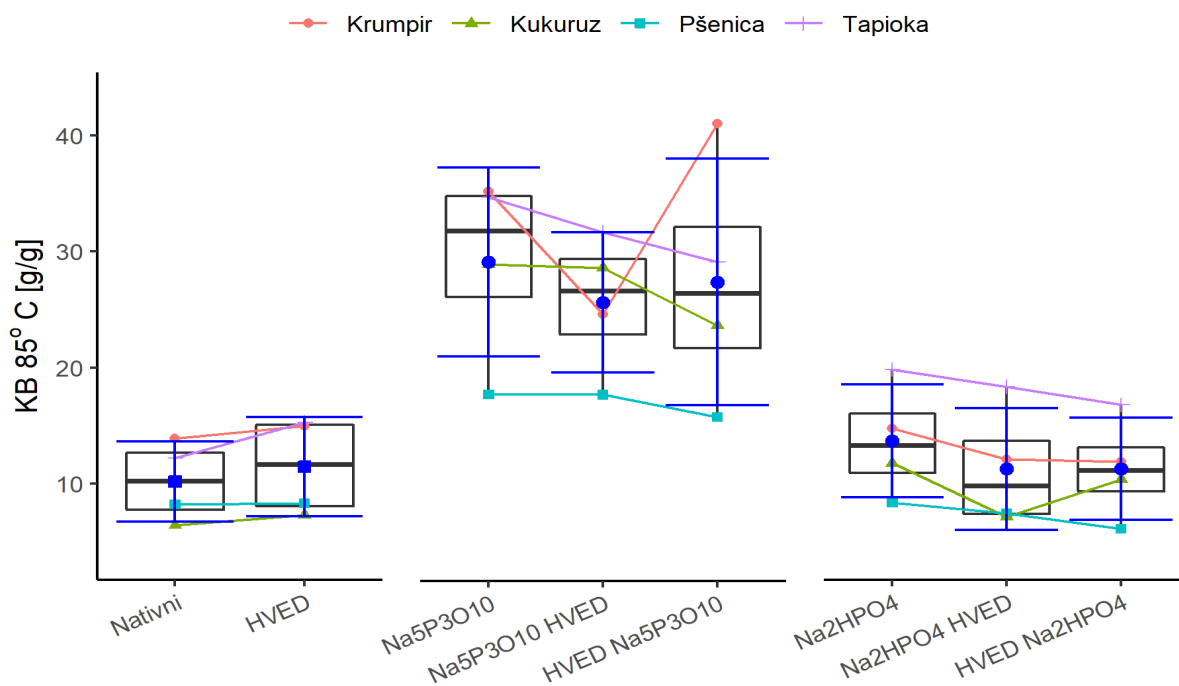
## 4.4. Kapacitet bubrenja (KB) i indeks topljivosti (IT) škrobova



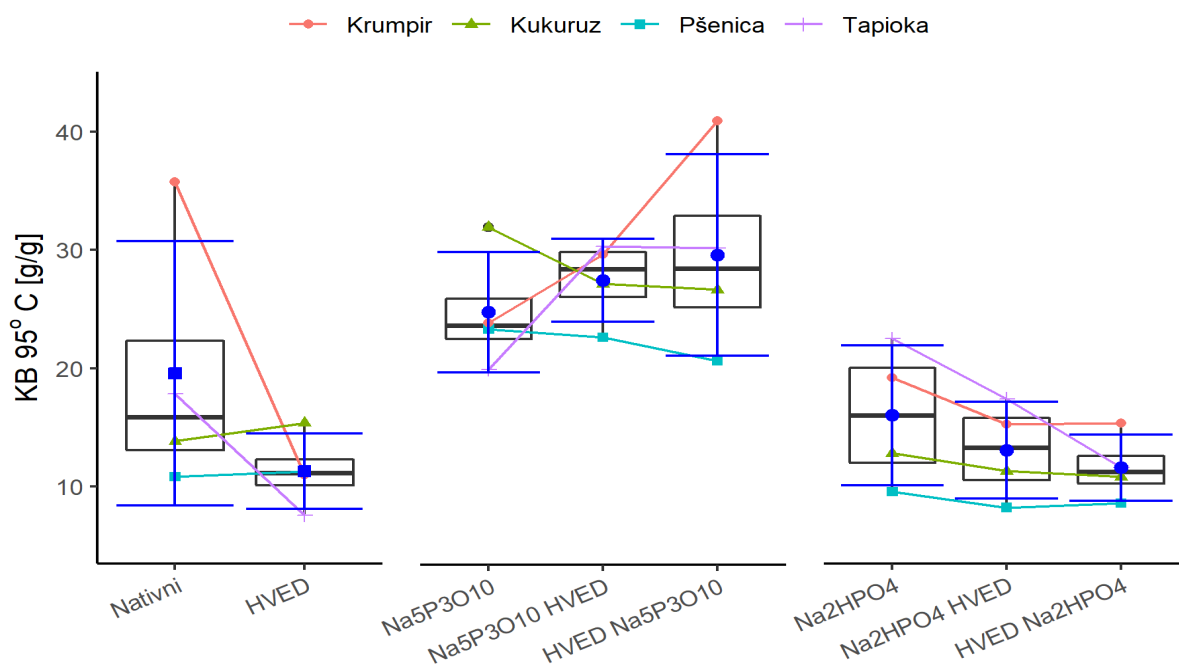
**Slika 29** Kapacitet bubrenja (KB) na 65 °C nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a



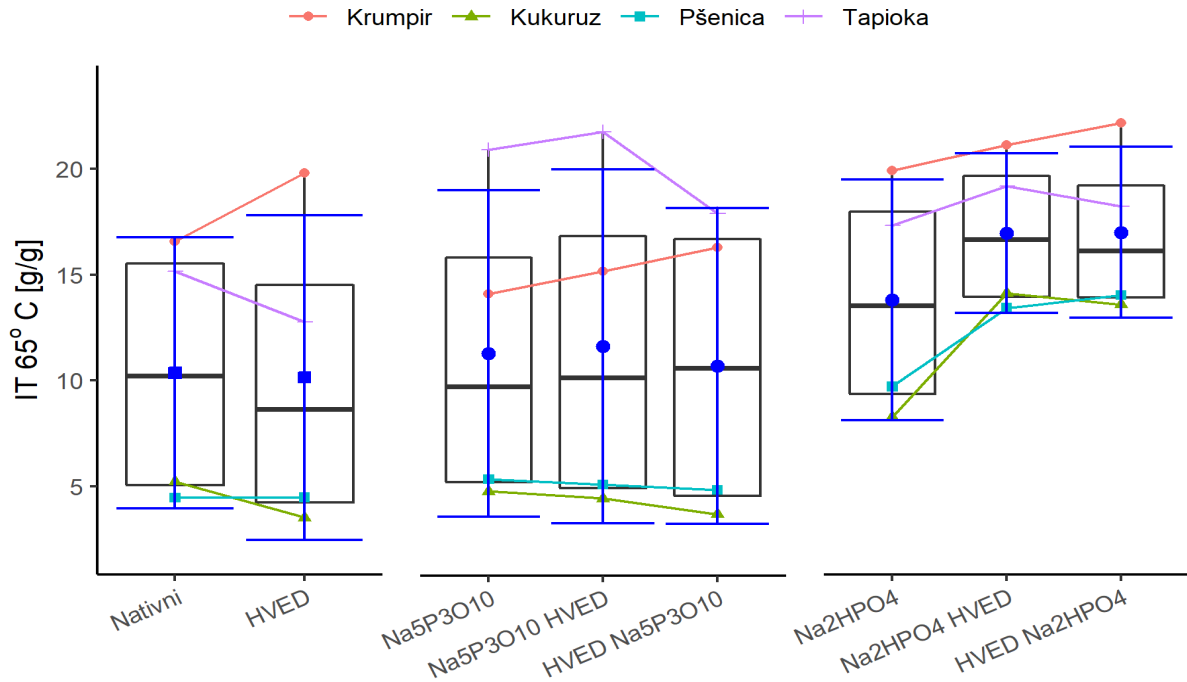
**Slika 30** Kapacitet bubrenja (KB) na 75 °C nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a



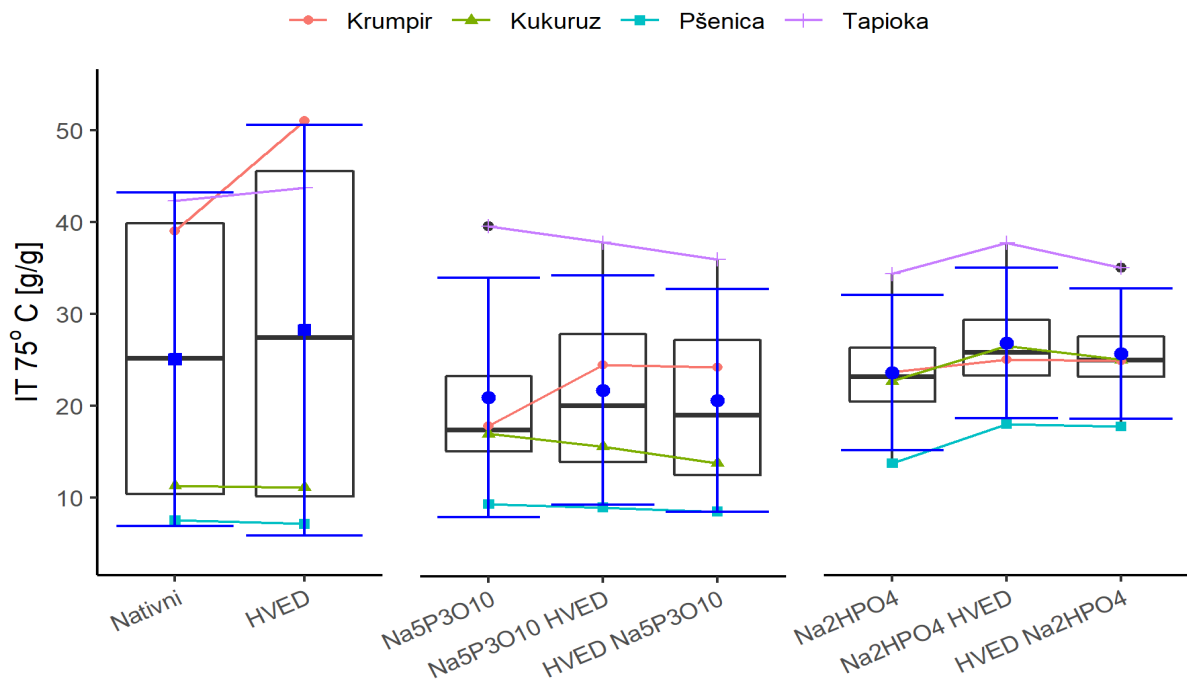
**Slika 31** Kapacitet bubrenja (KB) na 85 °C nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a



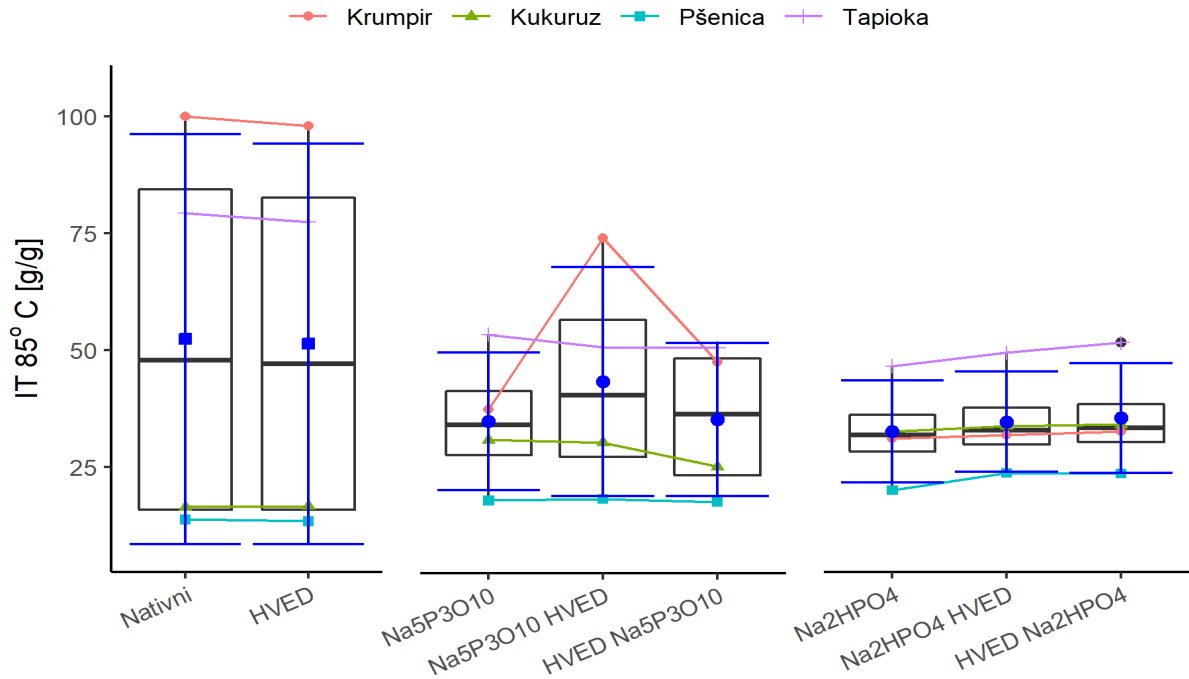
**Slika 32** Kapacitet bubrenja (KB) na 95 °C nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a



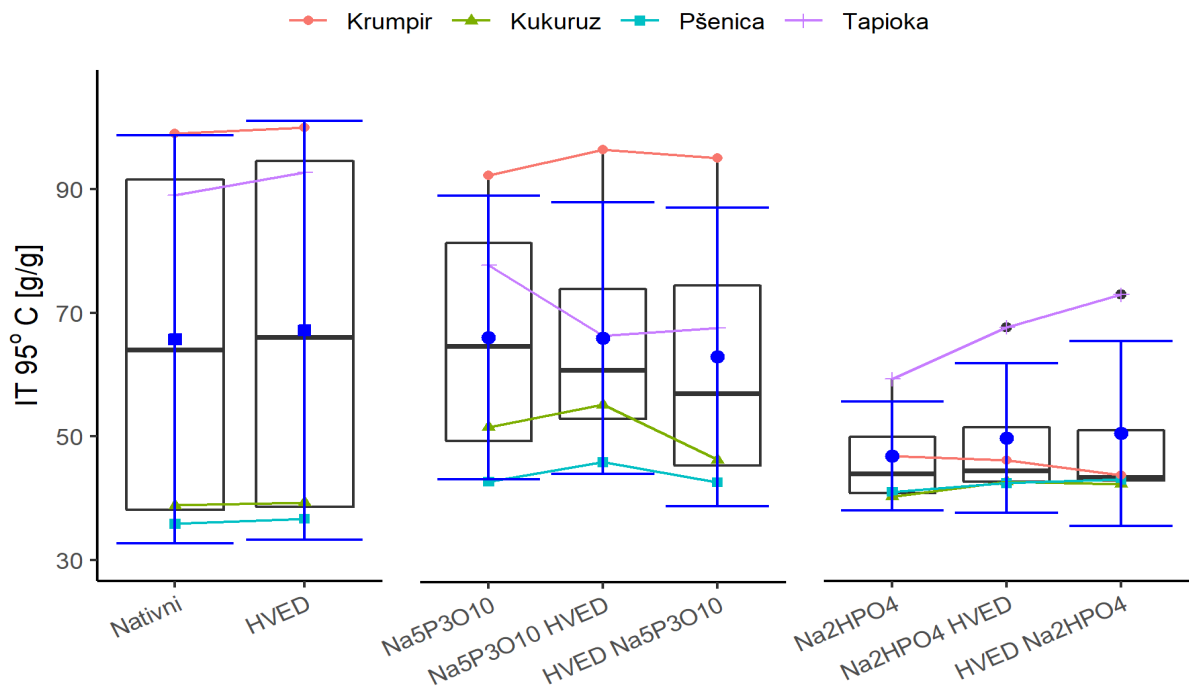
**Slika 33** Indeks topljivosti (IT) na 65 °C nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a



**Slika 34** Indeks topljivosti (IT) na 75 °C nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a

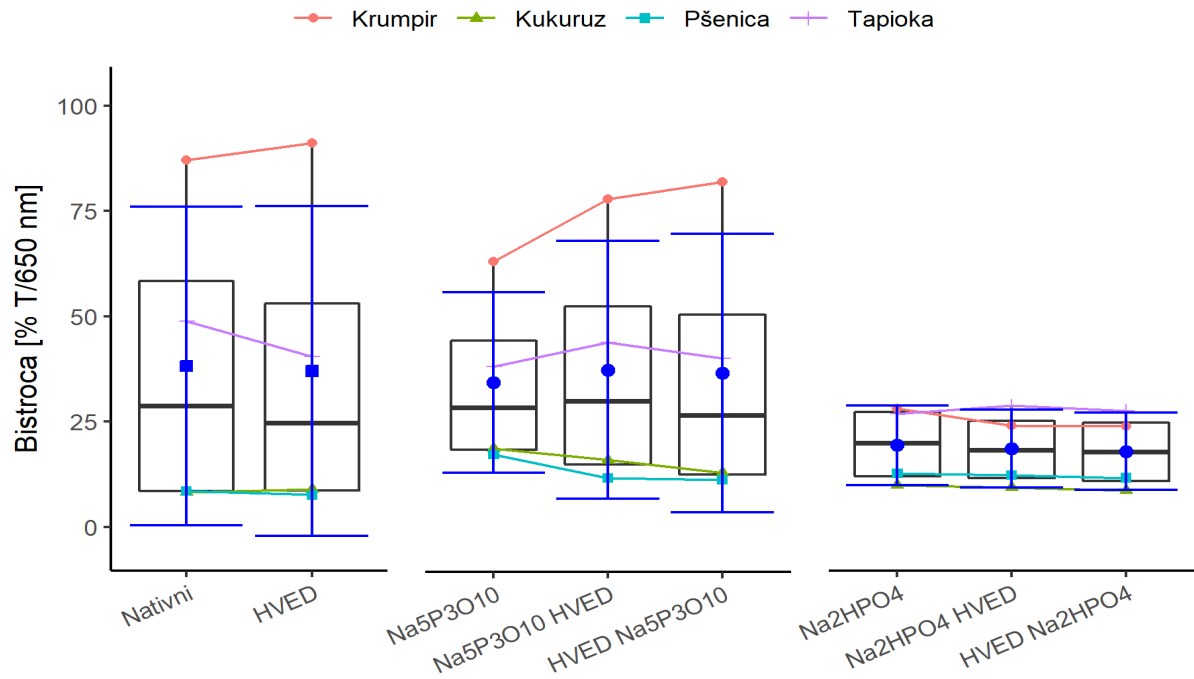


**Slika 35** Indeks topljivosti (IT) na 85 °C nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a



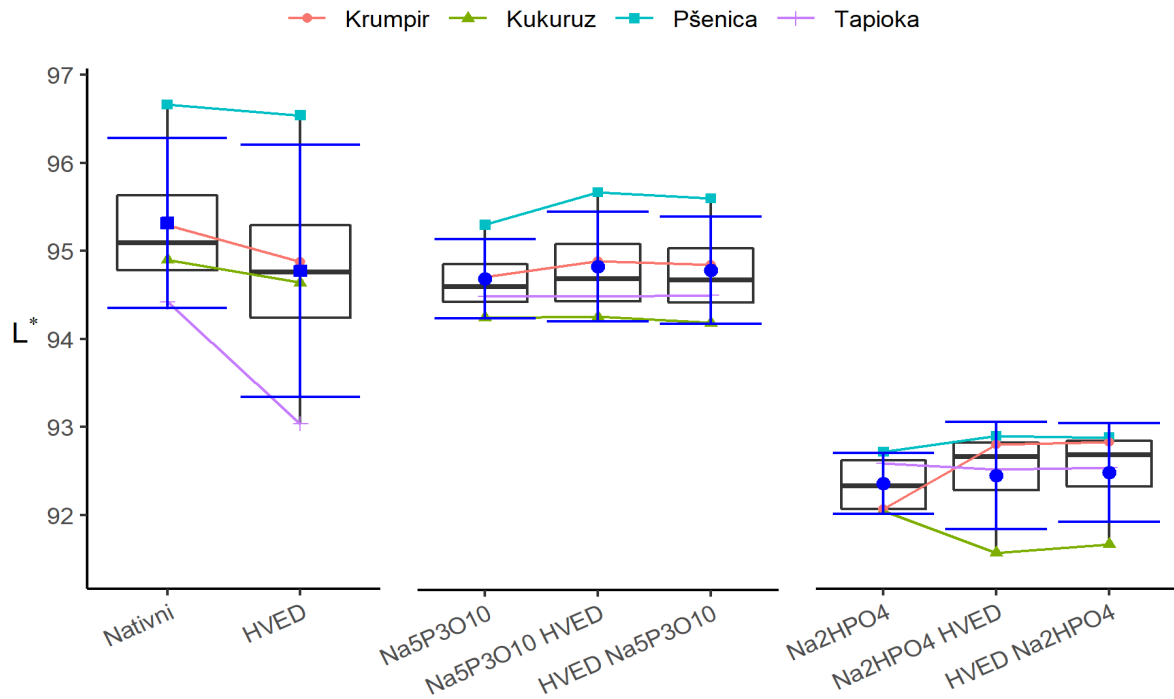
**Slika 36** Indeks topljivosti (IT) na 95 °C nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a

## 4.5. Bistroća škrobnih pasti

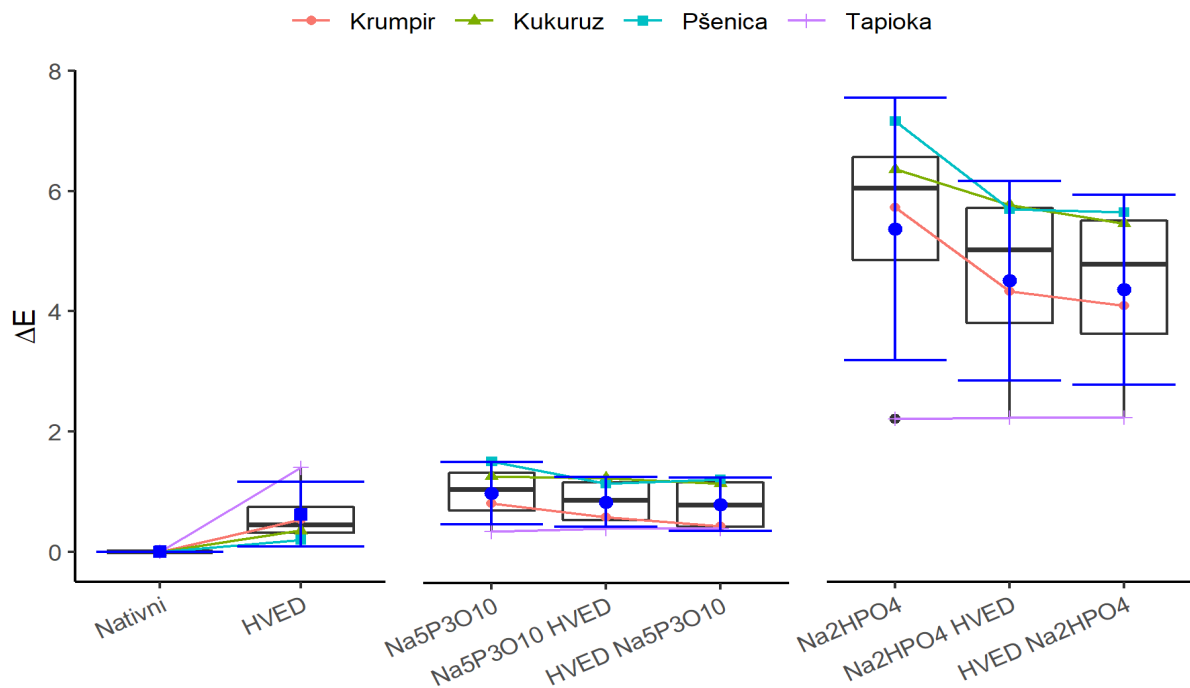


**Slika 37** Bistroća paste nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

## 4.6. Boja škroba određena kromametrom



**Slika 38** L\* parametar boje nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a



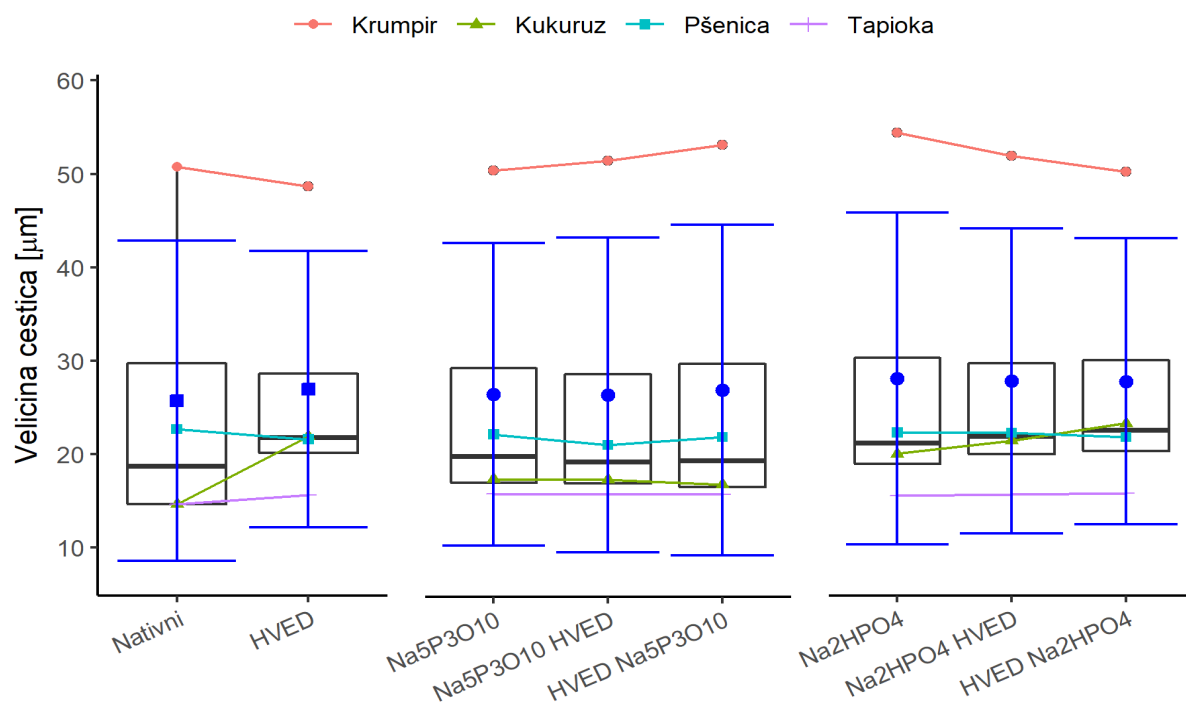
**Slika 39** Ukupna promjena boje ( $\Delta E$ ) škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a u odnosu na nativne škrobove



**Tablica 2** Parametri boje nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a

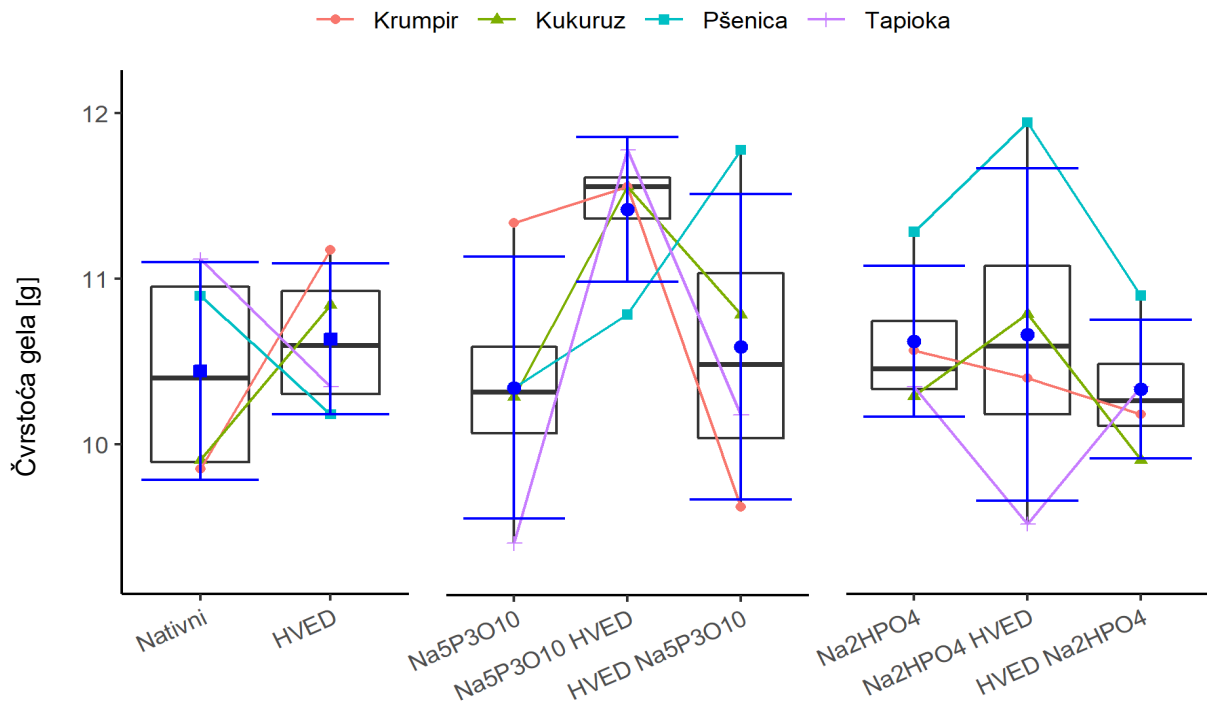
KRUMPIR	L*	a*	b*	C*	h°	ΔE <sub>i</sub>
Nativni	95,29±0,01	-0,89±0,02	2,46±0,01	2,61±0,01	109,93±0,45	
HVED	94,88±0,04	-0,83±0,03	2,12±0,01	2,27±0,02	111,33±0,70	0,53
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	92,07±0,01	-0,39±0,06	7,17±0,01	7,18±0,01	93,08±0,47	5,73
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> +HVED	92,80±0,01	-0,61±0,02	5,98±0,01	6,02±0,01	95,79±0,17	4,33
HVED+Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	92,83±0,00	-0,62±0,01	6,04±0,01	6,04±0,01	95,86±0,08	4,36
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	94,71±0,02	-0,83±0,02	3,04±0,01	3,15±0,01	105,25±0,25	0,82
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> +HVED	94,89±0,03	-0,89±0,01	2,89±0,01	3,03±0,01	107,12±0,18	0,59
HVED+Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	94,85±0,01	-0,83±0,02	2,49±0,01	2,63±0,01	108,51±0,43	0,44
<b>KUKURUZ</b>						
Nativni	94,90±0,04	-1,50±0,01	3,27±0,01	3,59±0,01	114,58±0,16	
HVED	94,64±0,05	-1,41±0,02	3,49±0,00	3,76±0,01	111,98±0,32	0,35
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	92,05±0,01	-1,45±0,02	8,95±0,01	9,07±0,02	99,22±0,12	6,36
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> +HVED	91,57±0,01	0,24±0,03	7,65±0,01	7,66±0,01	88,25±0,23	5,77
HVED+Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	91,67±0,01	0,14±0,02	7,36±0,01	7,36±0,01	88,89±0,17	5,46
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	94,25±0,01	-1,11±0,03	4,29±0,01	4,43±0,01	104,53±0,41	1,27
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> +HVED	94,26±0,01	-1,13±0,02	4,27±0,01	4,41±0,01	104,79±0,18	1,24
HVED+Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	94,19±0,01	-1,16±0,03	4,10±0,01	4,26±0,02	105,79±0,34	1,15
<b>PŠENICA</b>						
Nativni	96,66±0,01	-0,90±0,03	2,22±0,01	2,54±0,01	112,26±0,67	
HVED	96,54±0,01	-0,90±0,03	2,37±0,02	2,39±0,02	97,9±0,16	0,20
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	92,72±0,01	-1,16±0,03	8,35±0,01	8,43±0,01	110,73±0,64	7,17
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> +HVED	92,90±0,00	0,41±0,02	6,45±0,01	6,46±0,02	86,40±0,19	5,70
HVED+Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	92,88±0,01	0,37±0,02	6,36±0,01	6,37±0,01	86,66±0,16	5,65
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	95,30±0,01	-0,69±0,04	3,00±0,01	3,08±0,02	102,94±0,66	1,51
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> +HVED	95,67±0,01	-0,72±0,01	2,92±0,01	3,02±0,01	104,82±0,48	1,14
HVED+Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	95,60±0,01	-0,78±0,03	2,95±0,0	3,04±0,0	103,82±0,20	1,22
<b>TAPIOKA</b>						
Nativni	94,42±0,02	-0,45±0,02	4,36±0,01	4,38±0,01	95,89±0,21	
HVED	93,04±0,02	-0,37±0,02	4,17±0,01	4,19±0,01	95,06±0,25	1,40
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	92,59±0,03	0,01±0,04	5,51±0,03	5,51±0,03	89,92±0,40	2,21
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> +HVED	95,52±0,05	0,07±0,04	5,41±0,01	5,41±0,01	89,30±0,46	2,23
HVED+Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	92,54±0,01	0,01±0,02	5,46±0,01	5,46±0,01	89,88±0,15	2,23
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	94,49±0,01	-0,50±0,02	4,02±0,01	4,05±0,01	97,02±0,26	0,35
Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> +HVED	94,49±0,02	-0,50±0,01	3,97±0,01	4,00±0,01	97,19±0,14	0,40
HVED+Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	94,50±0,05	-0,50±0,02	3,97±0,01	4,01±0,02	97,18±0,34	0,39

## 4.7. Veličina čestica škroba

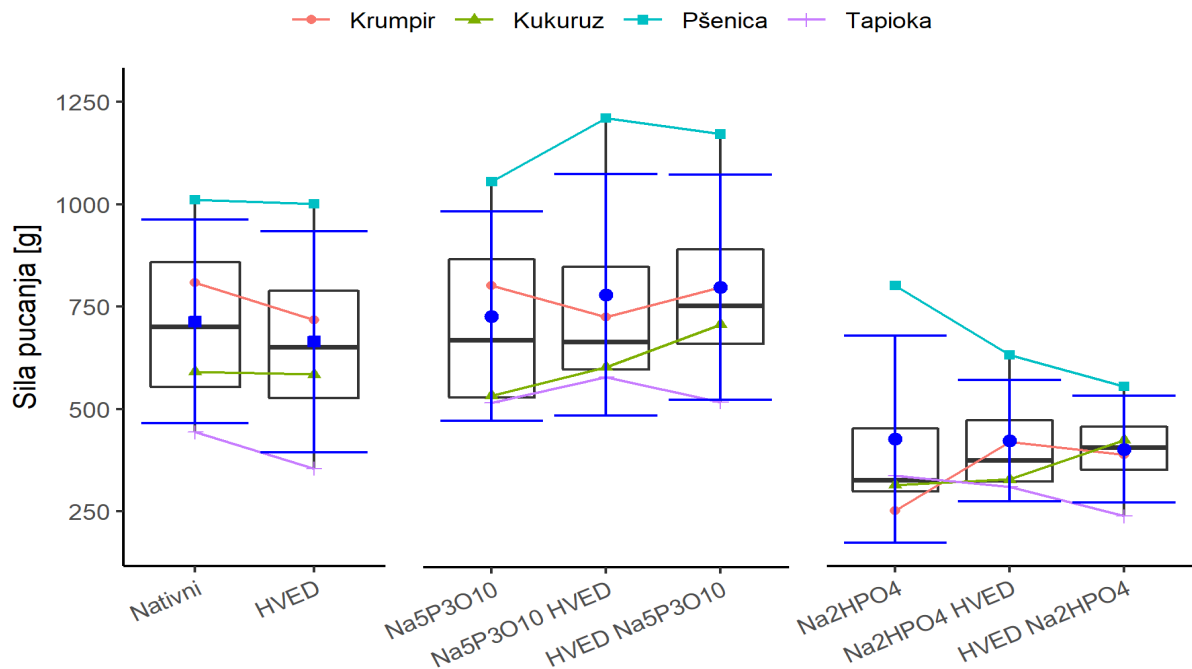


**Slika 40** Prosječna veličina čestica nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

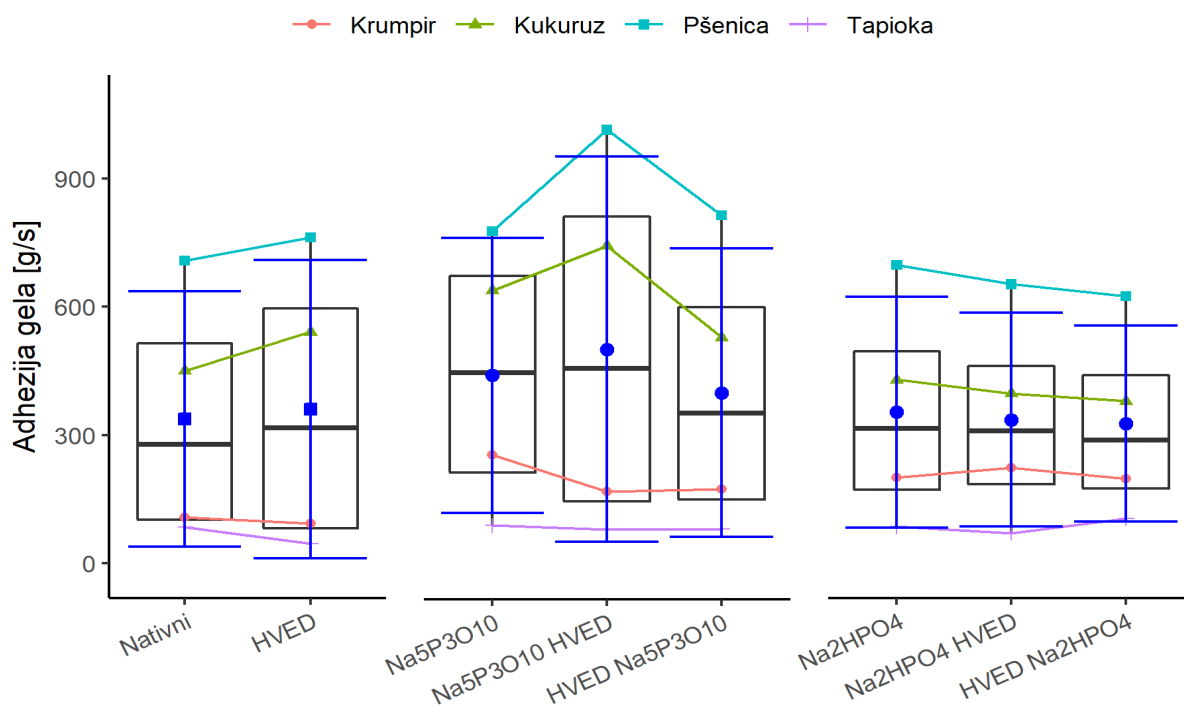
## 4.8. Tekstura škrobnih gela



**Slika 41** Čvrstoća gela nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a

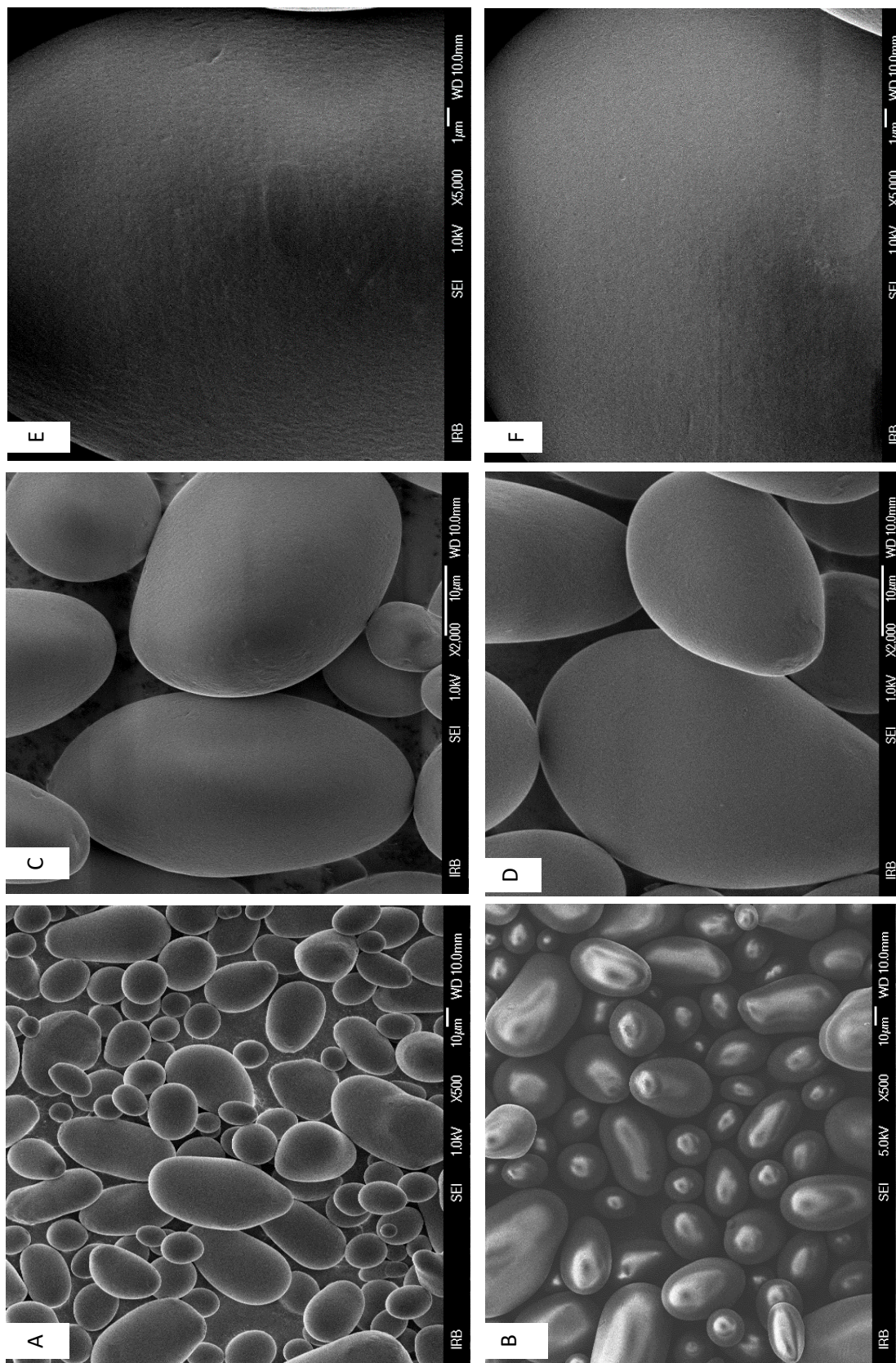


**Slika 42** Sila pucanja nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a



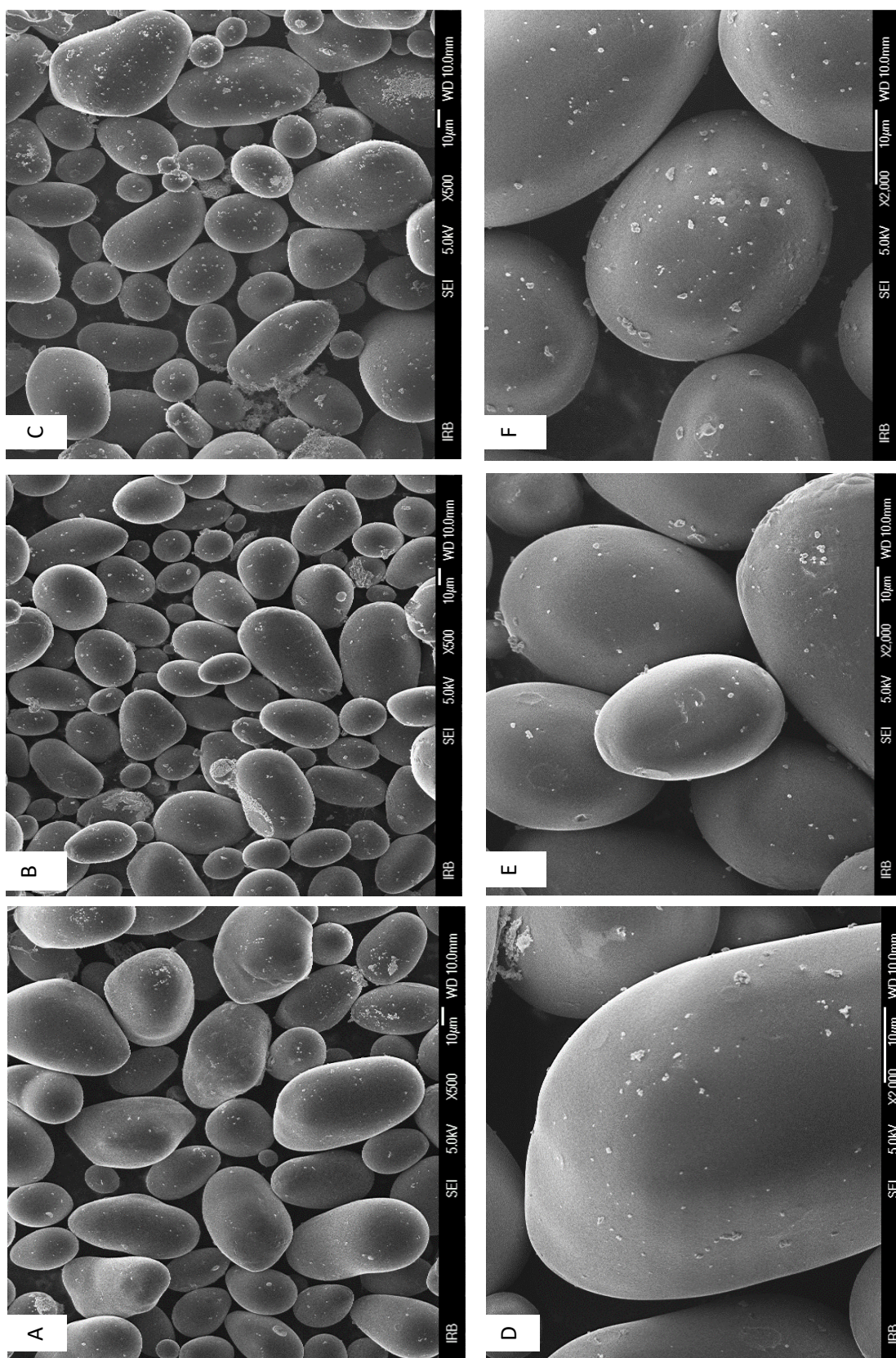
**Slika 43** Adhezija gela nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

#### 4.9. Morfologija granula škroba određena skenirajućim elektronskim mikroskopom

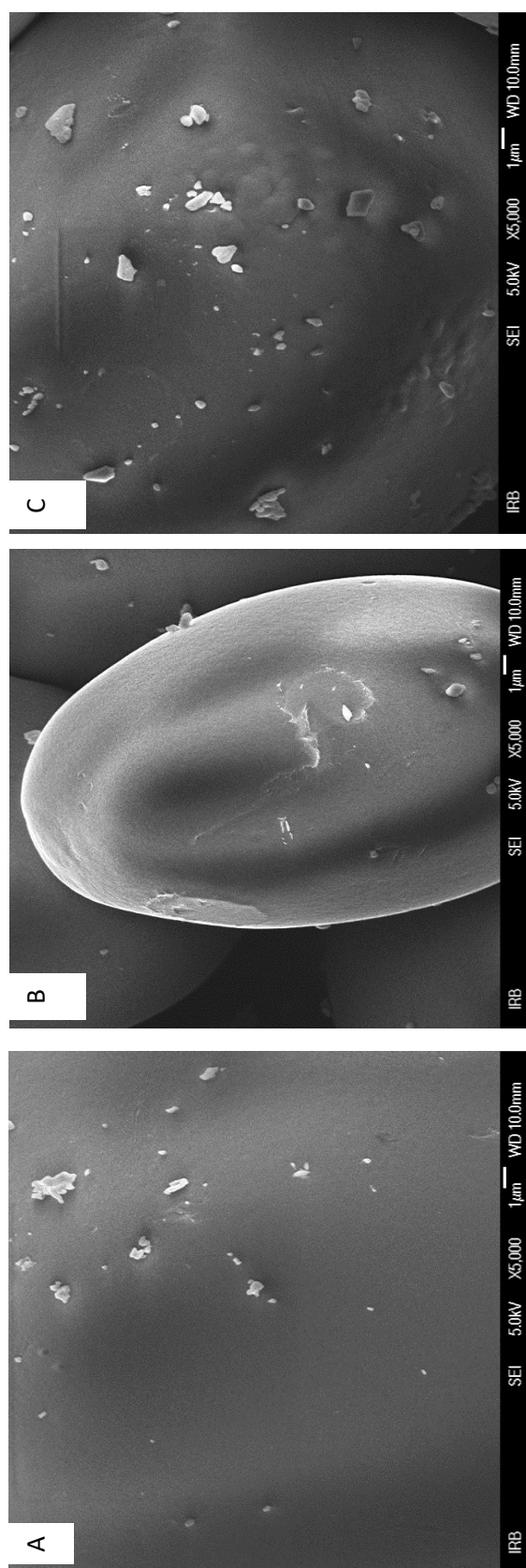


**Slika 44** Skenirajući elektronski mikrograf krumpirovog škroba: uvećanje 500x, 2000x i 5000x. A) nativni škrob (500x); B) škrob modificiran HVED-om (500x); C) nativni škrob (2000x); D) škrob modificiran HVED-om (2000x); E) nativni škrob (5000x); F) škrob modificiran HVED-om (5000x)



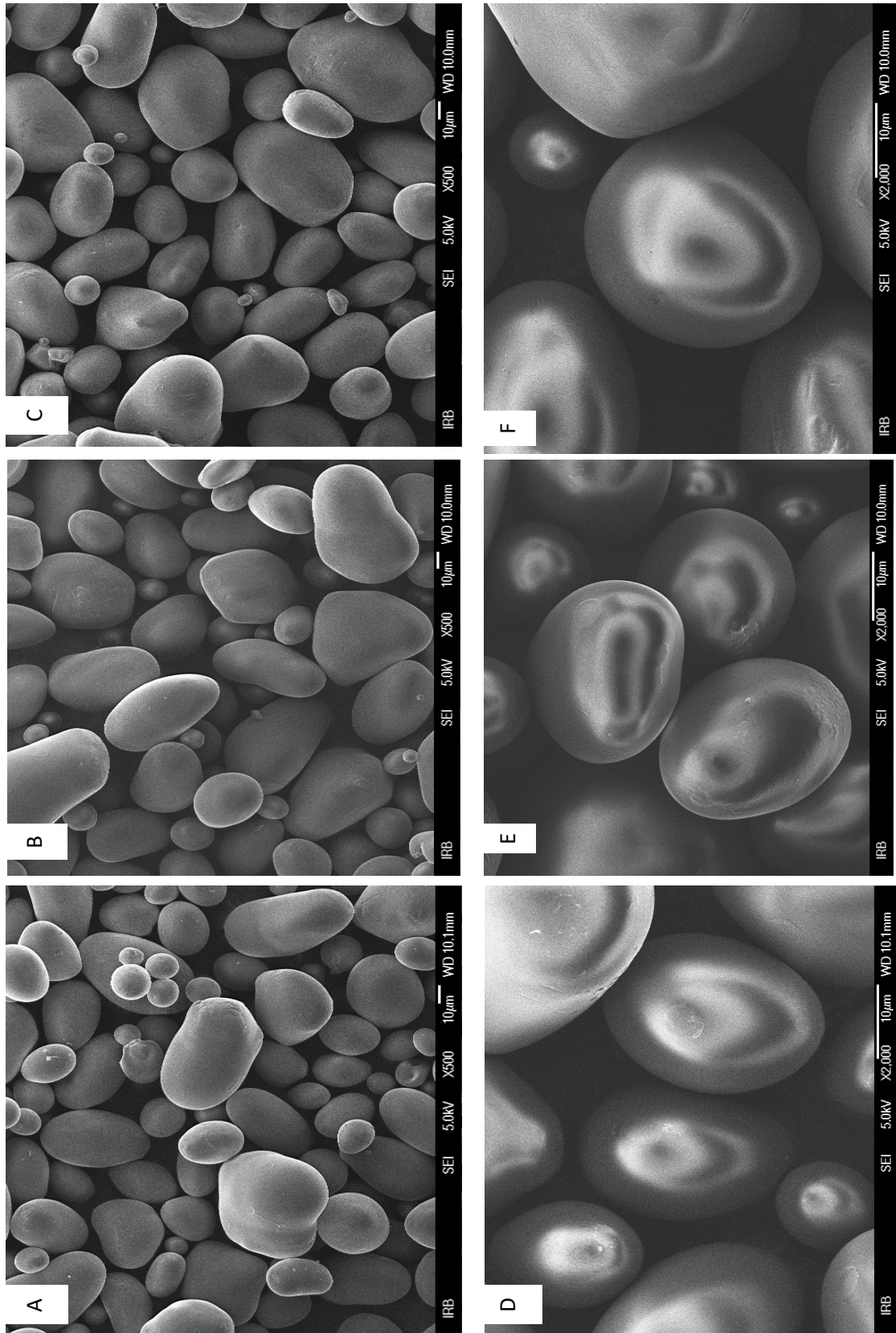


**Slika 45** Skenirajući elektronski mikrograf krumpirovog škroba: uvećanje 500x i 2000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (500x); B) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{HVED}$  (500x); C) škrob modificiran  $\text{HVED} + \text{Na}_2\text{HPO}_4$  (500x); D) škrob modificiran  $\text{HVED} + \text{Na}_2\text{HPO}_4$  (2000x); E) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{HVED}$  (2000x); F) škrob modificiran  $\text{HVED} + \text{Na}_2\text{HPO}_4$  (2000x)



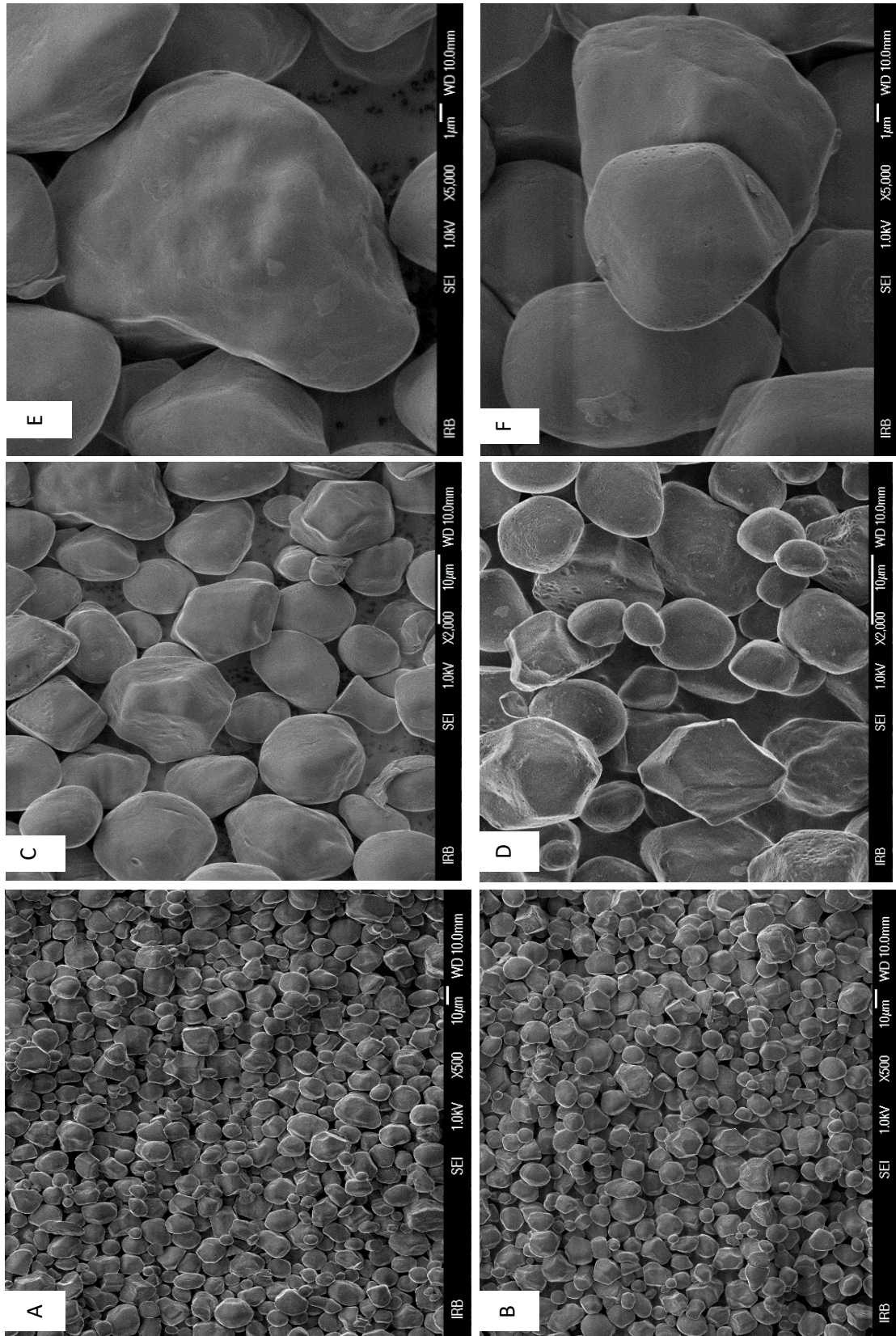
**Slika 46** Skenirajući elektronski mikrograf krumpirovog škroba: uvećanje 5000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; B) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED; C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$





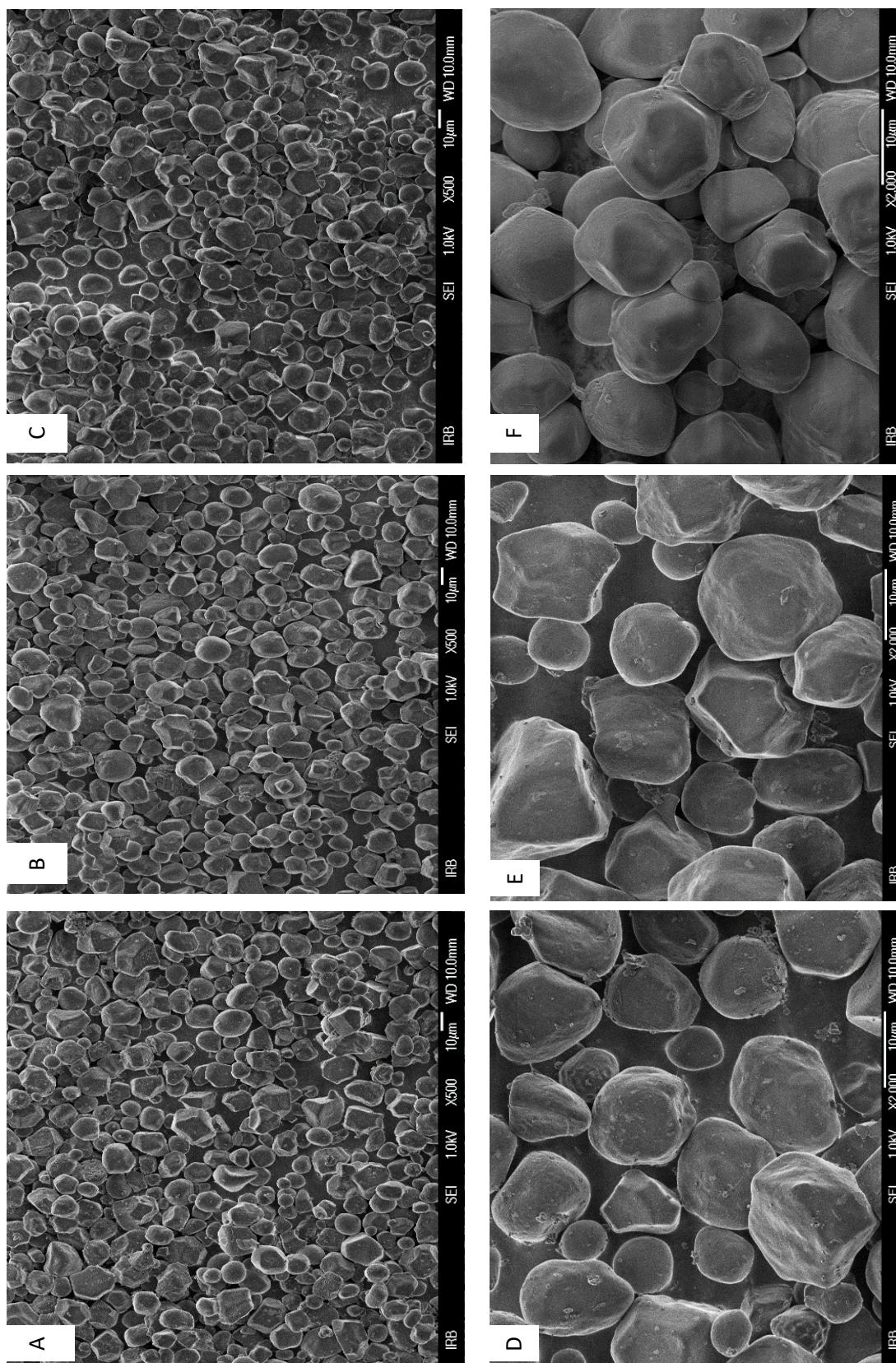
**Slika 47** Skenirajući elektronski mikroskop krumpirovog škroba: uvećanje 500x i 2000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (500x); B) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  + HVED (500x); C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (500x); D) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (2000x); E) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  + HVED (2000x); F) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (2000x)





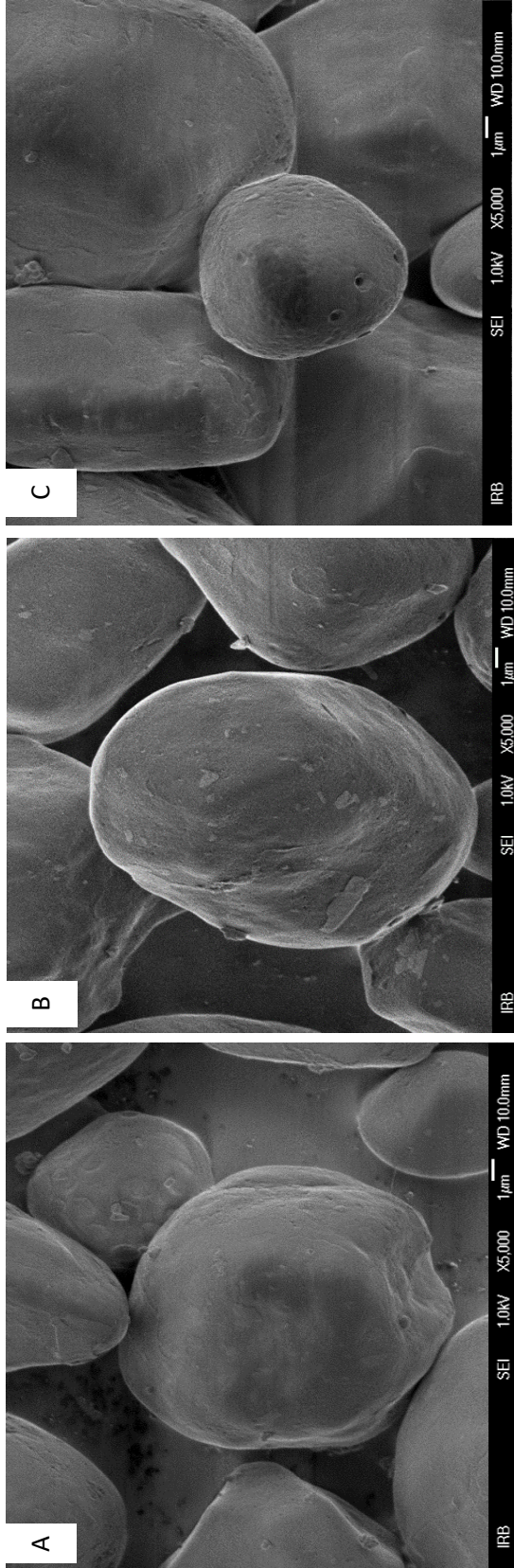
**Slika 48** Skenirajući elektronski mikrograf kukuruznog škroba: uvećanje 500x, 2000x i 5000x. A) nativni škrob (500x); B) škrob modificiran HVED-om (500x); C) nativni škrob (2000x); D) škrob modificiran HVED-om (2000x); E) nativni škrob (5000x); F) škrob tmodificiran HVED-om (5000x)



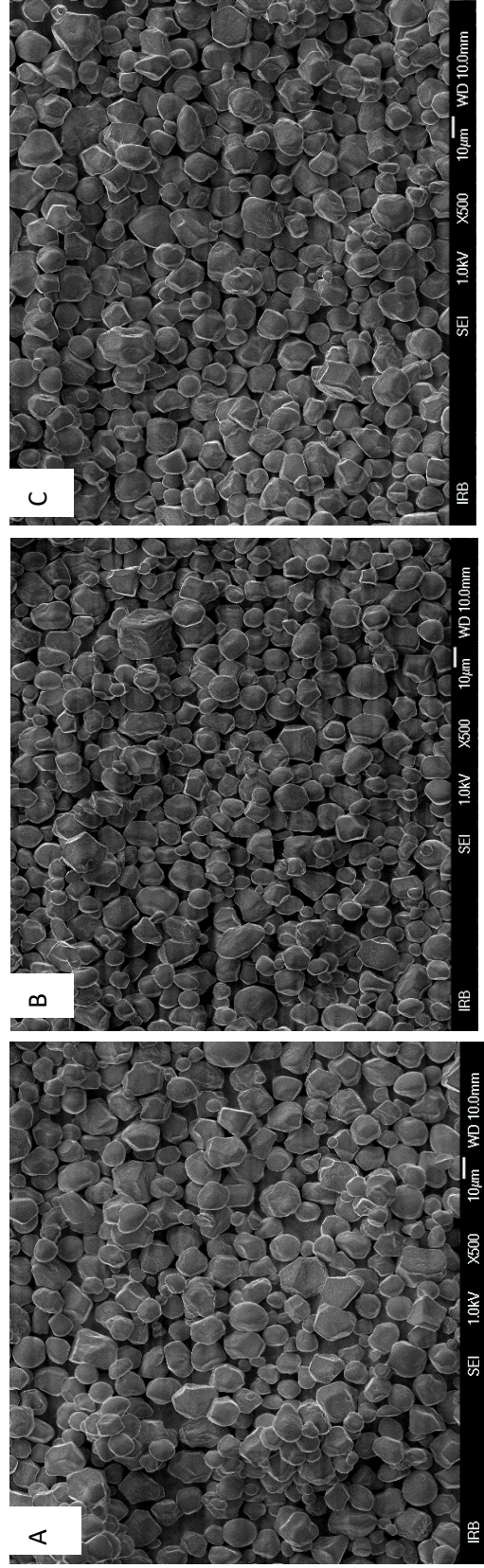


**Slika 49** Skenirajući elektronski mikrograf kukuruznog škroba: uvećanje 500x i 2000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (500x); B) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4+\text{HVED}$  (500x); C) škrob modificiran  $\text{HVED}+\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (500x); D) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (2000x); E) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4+\text{HVED}$  (2000x); F) škrob modificiran  $\text{HVED}+\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (2000x)



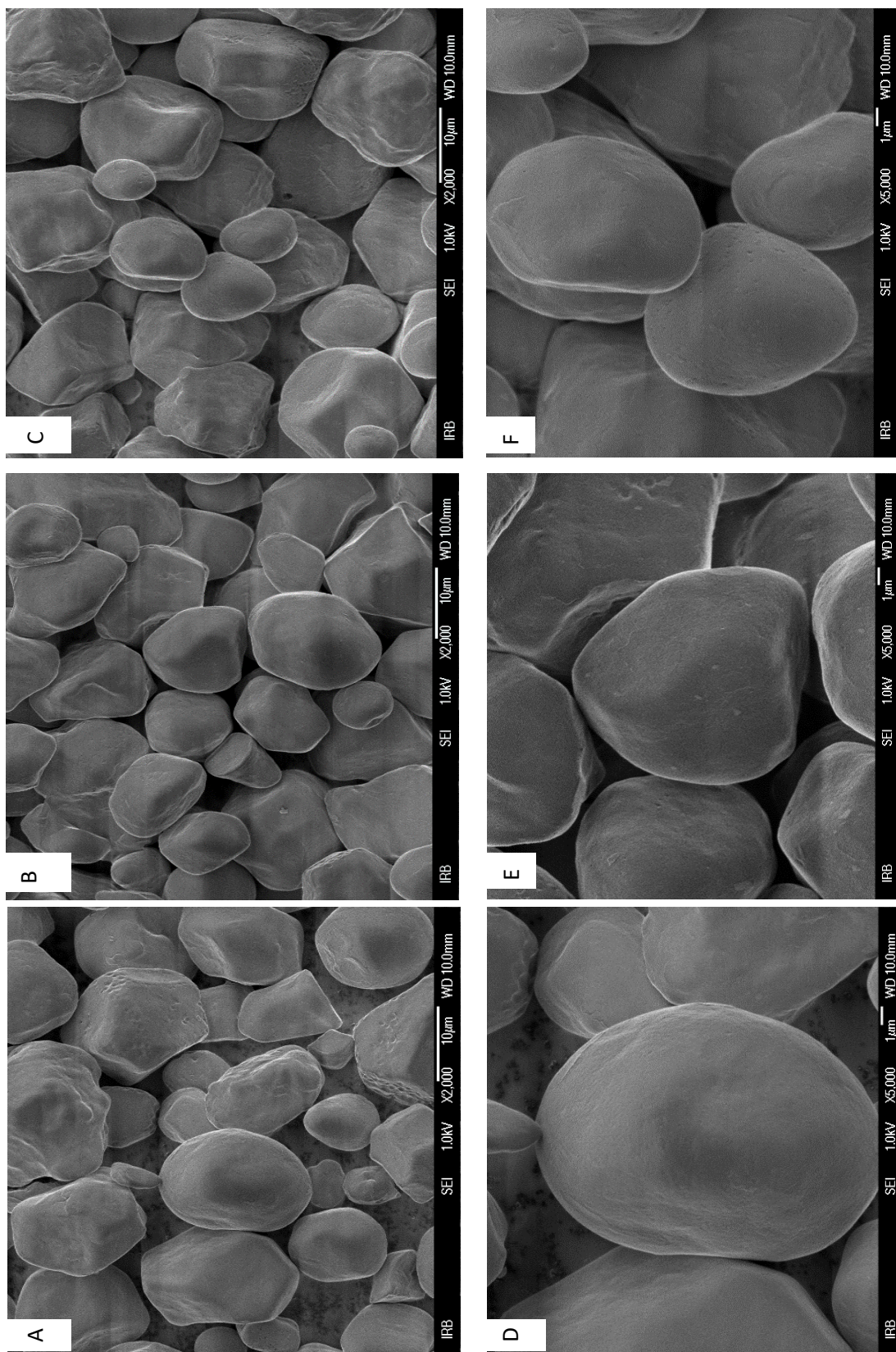


**Slika 50** Skenirajući elektronski mikrograf kukuruznog škroba: uvećanje 5000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; B) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED; C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$



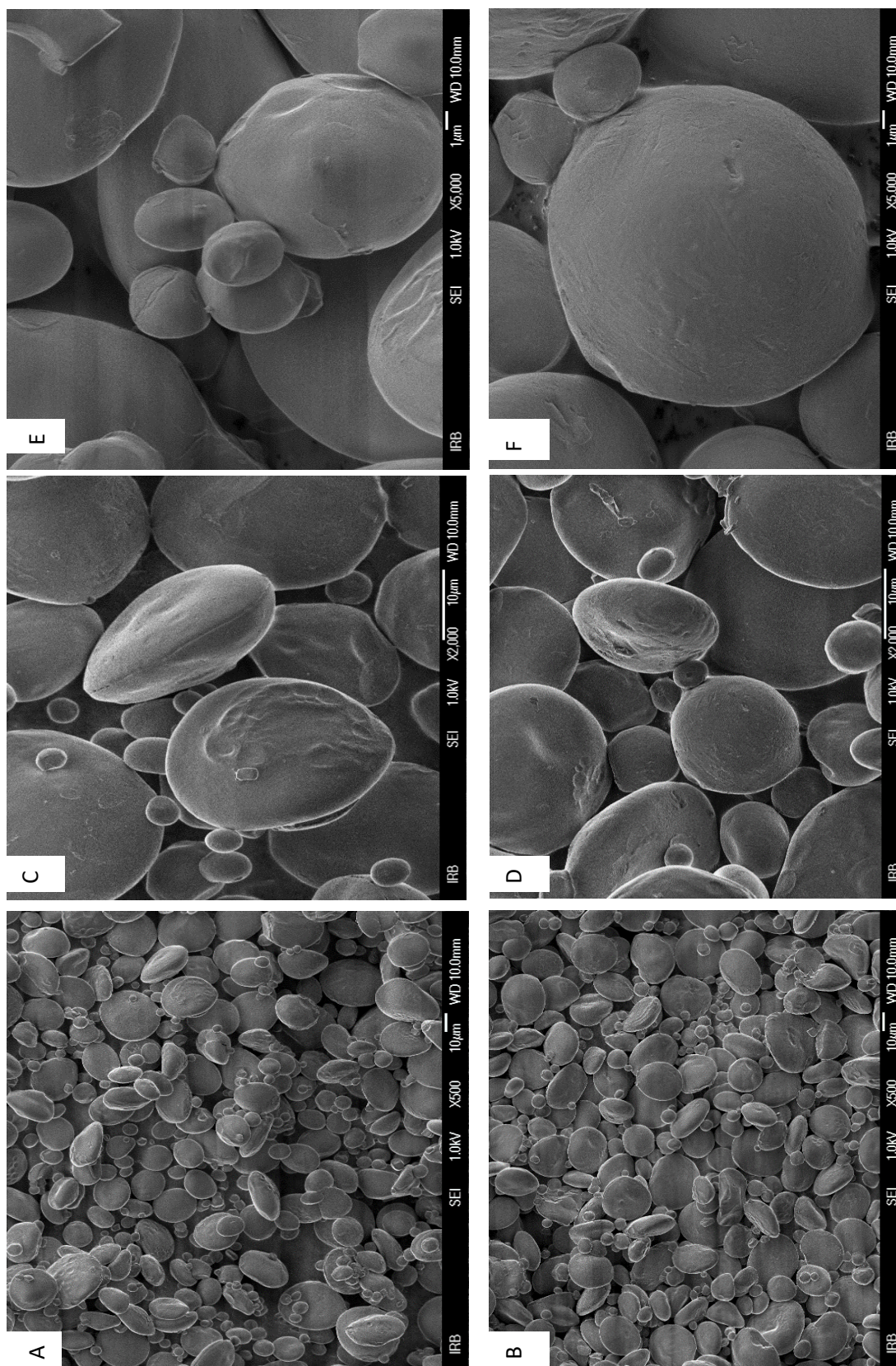
**Slika 51** Skenirajući elektronski mikrograf kukuruznog škroba: uvećanje 500x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ; B) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$





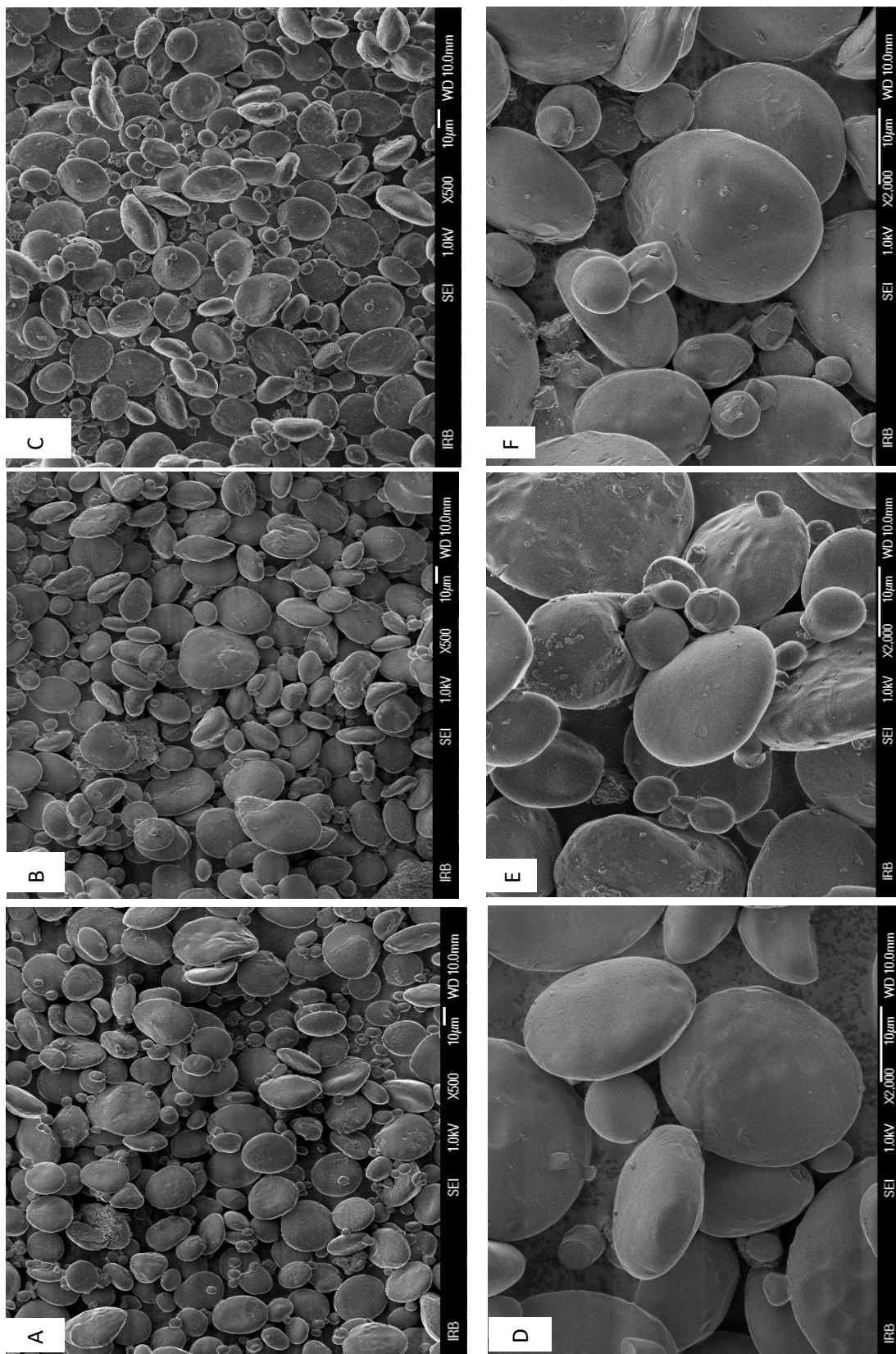
**Slika 52** Skenirajući elektronski mikroskop kukuruznog škroba: uvećanje 2000x i 5000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (2000x); B) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED (2000x); C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (2000x); D) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (5000x); E) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED (5000x); F) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (5000x)





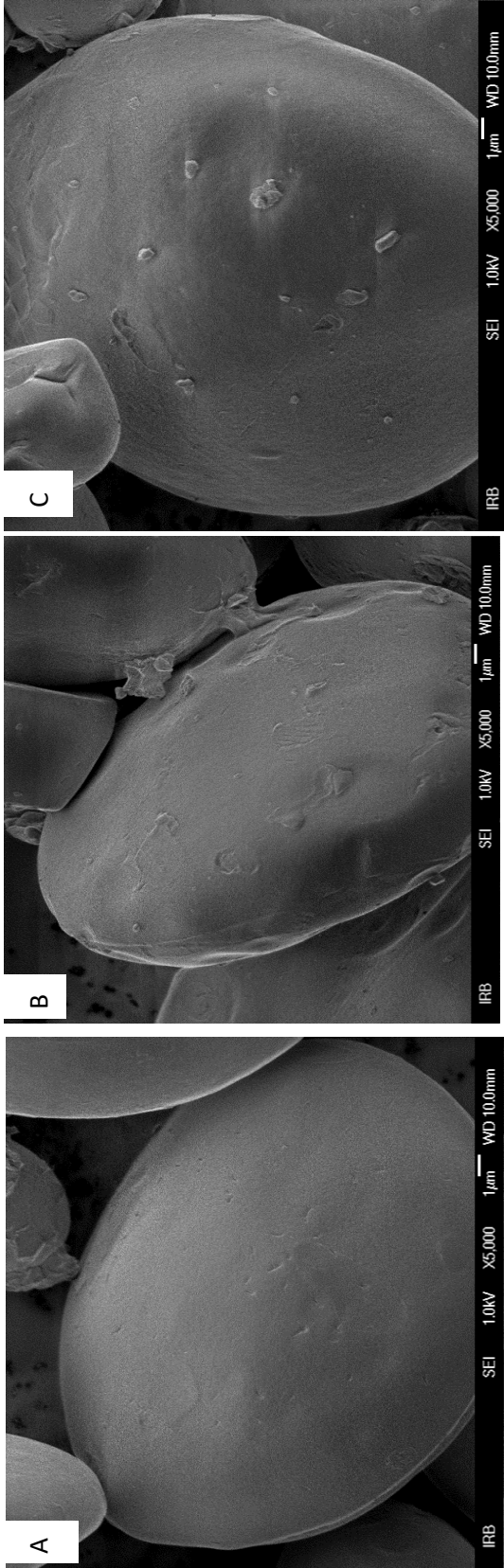
**Slika 53** Skenirajući elektronski mikroskopski mikrograf pšeničnog škroba: uvećanje 500x, 2000x i 5000x; A) nativni škrob (500x); B) škrob modificiran HVED-om (500x); C) nativni škrob (2000x); D) škrob modificiran HVED-om (2000x); E) nativni škrob (5000x); F) škrob modificiran HVED-om (5000x)



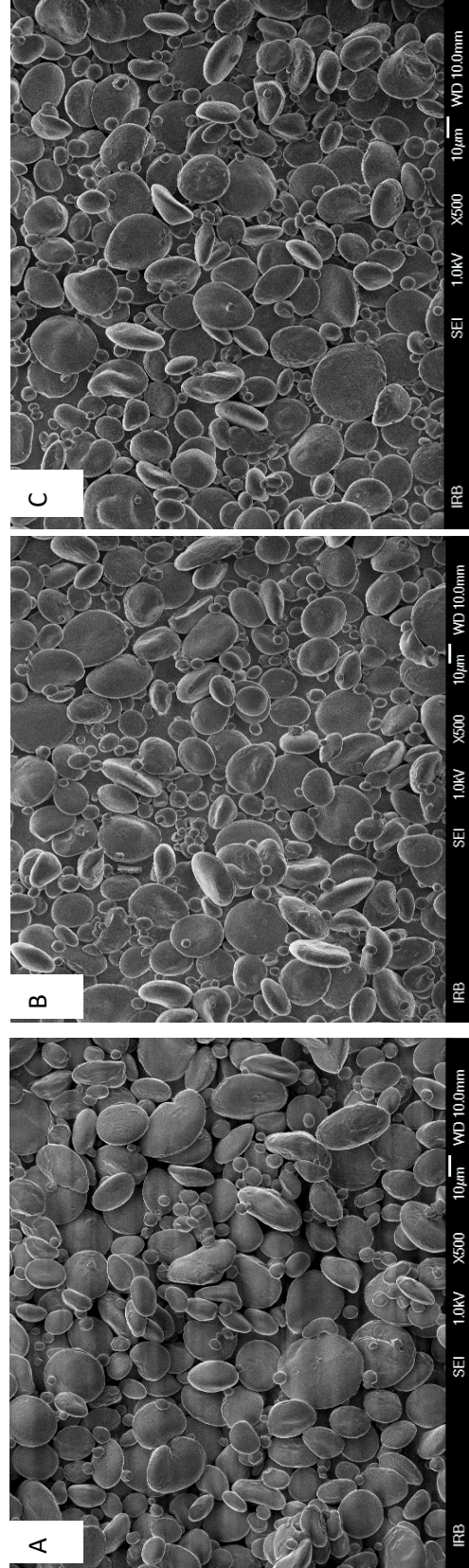


**Slika 54** Skenirajući elektronski mikroskop pšeničnog škroba: uvećanje 500x i 2000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (500x); B) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED (500x); C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (500x); D) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (2000x); E) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED (2000x); F) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (2000x)



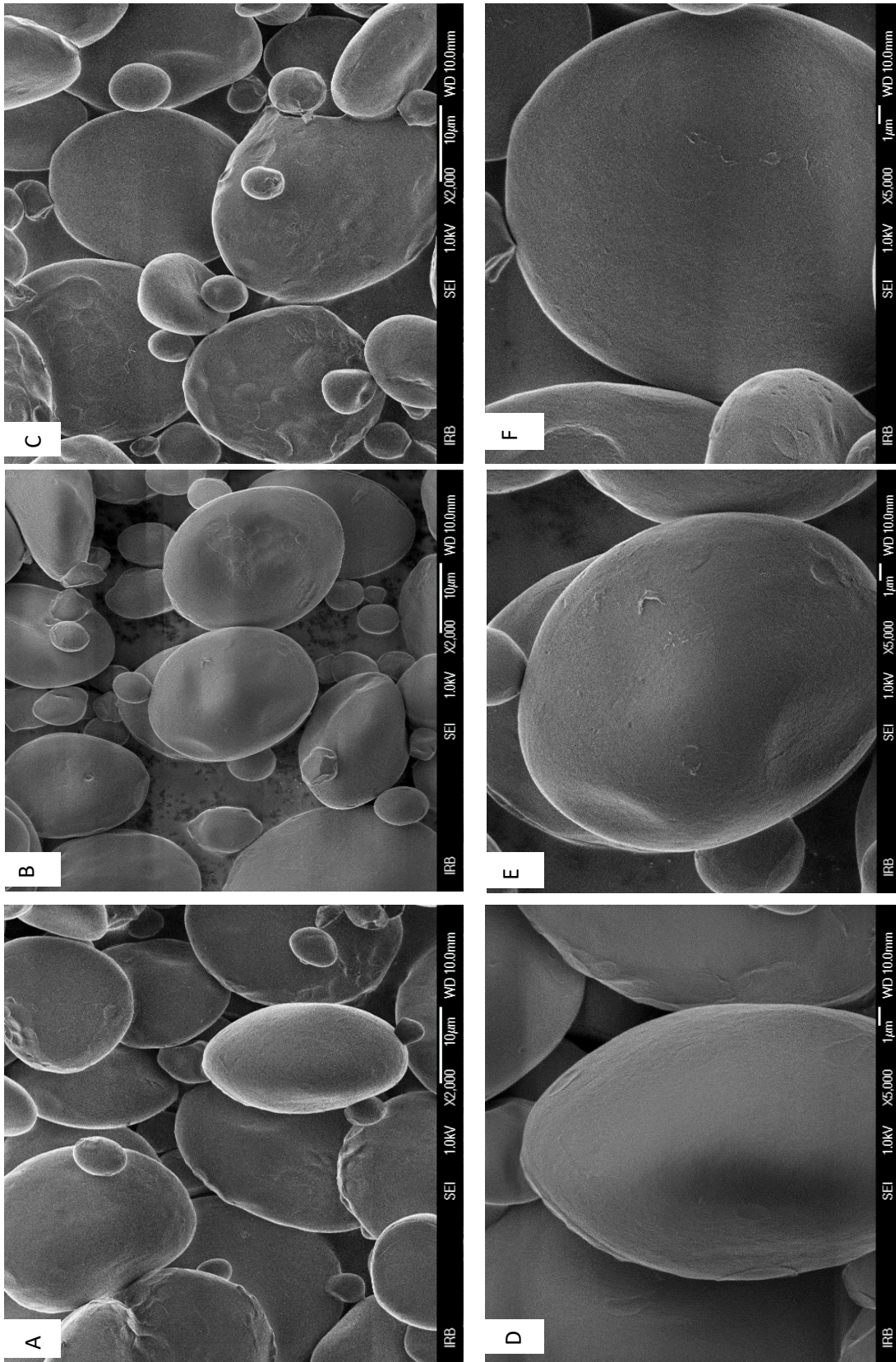


**Slika 55** Skenirajući elektronski mikroskop pšeničnog škroba: uvećanje 5000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; B) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED; C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$



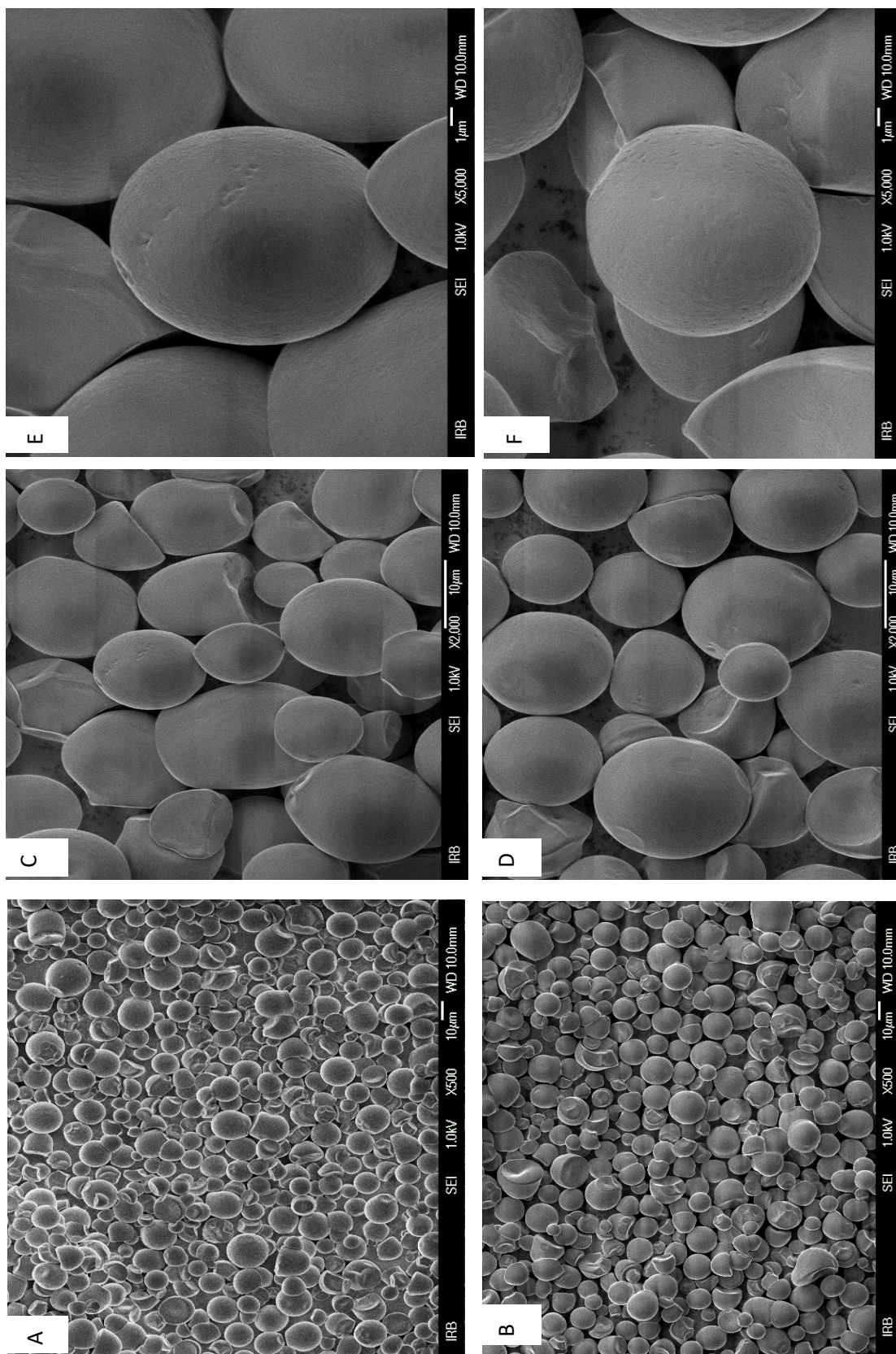
**Slika 56** Skenirajući elektronski mikroskop pšeničnog škroba: uvećanje 500x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ; B) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED; C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$





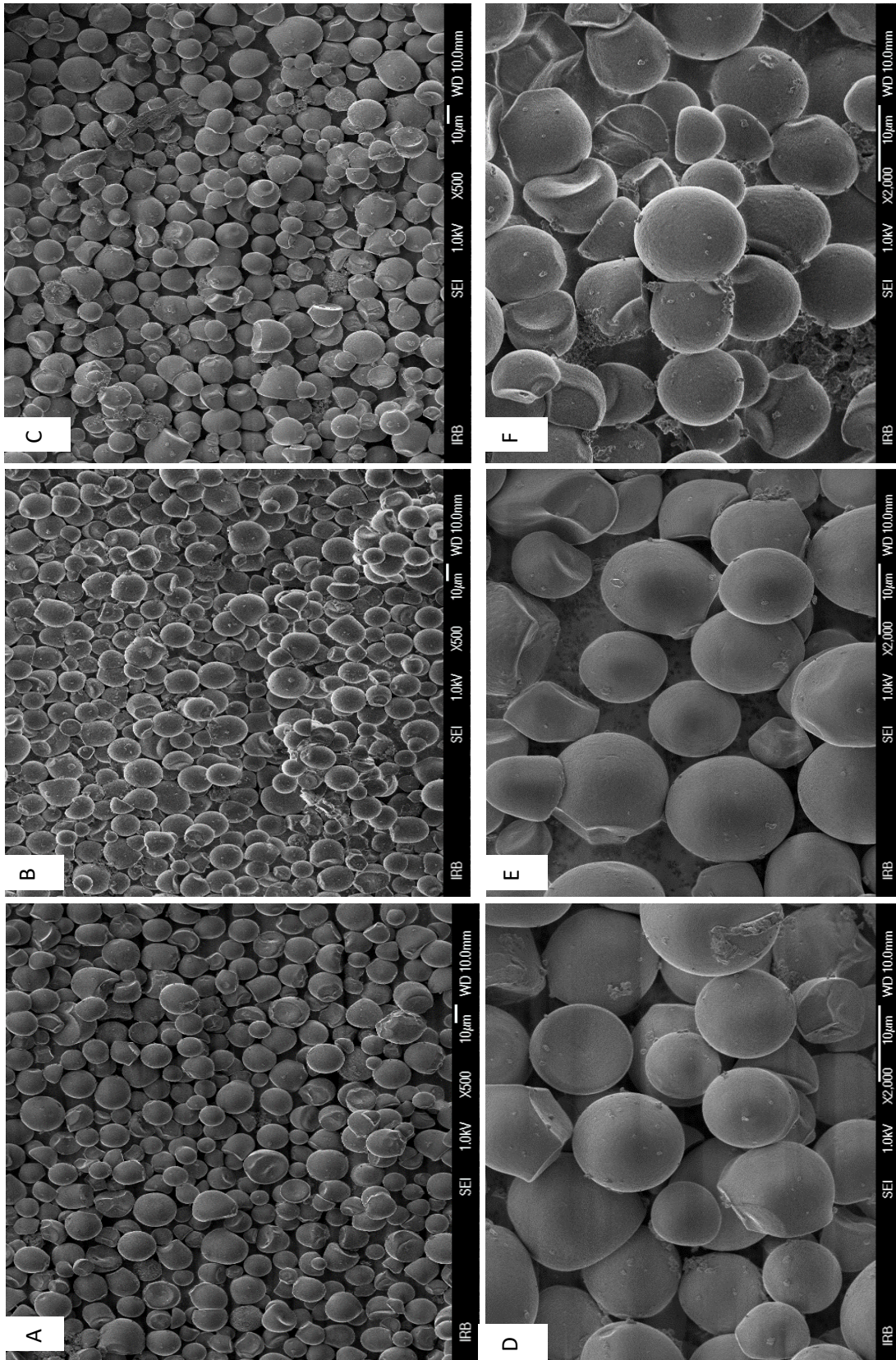
**Slika 57** Skenirajući elektronski mikroskop pšeničnog škroba: uvećanje 2000x i 5000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (2000x); B) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED (2000x); C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (2000x); D) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (5000x); E) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED (5000x); F) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (5000x)





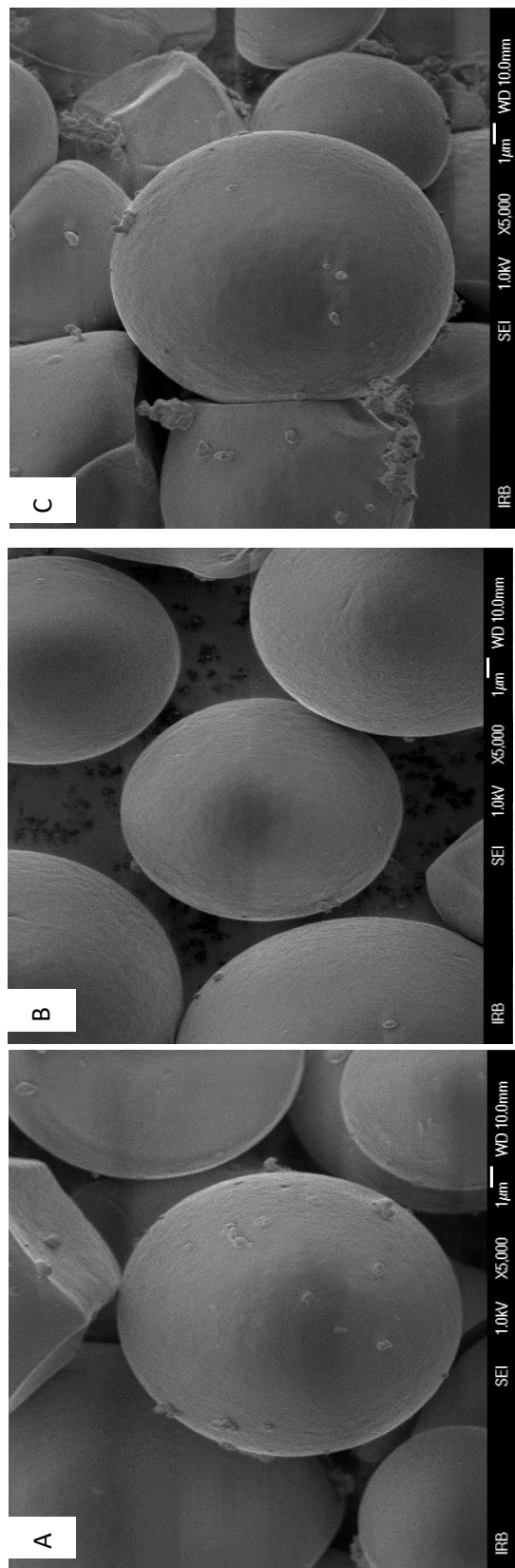
**Slika 58** Skenirajući elektronski mikroskop tapiokinog škroba: uvećanje 500x, 2000x i 5000x. A) nativni škrob (500x); B) škrob modificiran HVED-om (500x); C) nativni škrob (2000x); D) škrob modificiran HVED-om (2000x); E) nativni škrob (5000x); F) škrob tmodificiran HVED-om (5000x)



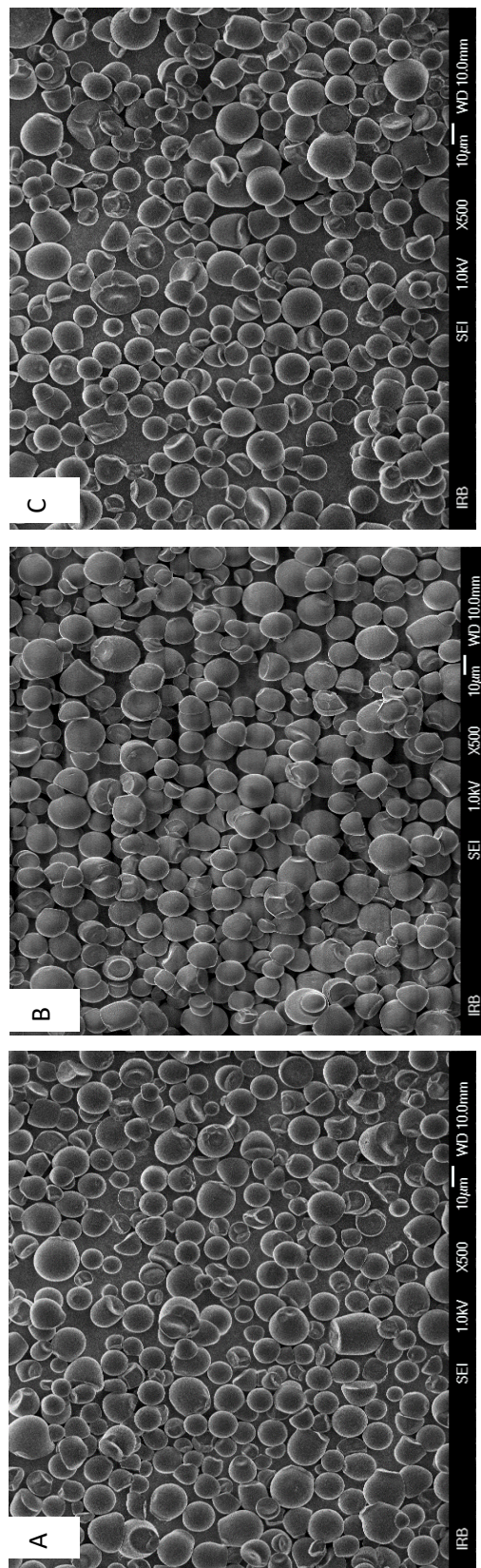


**Slika 59** Skenirajući elektronski mikroskop tapiokinog škroba: uvećanje 500x i 2000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (500x); B) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED (500x); C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (500x); D) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (2000x); E) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED (2000x); F) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (2000x)



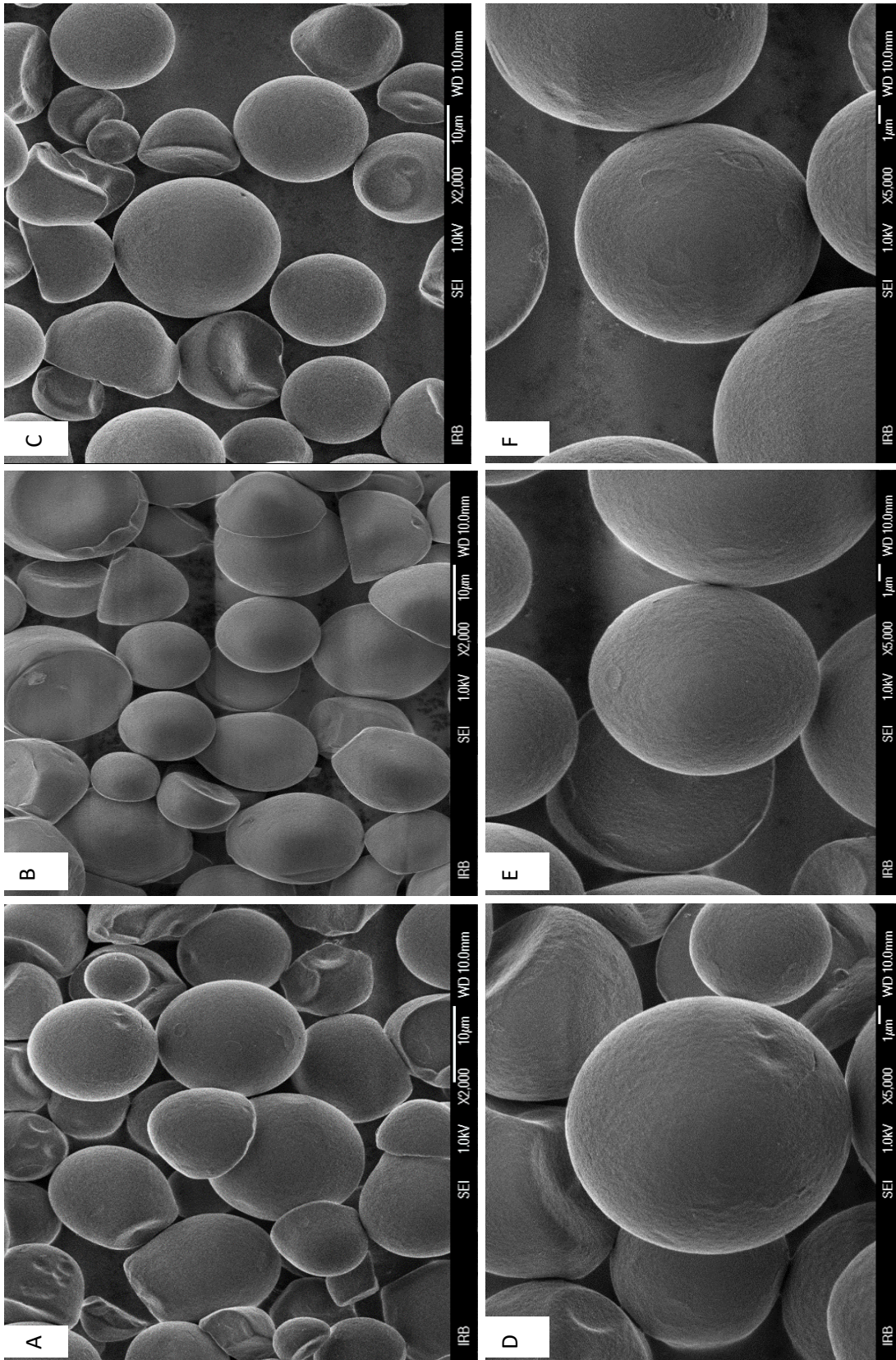


**Slika 60** Skenirajući elektronski mikrograf tapiokinog škroba: uvećanje 5000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; B) škrob modificiran  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED; C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$



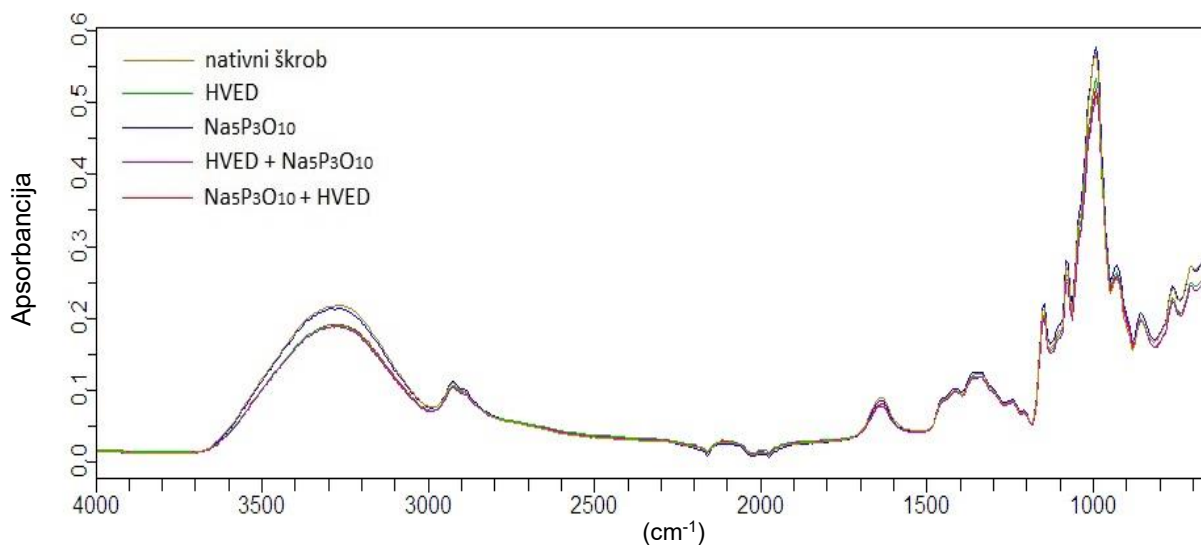
**Slika 61** Skenirajući elektronski mikrograf tapiokinog škroba: uvećanje 500x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ; B) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED; C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$



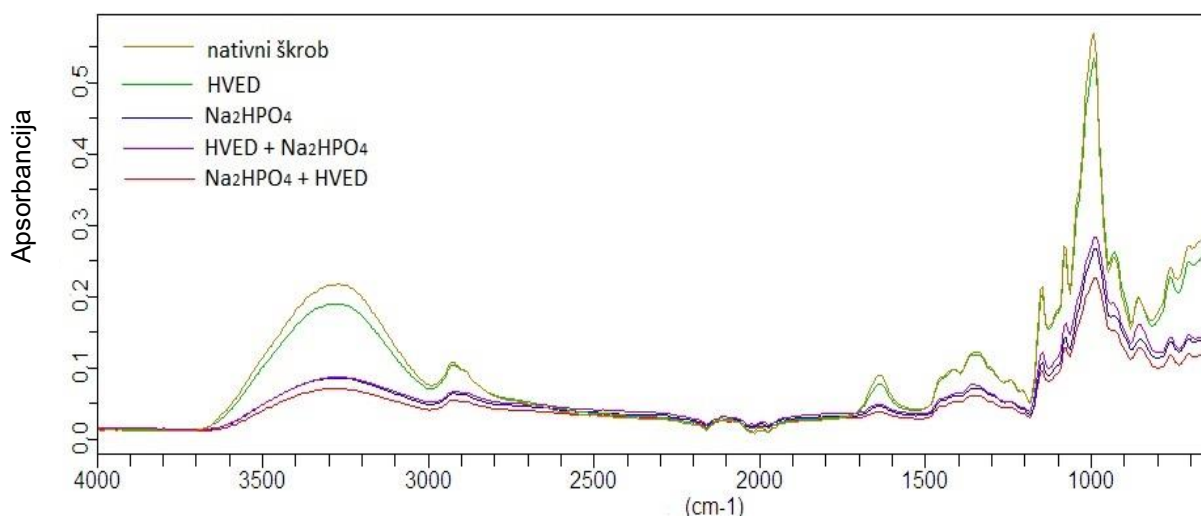


**Slika 62** Skenirajući elektronski mikroskopf tapiokinog škroba: uvećanje 2000x i 5000x. A) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (2000x); B) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED (2000x); C) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (2000x); D) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (5000x); E) škrob modificiran  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED (5000x); F) škrob modificiran HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (5000x)

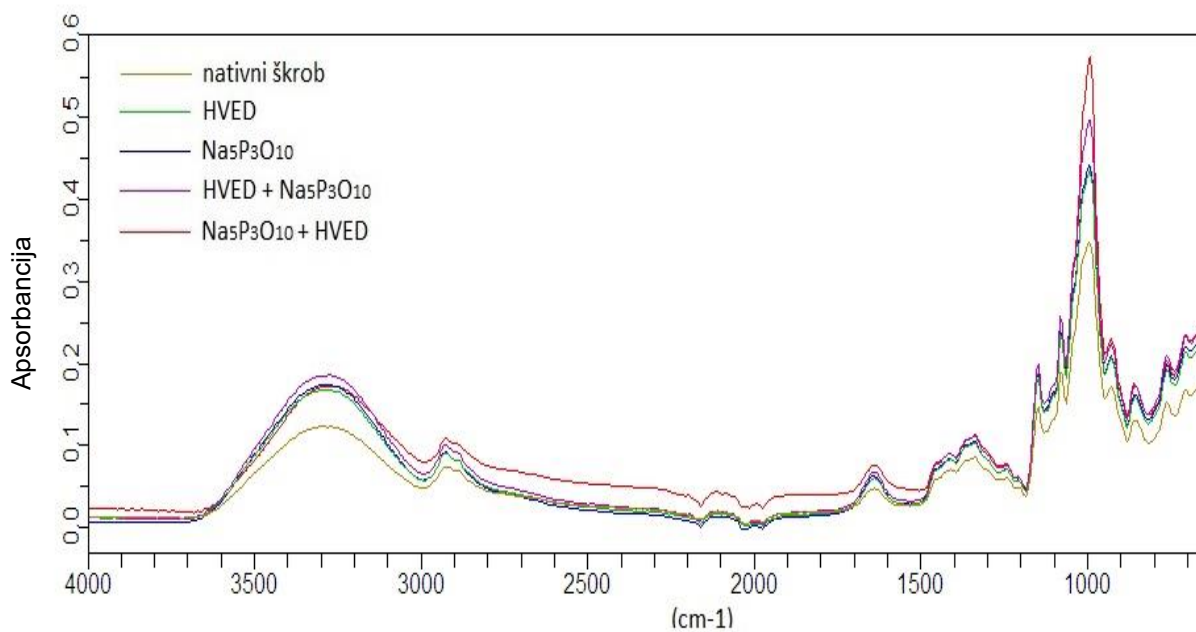
## 4.10. FT-IR analiza



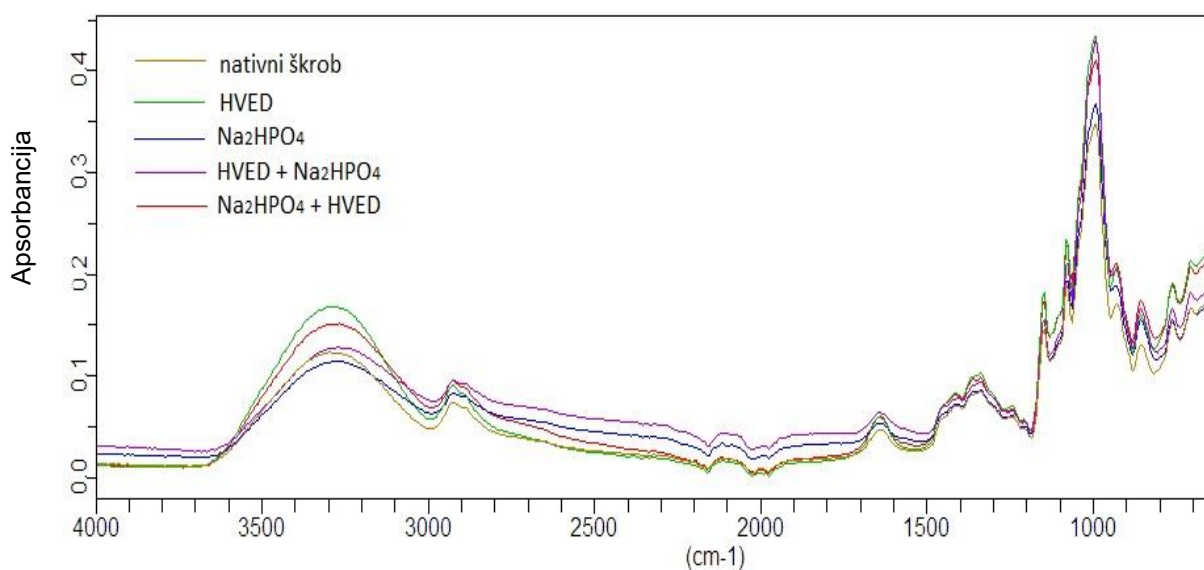
**Slika 63** IR-spektar nativnog krumpirovog škroba, škroba modificiranog HVED-om i škroba modificiranog  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  sa i bez HVED-a



**Slika 64** IR-spektar nativnog krumpirovog škroba, škroba modificiranog HVED-om i škroba modificiranog  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

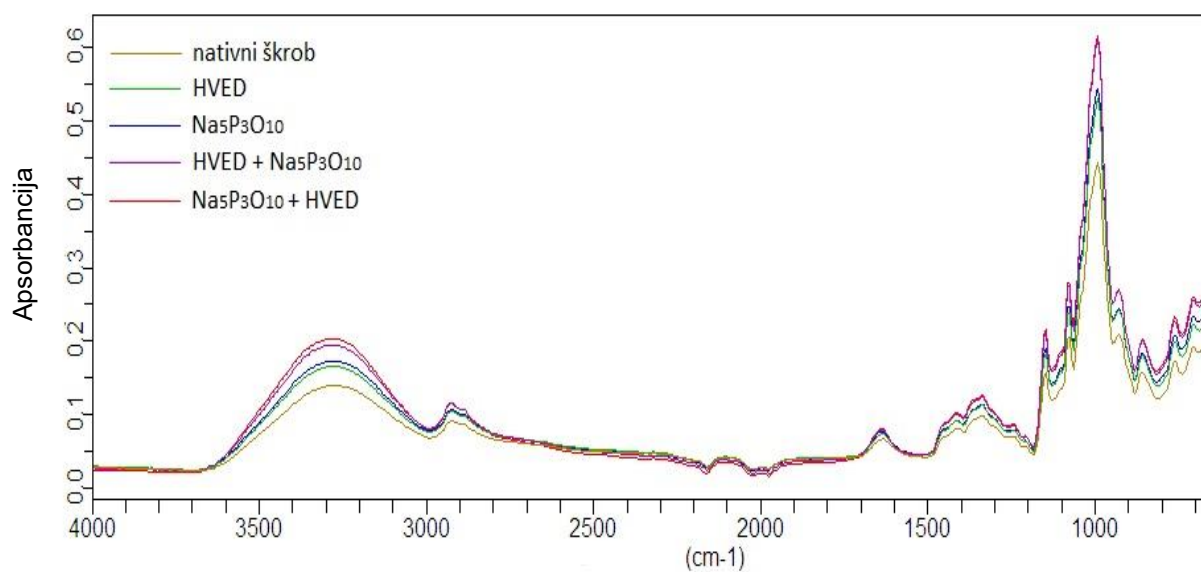


**Slika 65** IR-spektar nativnog kukuruznog škroba, škroba modificiranog HVED-om om i škroba modificiranog Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> sa i bez HVED-a

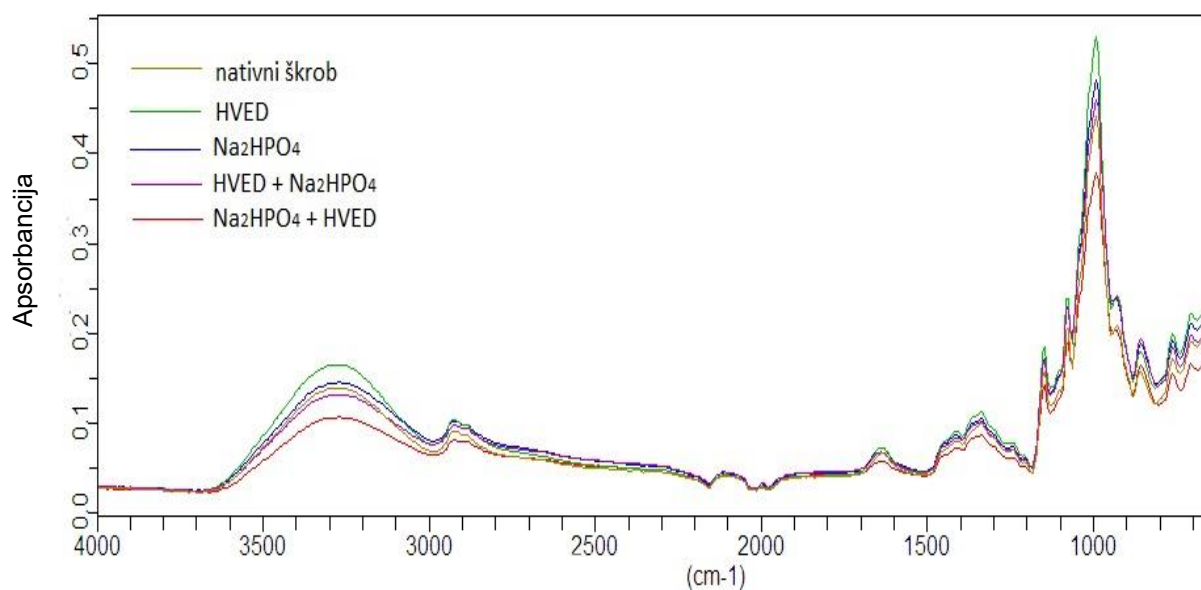


**Slika 66** IR-spektar nativnog kukuruznog škroba, škroba modificiranog HVED-om i škroba modificiranog Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a

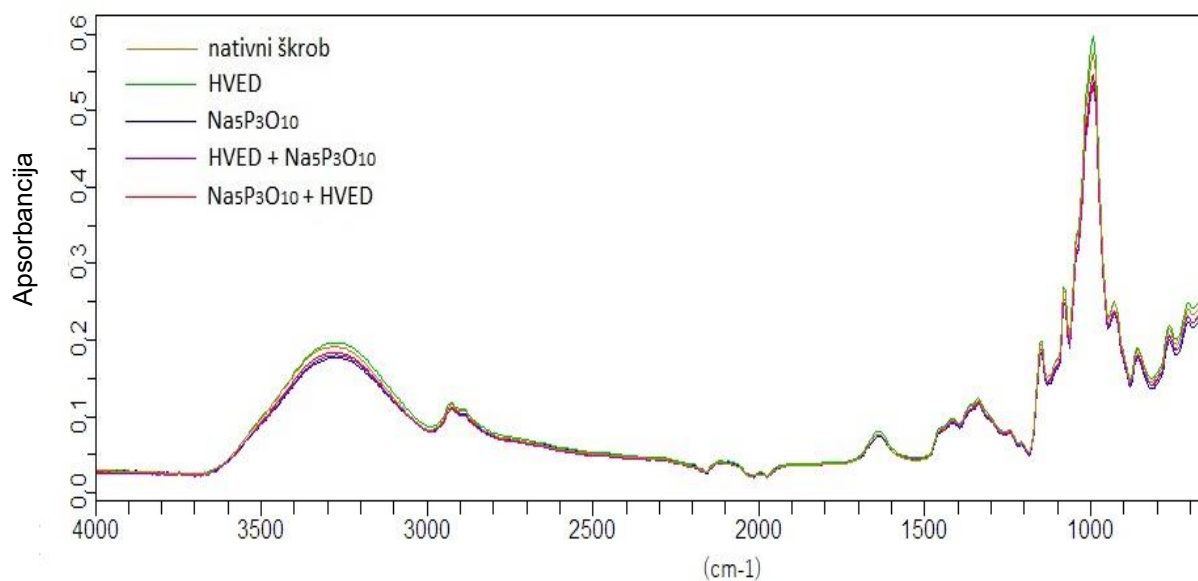




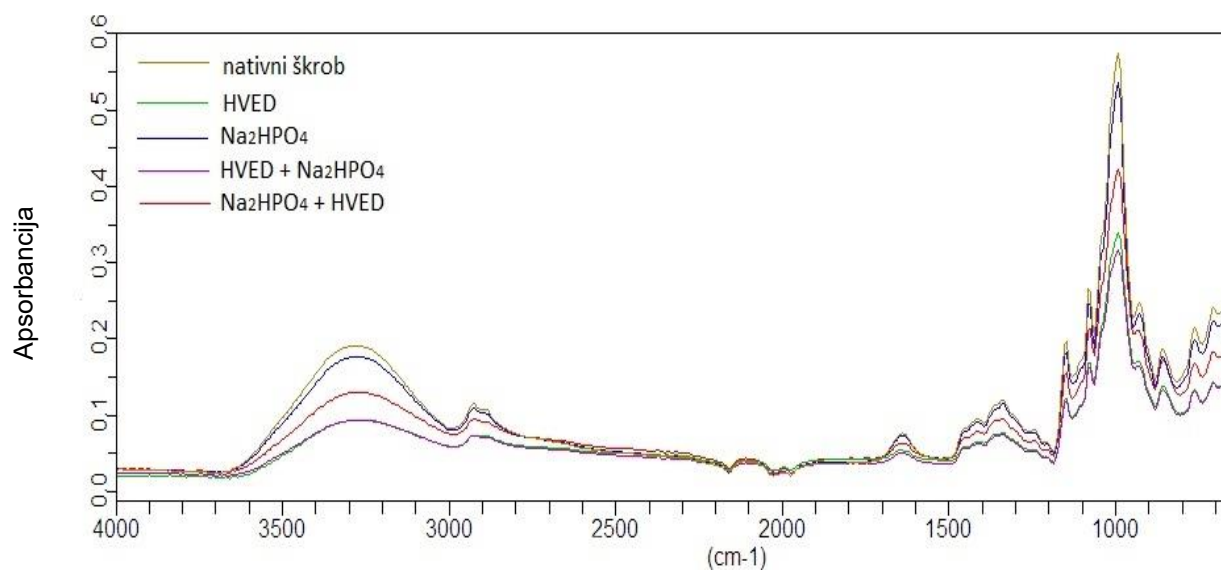
**Slika 67** IR-spektar nativnog pšeničnog škroba, škroba modificiranog HVED-om om i škroba modificiranog Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> sa i bez HVED-a



**Slika 68** IR-spektar nativnog pšeničnog škroba, škroba modificiranog HVED-om i škroba modificiranog Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sa i bez primjene HVED-a



**Slika 69** IR-spektar nativnog tapiokinog škroba, škroba modificiranog HVED-om i škroba modificiranog  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  sa i bez HVED-a



**Slika 70** IR-spektar nativnog pšeničnog škroba, škroba modificiranog HVED-om i škroba modificiranog  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a



**Tablica 3** Omjer apsorbancija nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  sa i bez HVED-a

<b>KRUMPIR</b>	<b>IR omjer 1045/1020 <math>\text{cm}^{-1}</math></b>	<b>IR omjer 1020/998,9 <math>\text{cm}^{-1}</math></b>	<b>KUKURUZ</b>	<b>IR omjer 1045/1020 <math>\text{cm}^{-1}</math></b>	<b>IR omjer 1020/998,9 <math>\text{cm}^{-1}</math></b>
Nativni	0,700	0,896	Nativni	0,719	0,930
HVED	0,681	0,880	HVED	0,703	0,862
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0,750	0,899	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0,730	0,914
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED	0,750	0,881	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED	0,706	0,942
HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0,760	0,880	HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0,675	0,928
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	0,680	0,865	$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	0,659	0,938
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED	0,673	1,002	$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED	0,640	0,898
HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	0,667	0,884	HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	0,711	0,918
<b>PŠENICA</b>	<b>IR omjer 1045/1020 <math>\text{cm}^{-1}</math></b>	<b>IR omjer 1020/991,5 <math>\text{cm}^{-1}</math></b>	<b>TAPIOKA</b>	<b>IR omjer 1045/1020 <math>\text{cm}^{-1}</math></b>	<b>IR omjer 1020/991,5 <math>\text{cm}^{-1}</math></b>
Nativni	0,641	0,880	Nativni	0,652	0,857
HVED	0,667	0,849	HVED	0,640	0,870
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0,671	0,882	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0,552	0,918
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED	0,701	0,884	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED	0,677	0,914
HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0,683	0,891	HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0,703	0,877
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	0,660	0,861	$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	0,681	0,882
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED	0,667	0,828	$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED	0,700	0,836
HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	0,660	0,866	HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	0,681	0,858

## **5. RASPRAVA**

U radu je ispitan utjecaj visokonaponskog električnog pražnjenja na svojstva škroba kukuruza, pšenice, tapioke i krumpira te kombinacija tretmana visokonaponskim električnim pražnjenjem s kemijskim modifikacijama natrijevim hidrogenfosfatom i natrijevim tripolifosfatom. Visokonaponskim električnim pražnjenjem je tretiran nativni škrob, te škrob prije i nakon kemijske modifikacije kako bi se utvrdio redoslijed utjecaja tretiranja na ispitivana svojstva. Rezultati istraživanja su prikazani u **Tablicama 2 i 3** i na **Slikama 14 - 70**.

### 5.1. Udio rezistentnog škroba, oštećenog škroba i amiloze

Škrob se pomoću enzima u organizmu ragrađuje do glukoze i dugo se smatralo da je razgradnja škroba u tankom crijevu kod ljudi potpuna. Istraživanja su pokazala da jedan dio škroba odlazi nerazgrađen u debelo crijevo. Taj škrob, koji se ni nakon 120 minuta ne razgradi u tankom crijevu nego fermentira u debelom crijevu, nazivamo rezistentni škrob. Rezistentni škrob (RS) koji ima svojstva vlakana, u odnosu na konvencionalna voćna vlakna i vlakna iz cjelovitih žitarica, pruža bolji izgled, okus i teksturu proizvodima na bazi žitarica. Koristi se za obogaćivanje mnogih namirnica: poput kruha, tjestenina, kolača, pohane hrane. Upotreba rezistentnog škroba može imati prednosti i u proizvodnji hrane za osobe s posebnim dijetetskim potrebama, npr. kod dijabetičara, jer RS uzrokuje mali odgovor sekrecije inzulina (Fuentes-Zaragoza i sur., 2010.; Šubarić i sur., 2012.).

Udio rezistentnog škroba (RS) u nativnim i modificiranim škrobovima prikazan je na **Slici 14**. Udio rezistentnog škroba kod nativnih uzoraka kretao se u rasponu od 0,66 % s. tv. za pšenični škrob do 69,50 % s. tv. za krumpirov škrob, što je u skladu s prethodnim istraživanjima. Tako je, prema Fuentes-Zaragoza i sur. (2010.) udio RS u krumpirovom škrobu iznosio 75 % od ukupnog škroba, u pšenici sorte Golubica 0,48 % s. tv., u pšenici sorte Sranjka 0,57 % s. tv. (Ačkar, 2010.). Nakon tretmana HVED-om udio RS-a je smanjen kod svih ispitivanih vrsta škroba i kretao se u rasponu od 0,22 % s. tv. za pšenični škrob do 69,39 % s. tv. za krumpirov škrob. Najveće smanjenje udjela RS bilo je kod tapiokinog škroba (s 15,15 % na 5,42 % s. tv.). Han i sur. (2020.) navode da tretman plazmom može rezultirati proširenjem kanala koji su prirodno prisutni u granulama, a vode od površine ka unutrašnjosti granule. Posljedica je lakši prolaz enzima do lanaca koji se nalaze u unutrašnjosti granule, a time i veća probavljivost škroba. SEM fotografije škrobova u ovom istraživanju (**Slike 44, 48, 53 i 58**) podupiru ovu tezu. Na granulama škroba krumpira i kukuruza kod kojih nije došlo do značajne promjene udjela rezistentnog škroba gotovo da ne postoje vidljive promjene, dok se kod pšeničnog škroba uočavaju manja, a kod tapiokinog značajna oštećenja na površini granule. Očito da utjecaj tretmana na sam škrob ovisi i o svojstvima granule i o samoj prirodi HVED tretmana. Wu i sur. (2018.) nisu uočili značajnu promjenu udjela rezistentnog škroba u škrobu banane tretiranom

korona električnim pražnjenjem, dok Thirumdas i sur. (2017.b.) navode da je rižin škrob nakon tretmana hladnom plazmom bio otporniji na enzimsku hidrolizu, objašnjavajući to umrežavanjem uzrokovanim tretmanom.

Jedan od ciljeva ovog istraživanja bio je ispitati i mogućnost kombinacije tretmana visokonaponskog električnog pražnjenja s kemijskim modifikacijama s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ . Ispitan je i utjecaj redosljeda tretmana (HVED pa kemijska modifikacija i kemijska modifikacija pa HVED). Udio RS snizio se nakon obje kemijske modifikacije kod svih ispitivanih vrsta škroba u odnosu na native (**Slika 14**). Tretman HVED-om prije kemijskog tretmana dodatno je pojačao sniženje udjela rezistentnog škroba kod kukuruznog i krumpirovog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Primjena HVED-a prije kemijske modifikacije rezultirala je većim udjelom rezistentnog škroba u odnosu na samu kemijsku modifikaciju kod pšeničnog škroba modificiranog s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , krumpirovog škroba modificiranog s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i kod oba kemijski modificirana tapiokina škroba, ali u odnosu na nativni i ovi dvostruko modificirani škrobovi imali su niži udio RS-a.

Tretman HVED-om nakon kemijske modifikacije rezultirao je višim udjelom RS-a u odnosu na samu kemijsku modifikaciju kod kukuruznog i krumpirovog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i pšeničnog i tapiokinog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Do dodatnog sniženja udjela RS-a došlo je kod kukuruznog i krumpirovog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i pšeničnog i tapiokinog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ . Primjenom bootstrap testa o jednakosti očekivanja za sparene uzorke na razini značajnosti  $\alpha=0,05$  utvrđeno je smanjenje udjela rezistentnog škroba nakon tretmana HVED-om u odnosu na native uzorke škroba (**Prilog 1**).

Udio oštećenog škroba (OS) u nativnim i modificiranim škrobovima prikazan je na **Slici 15**. Oštećeni škrob nastaje uslijed mehaničkog oštećenja tijekom mljevenja, a ovisi o tvrdoći zrna žitarice, načinu i tehnici mljevenja. Udio takvog škroba je veći kod žitarica tvrdog zrna nego kod žitarica mekog zrna uz uvjet da se koriste iste tehnike mljevenja (Barrera i sur., 2007; Jukić i sur., 2019.; Wang i sur., 2020.). Oštećeni škrob, za razliku od neoštećenog, osjetljiviji je na enzimsku hidrolizu, ima veću sposobnost apsorpcije vode, a karakteriziraju ga promijenjena pastozna svojstva i svojstva želatinizacije u odnosu na neoštećeni škrob. Količina vode koju apsorbiraju granule neoštećenog škroba je do 40 % ukupne težine, dok kod oštećenog škroba to može iznositi i do 300 % (Barrera i sur., 2016.; Jukić i sur., 2019.). Budući da je i tijekom postupka modifikacije, naročito tijekom tretmana HVED-om moglo doći do oštećenja granula škroba, ispitan je i njegov udio u uzorcima. U ovom istraživanju udio OS kod nativnih uzoraka škroba kretao se u rasponu od 0,02 % s. tv. za tapiokin škrob do 2,41 % s. tv. za kukuruzni škrob. Nakon primjene HVED-a došlo je do smanjenja udjela oštećenog škroba kod kukuruznog, krumpirovog i tapiokinog škroba, a kod pšeničnog škroba je došlo do porasta

udjela oštećenog škroba. Wang i sur. (2020.) navode da tretman hladnom plazmom može uzrokovati oštećenje škroba.

Udio oštećenog škroba nakon obje kemijske modifikacije ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) snizio se kod kukuruznog i krumpirovog škroba, a porastao kod tapiokinog škroba u odnosu na native škrobove. Modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod pšeničnog škroba utjecala je na sniženje, a s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  na povišenje udjela OS u odnosu na nativni škrob.

Tretman HVED-om prije i nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  uzrokovao je smanjenje udjela oštećenog škroba kod svih ispitivanih vrsta škroba. Tretman HVED-om prije i nakon modifikacije s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod pšeničnog škroba je rezultirao smanjenjem, a kod kukuruznog i tapiokinog škroba povišenjem u odnosu na samu kemijsku modifikaciju.

Primjenom bootstrap testa o jednakosti očekivanja za sparene uzorke na razini značajnosti  $\alpha=0,05$  utvrđeno je smanjenje udjela oštećenog škroba nakon tretmana HVED-om, kao i smanjenje udjela oštećenog škroba kod primjene HVED-a prije i nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  u odnosu na samu kemijsku modifikaciju (**Prilog 1**). Međutim, potrebno je napomenuti da smanjeno oštećenje škroba uočeno u ovom istraživanju može biti i samo prividno jer su postupci modifikacije provedeni u vodenim otopinama. Budući da je oštećeni škrob topljiviji u vodi od neoštećenog, u slučaju većeg stupnja oštećenja moglo je doći do njegovog izdvajanja tijekom postupka ispiranja.

Udio amiloze (% s. tv.) u nativnim škrobovima iznosio je redom za kukuruzni, pšenični, krumpirov i tapiokin škrob: 15,80 %; 20,27 %; 14,14 % i 12,85 %. Nakon tretmana HVED-om došlo je do sniženja udjela amiloze u svim ispitivanim škrobovima u odnosu na native uzorke (**Slika 16**), a što je utvrđeno i primjenom bootstrap testa o jednakosti očekivanja za sparene uzorke na razini značajnosti  $\alpha=0,05$  (**Prilog 1**). Udio amiloze utječe na fizikalno-kemijska i funkcionalna svojstva škroba. Udio fosfolipida u škrobnoj granulaciji proporcionalan je s udjelom amiloze koja s fosfolipidima formira amilozno-lipidne komplekse što ograničava bubrenje i topljivost škroba (Alcázar-Alay i Meireles, 2015.). Banura i sur. (2018.) navode da je plazma tretman smanjio udio amiloze kod kukuruznog škroba, a povećao kod tapiokinog škroba. Razlog smanjenja udjela amiloze, prema autorima su slobodni radikali i elektroni prisutni u plazmi koji dovode do pucanja glikozidnih veza amiloze i stvaranja čestica manje molekularne mase, a povećanje udjela amiloze kod tapiokinog škroba moguće je zbog depolimerizacije bočnih lanaca amilopektina što rezultira stvaranjem manjih lanaca amiloze ili zbog većeg udjela amilopektinskih lanaca i veće veličine čestica tapiokinog škroba (Banura i sur., 2018.). Tretiranjem rižinog škroba hladnom plazmom došlo je do smanjenja udjela amiloze u odnosu na nativni škrob. Udio amiloze se smanjivao s povećanjem intenziteta plazme i vremena tretiranja, što može biti posljedica djelovanja plazma reaktivnih vrsta na lance amiloze

(Thirumdas i sur., 2017.b.). Autori Wu i sur. (2018.) nisu uočili razliku u udjelu amiloze u škrobu banane tretiranom korona električnim pražnjenjem različitog intenziteta.

Kemijske modifikacije  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  utjecale su na smanjenje udjela amiloze kod svih ispitivanih uzoraka u odnosu na native uzorke. Tretman HVED-om prije kemijske modifikacije dodatno je smanjio udio amiloze u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod pšeničnog škroba i u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod kukuruznog, pšeničnog i krumpirovog škroba u odnosu na samu kemijsku modifikaciju, dok je kod tapiokinog škroba kombinacijom HVED-a prije  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  došlo do povećanje udjela amiloze. Tretman HVED-om nakon kemijske modifikacije uzrokovao je povećanje udjela amiloze kod kukuruznog, krumpirovog i tapiokinog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i kod pšeničnog i tapiokinog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ , dok je do smanjenja udjela amiloze došlo kod pšeničnog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i kod kukuruznog i krumpirovog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  u odnosu na samu kemijsku modifikaciju. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da unatoč povećanju udjela amiloze kod određenih tretmana HVED-om u kombinaciji s kemijskom modifikacijom, nije došlo do povećanja udjela amiloze u odnosu na native uzorke.

Udio amiloze prema ovom istraživanju je, ukoliko se uzmu prosječne vrijednosti svih škrobova, u negativnoj korelaciji s indeksom topljivosti i kapacitetom bubrenja škroba, udjelom rezistentnog škroba, entalpijom želatinizacije te lomljivosti i adhezivnosti gela. Međutim, kod pojedinih vrsta škroba značajnost korelacije se mijenja, kao i grupiranjem po tretmanu što ukazuje na složenost samih procesa modifikacije (**Prilog 2**).

## 5.2. Svojstva želatinizacije nativnih i modificiranih škrobova

Temperatura i entalpija želatinizacije škroba razlikuju se ovisno o botaničkom porijeklu škroba i stupnju kristaličnosti. Zabilježeno je da su visoke temperature želatinizacije rezultat visokog stupnja kristaličnosti koji omogućava stabilnu strukturu granule i čini ju otpornijom na želatinizaciju (Singh i sur., 2003.).

Svojstva želatinizacije nativnih i modificiranih škrobova mjerena su pomoću diferencijalnog motridbenog kalorimetra (DMK). Vrijednosti temperature početka želatinizacije ( $t_0$ ), temperature vrha želatinizacije ( $t_p$ ), temperature završetka želatinizacije ( $t_e$ ) i entalpije želatinizacije ( $\Delta H$ ) ispitivanih vrsta škroba prikazane su na **Slikama 17 - 20**.

Temperatura početka želatinizacije nativnih vrsta škroba kretala se u rasponu od 55,91 °C za pšenični škrob do 64,90 °C za kukuruzni škrob, temperature vrha želatinizacije u rasponu od 60,33 °C za pšenični škrob do 70,24 °C za kukuruzni škrob, a temperatura završetka želatinizacije u rasponu od 64,92 °C za pšenični do 77,92 °C za tapiokin škrob.

Nakon tretmana HVED-om temperatura početka želatinizacije i temperatura vrha želatinizacije bile su niže kod svih ispitivanih vrsta škroba u odnosu naativne uzorke. Do najvećeg sniženja je došlo kod tapiokinog škroba za vrijednost  $t_0$  (sa 63,48 °C zaativni, na 61,56 °C za škrob tretiran HVED-om), što je u skladu s rezultatima Chisenga i sur. (2019.). Banura i sur. (2018.) navode da je kod krumpirovog škroba nakon primjene radio frekventne niskotlačne plazme također došlo do sniženja  $t_p$  u odnosu naativni škrob. Do sličnog zaključka došli su i autori Zhou i sur. (2018.) koji su utvrdili sniženje  $t_0$  i  $t_p$  kod kukuruznog škroba nakon primjene atmosferske plazme. Tretman HVED-om nije značajno utjecao na promjenu vrijednosti  $t_e$  kod krumpirovog škroba, dok je kod kukuruznog škroba došlo do blagog povišenja, što može biti zbog umrežavanja uzrokovanog HVED-om, a što opisuju i autori Thirumdas i sur., (2017.b.). Tretman HVED-om najviše je utjecao na temperaturu završetka želatinizacije tapiokinog škroba, uzrokujući smanjenje vrijednosti sa 77,92 °C (ativni škrob) na 75,17 °C (tretman HVED-om). Utjecaj HVED-a na sniženje vrijednosti  $t_0$  i  $t_p$  u odnosu naativne škrobove utvrđen je primjenom bootstrap testa o jednakosti očekivanja za sparene uzorke na razini značajnosti  $\alpha=0,05$  (**Prilog 1**).

Entalpija želatinizacije ( $\Delta H$ )ativnog kukuruznog, krumpirovog, pšeničnog i tapiokinog škroba iznosila je redom: 12,10 J/g, 18,67 J/g, 11,09 J/g i 10,54 J/g. Nakon tretmana HVED-om entalpija želatinizacije kukuruznog, krumpirovog i pšeničnog škroba bila je niža u odnosu naativni škrob i iznosila je 11,74 J/g za kukuruzni, 17,87 J/g za krumpirov i 10,24 J/g za pšenični škrob. Thirumdas i sur., (2017.b.) navode da škrob tretiran hladnom plazmom treba manje energije za želatinizaciju u odnosu na netretirani, što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom istraživanju (izuzev tapiokinog škroba). Kod tapiokinog škroba tretiranog HVED-om došlo je do povećanja entalpije želatinizacije u odnosu naativni tapiokin škrob (s 10,55 J/kg na 15,19 J/g), što je u skladu s autorima Banura i sur. (2018.) koji su utvrdili da je kod tapiokinog škroba nakon tretmana radio-frekventnom niskotlačnom plazmom došlo do povećanja entalpije želatinizacije. Sasaki i sur. (2000.) navode da su završna temperatura želatinizacije i entalpija želatinizacije obrnuto proporcionalne udjelu amiloze, što je zabilježeno i u ovom istraživanju (utvrđena je negativna korelacija između udjela amiloze i entalpije želatinizacije), a objašnjavaju to time da škrobovi s većim udjelom amiloze imaju više amorfnih, a manje kristalnih regija, te je u tom slučaju potrebno manje energije i niža je temperatura želatinizacije (Sasaki i sur., 2000.).

Modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kao i tretman HVED-om prije i nakon kemijske modifikacije rezultirali su sniženjem temperature želatinizacije ( $t_0$ ,  $t_p$  i  $t_e$ ) kod krumpirovog škroba, a povišenjem kod kukuruznog, pšeničnog i tapiokinog škroba u odnosu naativne škrobove i na škrobove tretirane samo HVED-om. Entalpija želatinizacije pri istom tretmanu (HVED prije i nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) bila je niža kod kukuruznog, pšeničnog i krumpirovog škroba u odnosu na samu

kemijsku modifikaciju i u odnosu na native uzorke, dok je kod tapiokinog škroba zabilježeno povišenje entalpije želatinizacije u odnosu na nativni škrob.

Modifikacija s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kao i kombinacija HVED-a prije i nakon kemijske modifikacije uzrokovala je sniženje temperatura želatinizacije ( $t_0$ ,  $t_p$  i  $t_e$ ) kod svih ispitivanih vrsta škroba u odnosu na native i na škrobove tretirane samo HVED-om, pri čemu je također došlo i do sniženja entalpije želatinizacije. Prema (Thirumdas i sur., 2017.b.) sniženje temperature želatinizacije moguće je zbog depolimerizacije ili zbog promjene udjela amiloze i amilopektina u škrobnoj granulaciji uslijed plazma tretmana. Nadalje, supstitucija –OH skupina škroba drugim kemijskim skupinama također rezultira sniženjem temperature želatinizacije (BeMiller i Whistler, 2009.).

Primjenom bootstrap testa o jednakosti očekivanja za sparane uzorke na razini značajnosti  $\alpha=0,05$  utvrđeno je povećanje vrijednosti  $t_0$  i  $t_p$  za tretmane HVED-om prije i nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  te sniženje entalpije kod škrobova tretiranih HVED-om prije i nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  u odnosu na vrijednost entalpije kod škrobova modificiranih samo kemijskom modifikacijom (**Prilog 1**).

Općenito se može zaključiti da tretman HVED-om u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  pojačava efekt sniženja temperature i entalpije želatinizacije. Moguće je da slobodni radikali koji nastaju tretmanom HVED-om u vodi aktiviraju škrobnu granulu i čine ju reaktivnijom u reakciji supstitucije s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ . Isti trend sniženja entalpije želatinizacije uočava se i kod kombinacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , dok je kod temperature želatinizacije u ovom slučaju trend suprotan, najvjerojatnije uslijed inhibitornog efekta nastalih radikala na kemijsku modifikaciju.

Ukoliko se pogleda korelacija između pojedinih svojstava, vidljivo je da je entalpija želatinizacije u negativnoj korelaciji s udjelom amiloze za prosječne vrijednosti svih škrobova i za grupiranje po tretmanima, dok se kod grupiranja po vrsti škroba ne uočava jasna korelacija. Pozitivna korelacija za cijelu ispitivanu grupu škrobova uočava se između entalpije želatinizacije i bistroće, kapaciteta bubrenja, topljivosti te veličine čestica (**Prilog 2**).

### 5.3. Svojstva paste nativnih i modificiranih škrobova

Svojstva škrobne paste nativnih i modificiranih škrobova određivana su primjenom Brabenderovog mikro visko-amilografa (Micro viscoanalyzer Tip 803202). Rezultati su prikazani na **Slikama 21 - 28**.

Temperatura početka stvaranja paste ( $T_p$ ) kod nativnih uzoraka škroba kretala se u rasponu od 58,55 °C za krumpirov do 73,35 °C za kukuruzni škrob. Kukuruzni škrob formira pastu na višoj temperaturi od krumpirovog i tapiokinog škroba zbog višeg stupnja kristaličnosti kao i zbog većeg udjela lipida koji zajedno s amilozom tvore spojeve koji ograničavaju bubrenje škroba (Li i sur., 2014.; Mishra i Rai, 2006.; Pycia i sur., 2015.).



Tretman HVED-om uzrokovao je povišenje temperature početka stvaranja paste kod krumpirovog i pšeničnog škroba, a kod kukuruznog i tapiokinog škroba sniženje u odnosu na native škrobove. Kemijska modifikacija s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod svih ispitivanih vrsta škroba rezultirala je nižom temperaturom početka stvaranja paste u odnosu na native škrobove, dok je kemijska modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod kukuruznog i krumpirovog škroba uzrokovala nižu, a kod pšeničnog i tapiokinog škroba višu temperaturu početka stvaranja paste u odnosu na native uzorke.

Tretman HVED-om prije i nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  rezultirao je povišenjem temperature početka stvaranja paste kod svih ispitivanih škrobova u odnosu na samu kemijsku modifikaciju i u odnosu na native škrobove. Kod kukuruznog i tapiokinog škroba u kombinaciji HVED-a prije i nakon  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  došlo je do povišenja temperature početka stvaranja paste u odnosu na samu kemijsku modifikaciju, ali je ona bila niža u odnosu na native uzorke, dok je kod pšeničnog škroba došlo do sniženja temperature početka stvaranja paste i u odnosu na samu kemijsku modifikaciju i u odnosu na nativni škrob (**Slika 21**).

Primjenom bootstrap testa o jednakosti očekivanja za sparene uzorke na razini značajnosti  $\alpha=0,05$  utvrđen je porast temperature početka stvaranja paste primjenom HVED-a prije i nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  u odnosu na samu modifikaciju (**Prilog 1**).

Maksimalna viskoznost nativnih škrobova iznosila je redom za kukuruzni, pšenični, krumpirov i tapiokin škrob: 258,50 BU; 328 BU; 1640 BU i 644 BU iz čega je vidljivo da škrobovi žitarica imaju nižu viskoznost od škrobova gomolja što su utvrdili i autori Li i sur. (2014.) i Mishra i Rai. (2006.). Krumpirov škrob postiže vrlo visoku viskoznost, dok je viskoznost žitarica prilično niska zbog nižeg kapaciteta bubrenja (Waterschoot i sur., 2015.) što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom istraživanju.

Primjena HVED tretmana utjecala je na povišenje maksimalne viskoznosti kod kukuruznog, krumpirovog i tapiokinog škroba što je u skladu s Thirumdas i sur. (2017.b.), dok je kod pšeničnog škroba nakon tretmana HVED-om došlo do sniženja maksimalne viskoznosti u odnosu na native škrobove (**Slika 22**). Prema Nemtanu i Minea (2006.) razlog porasta viskoznosti kukuruznog škroba moguć je zbog umrežavanja koje je nastalo djelovanjem dielektričnog pražnjenja na granule škroba, dok je prema Banura i sur. (2018.) depolimerizacija uzrokovana plazma tretmanom utjecala na veću viskoznost škrobne paste. Obje kemijske modifikacije ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) rezultirale su sniženjem maksimalne viskoznosti kod krumpirovog škroba, a povišenjem kod kukuruznog škroba u odnosu na native uzorke. Kod pšeničnog i tapiokinog škroba modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  utjecala je na sniženje, a modifikacija s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  na povišenje maksimalne viskoznosti u odnosu na native škrobove. Tretman HVED-om prije i nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod svih škrobova uzrokovao je sniženje maksimalne viskoznosti u odnosu na samu kemijsku modifikaciju, te su tako dobivene

vrijednosti kod pšeničnog, krumpirovog i tapiokinog škroba bile niže i u odnosu na native škrobove.

Tretman HVED-om prije  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  rezultirao je povišenjem maksimalne viskoznosti kod krumpirovog škroba, dok je kod kukuruznog, pšeničnog i tapiokinog škroba došlo do sniženja maksimalne viskoznosti u odnosu na samu kemijsku modifikaciju, ali unatoč tome sniženju vrijednosti maksimalne viskoznosti bile su više u odnosu na native škrobove. Tretman HVED-om nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ , uglavnom je rezultirao povišenjem maksimalne viskoznosti u odnosu na samu kemijsku modifikaciju i na native uzorke ukazujući na značajno veće bubrenje škrobnih granula prije samog pucanja (BeMiller, 2019.).

Općenito se može zaključiti da je tretman HVED-om u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  rezultirao povišenjem viskoznosti kod svih ispitivanih škrobova u odnosu na native škrobove, dok je tretman HVED-om u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod krumpirovog, tapiokinog i pšeničnog škroba doveo do sniženja viskoznosti, a kod kukuruznog do povišenja u odnosu na native uzorke.

Viskoznost paste na 92 °C nakon tretmana HVED-om snizila se kod pšeničnog i krumpirovog škroba, a kod kukuruznog i tapiokinog se povisila u odnosu na native uzorke.

Kemijska modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i tretman HVED-om prije i nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod kukuruznog škroba je rezultirao povišenjem, a kod pšeničnog, krumpirovog i tapiokinog škroba sniženjem viskoznosti paste na 92 °C u odnosu na native uzorke, dok su kemijska modifikacija s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i tretman HVED-om prije i nakon  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  uzrokovali povišenje viskoznosti paste na 92 °C kod svih ispitivanih uzoraka u odnosu na native. Nakon 15 minuta miješanja na 92 °C došlo je do pada viskoznosti paste kod svih ispitivanih vrsta škroba.

Vrijednost *kidanja* ili *breakdown* vrijednost dobije se iz razlike vrijednosti maksimalne viskoznosti i viskoznosti nakon 15 minuta miješanja pri 92 °C i ona označava stabilnost škrobne paste tijekom miješanja pri visokim temperaturama (Šubarić i sur., 2012.; Wu i sur., 2019.). Na **Slici 27** prikazana je vrijednost *kidanja* za native i modificirane škrobove. Kod kukuruznog, krumpirovog i tapiokinog škroba nakon primjene HVED-a došlo je do povišenja, a kod pšeničnog škroba do sniženja vrijednosti *kidanja* u odnosu na native škrob. Budući da je *kidanje* obrnuto proporcionalno stabilnosti škrobne paste, prema rezultatima dobivenim u ovom radu može se zaključiti da kukuruzni, krumpirov i tapiokin škrob nakon tretmana HVED-om pokazuju manju stabilnost paste pri miješanju na visokim temperaturama. Škrobovi koji imaju veći kapacitet bubrenja manje su otporni na *kidanje* tijekom zagrijavanja, te im se nakon postizanja maksimalne viskoznosti viskoznost značajno smanjuje (Singh i sur., 2003.) što je dokazano i u ovom radu.

Kemijska modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod kukuruznog škroba je uzrokovala veću vrijednost *kidanja*, a kod ostalih škrobova nižu vrijednost u odnosu na native škrobove. Tretman HVED-om u kombinaciji prije i nakon modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod ispitivanih škrobova rezultirao je sniženjem vrijednosti *kidanja* u odnosu na samu modifikaciju, te na taj način utjecao na veću

stabilnost paste, ali unatoč tome sniženju kod kukuruznog škroba vrijednost *kidanja* je i dalje bila viša u odnosu na nativni škrob, što je pokazatelj manje stabilnosti paste, dok je kod ostalih škrobova došlo do sniženja vrijednosti *kidanja* i u odnosu na native škrobove, što ukazuje na veću stabilnost škrobne paste.

Kemijska modifikacija s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod krumpirovog škroba uzrokovala je nižu vrijednost *kidanja*, a kod ostalih škrobova višu vrijednost u odnosu na native škrobove.

Trend povećanja vrijednosti *kidanja* u odnosu na native škrobove uočava se i kod tretmana HVED-om u kombinaciji prije i nakon  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  što indicira stvaranje manje stabilne paste na visokim temperaturama.

Na **Slici 28** prikazana je *setback* vrijednost nativnih i modificiranih vrsta škrobova. Vrijednost *setback* parametra je proporcionalna sklonosti paste retrogradaciji i izračunava se oduzimanjem vrijednosti viskoznosti pri 92 °C nakon 15 minuta miješanja od vrijednosti viskoznosti pri 50 °C. Nativni kukuruzni škrob imao je najnižu, a nativni krumpirov škrob najvišu *setback* vrijednost, te u skladu s tim pasta kukuruznog škroba pokazuje manju sklonost retrogradaciji u odnosu na krumpirov škrob. Nakon tretmana HVED-om kod kukuruznog i pšeničnog škroba porasle su *setback* vrijednosti u odnosu na native vrste škroba, te je kod tih škrobova izražena veća sklonost paste retrogradaciji. Tretman HVED-om u kombinaciji prije i nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod svih ispitivanih škrobova utjecao je na niže *setback* vrijednosti, odnosno paste su bile manje sklone retrogradaciji, dok je tretman HVED-om u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  uglavnom utjecao na veću sklonost škrobnih pasti retrogradaciji.

#### 5.4. Kapacitet bubrenja (KB) i indeks topljivosti (IT) škrobova

Kapacitet bubrenja i indeks topljivosti pokazuju međusobnu povezanost škrobnih lanaca unutar amorfnog i kristalnog dijela škroba koja je određena omjerom amiloze i amilopektina, sadržajem fosfora, njihovom konformacijom i stupnjem grananja (Vidić i sur., 2011.).

Kapacitet bubrenja (KB) i indeks topljivosti (IT) nativnih i modificiranih škrobova mjereni su pri temperaturama 65 °C; 75 °C; 85 °C i 95 °C i prikazani su na **Slikama 29 - 36**.

Kapaciteti bubrenja pri 65 °C i 75 °C nisu pokazivali značajne razlike između nativnih i škrobova tretiranih HVED-om, ali se uočava da kukuruzni i pšenični škrob imaju niže kapacitete bubrenja od krumpirovog i tapiokinog škroba što je u skladu s Li i Yeh (2001.) i Waterschoot i sur. (2015.). Kapacitet bubrenja pri 85 °C kod sva četiri ispitivana škroba viši je nakon primjene HVED-a u odnosu na native škrobove, što je u skladu i s uočenim povišenjem maksimalne viskoznosti u ovom istraživanju. Kapacitet bubrenja na 95 °C krumpirovog i tapiokinog škroba tretiranih HVED-om niži je, a pšeničnog i kukuruznog škroba viši u odnosu na native škrobove. Pšenični i kukuruzni škrob na svim mjerenim temperaturama imali su niže kapacitete bubrenja nego krumpirov i tapiokin škrob, što su utvrdili i Waterschoot i sur. (2015.).

Vrijednosti kapaciteta bubrenja i indeksa topljivosti kukuruznog i pšeničnog škroba nakon modifikacije s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  bile su više na svim mjerenim temperaturama u odnosu na native škrobove, a za krumpirov škrob vrijednosti KB i IT većinom su bile niže u odnosu na nativni škrob. Kemijska modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod škroba pšenice i kukuruza uglavnom je uzrokovala povišenje KB i IT, a kod škroba tapioke i krumpira sniženje KB i IT u odnosu na native uzorke škroba.

Tretman HVED-om u kombinaciji prije i nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod ispitivanih škrobova rezultirao je sniženjem KB i povišenjem IT u odnosu na samu kemijsku modifikaciju. Tretman HVED-om prije i nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod kukuruznog, pšeničnog i tapiokinog škroba većinom je rezultirao sniženjem KB i IT u odnosu na samu kemijsku modifikaciju, te su tako dobivene vrijednosti kod kukuruznog i pšeničnog škroba i dalje bile više u odnosu na native škrobove. Kod krumpirovog škroba tretman HVED-om u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  uzrokovao je povišenje KB i IT na gotovo svim ispitivanim temperaturama u odnosu na samu kemijsku modifikaciju.

Promatrajući kapacitet bubrenja za svaku pojedinu modifikaciju, uočava se povećanje KB s porastom temperature, što je u skladu sa Sasaki i Matsuki (1998.). Također se uočava da krumpirov i tapiokin škrob, čiji su kapaciteti bubrenja veći u odnosu na pšenični i kukuruzni škrob, imaju i veću viskoznost. Prema Wani i sur. (2012.) kapacitet bubrenja škroba obrnuto je proporcionalan udjelu amiloze, što se može zaključiti i iz rezultata dobivenih u ovom istraživanju.

## 5.5. Bistroća škrobnih pasti

Bistroća paste je važno svojstvo škroba za njegovu primjenu u prehrambenoj industriji. Prisutnost relativno kratkih lanaca amiloze i amilopektina uzrokuje manju bistroću škrobne paste, odnosno povećava neprozirnost u prehrambenim proizvodima. Za proizvode poput umaka, preljeva i pudinga to nije problem, ali voćna punjenja, nadjevi i želei zahtijevaju veću bistroću paste (Waterschoot i sur., 2015.).

Fosfatni monoesteri koji su prisutni u škrobu i vezani kovalentnim vezama s amilopektinom povećavaju bistroću paste i viskoznost, dok prisutnost fosfolipida u škrobu rezultira neprozirnim i manje viskoznim pastama. Pšenični škrob zbog većeg udjela fosfolipida formira paste manje bistroće, dok krumpirov škrob zbog većeg udjela fosfatnih monoestera rezultira stvaranjem paste veće bistroće u odnosu na druge vrste škroba (Singh i sur., 2003.).

Bistroća paste nativnih i modificiranih škrobova prikazana je na **Slici 37**.

Kod nativnih škrobova bistroća paste se kretala u rasponu od 8,31 % transmitancije (% T) za kukuruzni do 87,10 % T za krumpirov škrob. Prema Waterschoot i sur. (2015.) krumpirov škrob ima bistroću paste 42 - 96 % T, nakon čega slijedi tapiokin škrob s 51 - 81 % T i škrobovi

žitarica s trasmitancijom 13 - 62 % što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom istraživanju. Bistroća paste kukuruznog i krumpirovog škroba tretiranih HVED-om porasla je, a kod tretiranog pšeničnog i tapiokinog škroba snizila se u odnosu na native škrbove. Wongsagonsup i sur., (2014.) navode da je kod tapiokinog škroba nakon tretmana atmosferskom argon plazmom došlo do smanjenja bistroće paste i da je vjerojatan razlog tome reakcija umrežavanja do koje je došlo tijekom plazma tretmana, jer reakcija umrežavanja sprječava disocijaciju škrobnih lanaca i tako „umrežena“ škrobna pasta ima isprepletenu strukturu koja rezultira smanjenom bistroćom paste. Autori Wu i sur. (2019.) utvrdili su povećanje bistroće paste kukuruznog škroba nakon tretmana atmosferskom plazmom.

Tretman kemijskim modifikacijama s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod kukuruznog i pšeničnog škroba uzrokovao je porast bistroće paste, dok su iste modifikacije kod krumpirovog i tapiokinog škroba uzrokovale sniženje bistroće paste u odnosu na native škrbove.

Tretman HVED-om u kombinaciji s modifikacijama  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (prije i nakon kemijske modifikacije) kod kukuruznog i pšeničnog škroba rezultirao je povećanjem bistroće paste, a kod krumpirovog i tapiokinog škroba smanjenjem bistroće paste u odnosu na native škrbove. Kod svih modifikacija uočava se trend smanjenja bistroće paste krumpirovog i tapiokinog škroba, a povećanje kod kukuruznog i pšeničnog škroba u odnosu na native uzorke. Bistroća škrobne paste proporcionalna je bubrenju škrobnih granula, odnosno ukoliko je bubrenje veće, veća je i bistroća (Wani i sur., 2012.). U ovom istraživanju se može uočiti takav trend kod kukuruznog i tapiokinog škroba tretiranog HVED-om u odnosu na native škrob, dok se kod krumpirovog škroba uglavnom uočava da je bistroća paste obrnuto proporcionalna bubrenju škrobne granule. Primjena HVED-a u kombinaciji s modifikacijama  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  pokazuje da su bistroća paste i kapacitet bubrenja proporcionalni kod kukuruznog, pšeničnog i krumpirovog škroba u odnosu na samu modifikaciju, a kod tapiokinog škroba se uočava suprotan trend, odnosno niži kapacitet bubrenja škrobne granule i veća bistroća paste. Analiza korelacije za cijelu grupu ispitivanih škrbova pokazala je značajnu pozitivnu vezu bistroće sa sljedećim svojstvima: kapacitet bubrenja, indeks topljivosti, svojstva viskoznosti određena Brabenderovim mikro visko-amilografom, entalpija želatinizacije, lomljivost i adhezivnost škrobnog gela, te veličina čestica (**Prilog 2**).

## 5.6. Boja škroba

Za određivanje boje nativnih i modificiranih škrobova korišten je kromametar Konica Minolta CR-300. Mjereni su  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  parametri u CIELab sustavu, te  $C$  i  $h^\circ$  parametar u CIELCh sustavu. Rezultati mjerenja prikazani su u na **Slikama 38 i 39** i u **Tablici 2**.

$L^*$  parametar boje kreće se u rasponu od 0 do 100 pri čemu 0 označava crnu boju, a 100 bijelu boju. Na **Slici 38** prikazan je  $L^*$  parametar boje nativnih i modificiranih škrobova. U provedenom istraživanju,  $L^*$  parametar boje kod škrobova tretiranih HVED-om bio je niži u odnosu na native uzorke i kretao se u rasponu od 93,04 za tapiokin škrob do 96,54 za pšenični škrob, ali bez obzira na snižene vrijednosti nakon tretmana HVED-om, izražena je percepcija bijele boje. Nakon tretmana kemijskim modifikacijama s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod svih škrobova je došlo do sniženja vrijednosti  $L^*$  parametra u odnosu na native škrobove i tako dobivene vrijednosti kretale su se u rasponu od 92,07 za krumpirov škrob tretiran s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  do 95,30 za pšenični škrob tretiran s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  što je još uvijek predstavljalo visoke  $L^*$  vrijednosti i utjecalo na pozitivnu percepciju boje i na bjelinu škroba.

Tretman HVED-om prije i nakon kemijskih modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  nije značajno utjecao na promjenu vrijednosti  $L^*$  parametra boje u odnosu na samu kemijsku modifikaciju budući da su se  $L^*$  vrijednosti nakon kombinacije tretmana kretale u rasponu od 91,57 za kukuruzni škrob tretiran HVED-om nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  do 95,67 za pšenični škrob tretiran HVED-om nakon  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ .

Vrijednost  $a^*$  parametra boje može biti pozitivna (domena crvene boje) ili negativna (domena zelene boje). U provedenom istraživanju vrijednost  $a^*$  parametra bila je negativna i kod nativnih i kod škrobova tretiranih HVED-om, odnosno u domeni zelene boje, ali nakon HVED tretmana kod kukuruznog, krumpirovog i tapiokinog škroba vrijednosti su porasle prema nuli smanjujući na taj način udio zelene komponente koja pojačava dojam sivog.

$a^*$  parametar boje nakon kemijskih modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod krumpirovog, kukuruznog i pšeničnog škroba bio je u domeni zelene (negativne) boje kao i kod nativnih škrobova, ali su vrijednosti bile povišene u odnosu na native škrobove i približavale se nuli osim za pšenični škrob tretiran s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  gdje se  $a^*$  vrijednost smanjila, što je pojačalo utjecaj zelene boje. Kemijska modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod tapiokinog škroba uzrokovala je približavanje  $a^*$  vrijednosti nuli i prelazak u pozitivnu crvenu domenu, a modifikacija s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  je dovela do jačanja domene zelene boje ( $a^*$  vrijednost je bila niža u odnosu na nativni škrob i kretala se dalje od nule). Vrijednost  $a^*$  parametra krumpirovog škroba tretiranog HVED-om prije i nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ostala je u negativnoj domeni zelene boje, ali je vrijednost bila povišena u odnosu na samu kemijsku modifikaciju te se približavala prema nuli što je pozitivno utjecalo na percepciju boje. Kod kukuruznog, pšeničnog i tapiokinog škroba

tretman HVED-om prije i nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  utjecao je na povišenje vrijednosti  $a^*$  parametra u odnosu na samu kemijsku modifikaciju, te prelazak u pozitivnu domenu crvene boje.

Tretman HVED-om prije i nakon  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod krumpirovog i tapiokinog škroba nije utjecao na promjenu vrijednosti  $a^*$  parametra u odnosu na samu kemijsku modifikaciju, dok je kod kukuruznog i pšeničnog škroba došlo do porasta  $a^*$  vrijednosti koje su i dalje ostale u negativnoj domeni, ali su se približavale nuli čime se smanjio intenzitet zelene boje.

Vrijednost  $b^*$  parametra boje kod nativnih i kod škrobova tretiranih HVED-om bila je pozitivna (prijelaz prema žutoj boji), pri čemu je vrijednost  $b^*$  parametra kod krumpirovog i tapiokinog škroba tretiranog HVED-om bila niža, a kod pšeničnog i kukuruznog škroba viša u odnosu na vrijednosti za native škrobove. Budući da veća  $b^*$  vrijednost podrazumijeva veći udio žute komponente u ukupnoj boji, niže  $b^*$  vrijednosti pojačavaju dojam bjeline škroba (Ačkar, 2010.). Nakon tretmana kemijskim modifikacijama s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod svih škrobova je došlo do povišenja vrijednosti  $b^*$  parametra u odnosu na native škrobove, osim kod tapiokinog škroba tretiranog s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  gdje je  $b^*$  parametar bio niži u odnosu na nativni škrob. Kod svih tretiranih škrobova, uključujući i tapiokin,  $b^*$  parametar je bio u pozitivnoj žutoj domeni kao što je bio i kod nativnih škrobova. Tretman HVED-om prije i nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  utjecao je na sniženje vrijednosti  $b^*$  parametra u odnosu na samu kemijsku modifikaciju, te iako je došlo do sniženja, vrijednost  $b^*$  parametra je i dalje bila veća u odnosu na native škrobove, što je pojačalo utjecaj žute komponente u ukupnoj boji.

C parametar označava intenzitet ili zasićenost boje i kreće se u rasponu od 0 (potpuno nezasićeno) do 100 (vrlo visoko zasićenje boje). Raspon vrijednosti C parametra kod nativnih škrobova kretao se od 2,61 za krumpirov škrob do 4,38 za tapiokin škrob. Primjenom HVED tretmana kod kukuruznog škroba je došlo do povećanja vrijednosti C parametra, a kod krumpirovog, pšeničnog i tapiokinog škroba do smanjenja vrijednosti u odnosu na native škrobove, te je raspon nakon HVED tretmana bio od 2,27 za krumpirov škrob do 4,19 za tapiokin škrob što predstavlja nisko zasićenje boje. Primjenom kemijskih modifikacija  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod svih ispitivanih škrobova je došlo do povećanja vrijednosti C parametra u odnosu na native škrobove, te se raspon vrijednosti kretao od 3,08 za pšenični škrob modificiran s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  do 9,07 za kukuruzni škrob modificiran s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Tretman HVED-om prije i nakon kemijskih modifikacija uzrokovao je sniženje vrijednosti C parametra za sve škrobove u odnosu na samu kemijsku modifikaciju. Tako modificirani škrobovi imali su vrijednost C parametra u rasponu od 2,63 za krumpirov škrob tretiran HVED-om prije  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  do 7,66 za kukuruzni škrob tretiran HVED-om nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

Parametar  $h^\circ$  označava ton boje, odnosno kut promjene boje u odnosu na  $a^*$  parametar i njegove vrijednosti se mogu kretati od 0 do  $360^\circ$  pri čemu je vrijednost  $0^\circ$  crveno purpurna nijansa,  $90^\circ$  žuta nijansa,  $180^\circ$  zelena nijansa i  $270^\circ$  plava nijansa (Nedić Tiban, 2005.).

U ovom istraživanju vrijednosti  $h^\circ$  parametra za native škrobove kretale su se u rasponu od  $95,9^\circ$  (tapiokin škrob) do  $114,6^\circ$  (kukuruzni škrob) što predstavlja prijelaz od žute ka zelenoj boji. Nakon tretmana HVED-om kod kukuruznog i tapiokinog škroba došlo je do smanjenja, a kod pšeničnog i krumpirovog do povećanja vrijednosti  $h^\circ$  parametra u odnosu na native škrobove, ali su vrijednosti svih tretiranih škrobova i dalje ostale na prijelazu od žute ka zelenoj boji (raspon  $h^\circ$  parametra se kretao od  $95,06^\circ$  do  $112,26^\circ$ ) što ima povoljan utjecaj na percepciju boje i uz visoke  $L^*$  vrijednosti i niske  $C$  vrijednosti utječe na percepciju bijele boje. Ton boje ( $h^\circ$  parametar) škrobova modificiranih s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kretao se u rasponu od  $89,92^\circ$  za tapiokin škrob do  $110,73^\circ$  za pšenični škrob, a za škrobove modificirane s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  u rasponu od  $97,02^\circ$  za tapiokin škrob do  $105,25^\circ$  za krumpirov škrob, što čini prijelaz od zelene prema žutoj boji.

Ukupna promjena boje ( $\Delta E$ ) modificiranih škrobova u odnosu na native škrobove prikazana je na **Slici 39**. Kod škrobova tretiranih HVED-om do ukupne promjene boje najviše je došlo kod tapiokinog škroba gdje je  $\Delta E$  iznosila 1,40, a kod ostalih škrobova tretiranih s HVED-om  $\Delta E$  je bila u rasponu 0 - 0,5. Prema Jukić i sur. (2007.) za  $\Delta E$  u rasponu od 0 do 0,5 promjenu boje je nemoguće uočiti, a promjena boje za  $\Delta E$  0,5 – 1,5 je teško uočljiva.

Ukupna promjena boje najviše je izražena kod škrobova tretiranih s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i u kombinaciji s HVED-om prije i nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  te su se tako dobivene vrijednosti kretale u rasponu od 2,21 za tapiokin škrob do 7,17 za pšenični škrob što prema Jukić i sur. (2007) mogu uočiti trenirani senzorski analitičari ( $\Delta E = 2,21$ ) i prosječne osobe ( $\Delta E = 7,17$ ).

Ukupna promjena boje škrobova tretiranih s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  u odnosu na native, te kombinacijom HVED-a prije i nakon kemijske modifikacije kretala se u rasponu od 0,35 za tapiokin do 1,51 za pšenični škrob i to su promjene koje je nemoguće ili vrlo teško uočiti okom (Jukić i sur., 2007.). Do promjene boje škroba, naročito svjetline, moglo je doći uslijed oštećenja površina granula škroba (zabilježeno SEM-om u ovom istraživanju), uslijed čega dolazi do drugačijeg loma svjetlosti.

## 5.7. Veličina čestica škroba

Prosječna veličina čestica nativnih i modificiranih škrobova prikazana je na **Slici 40**. Kod granula nativnih škrobova ona se kretala u rasponu od  $14,68 \mu\text{m}$  (za tapiokin škrob) do  $50,78 \mu\text{m}$  (za krumpirov škrob). Krumpirov škrob koji je imao najveću prosječnu veličinu čestica imao je i najveći kapacitet bubrenja. Sasaki i Matsuki (1998.) navode da veličina čestica pšeničnog škroba nije utjecala na kapacitet bubrenja škroba.

Prema Singh i sur. (2002.) veličina granula škroba proporcionalna je s bistroćom paste, što pokazuju i rezultati dobiveni u ovom istraživanju prema kojima su bistroća paste i prosječna veličina čestica krumpirovog škroba veći u odnosu na ostale škrobove, a utvrđena je i pozitivna



korelacija između ova dva svojstva (**Prilog 2**). Prema Svihus i sur. (2005.) veličina granula škroba utječe na želatinizaciju i proporcionalna je s entalpijom želatinizacije. Rezultati mjerenja veličine čestica nativnog kukuruznog, krumpirovog i tapiokinog škroba pokazuju proporcionalnost s entalpijom želatinizacije.

Tretman HVED-om kao i kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod kukuruznog i tapiokinog škroba utjecali su na povećanje, a kod pšeničnog na smanjenje prosječne veličine čestica. Kod krumpirovog škroba tretman HVED-om i modifikacija s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  utjecali su na smanjenje, a modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  na povećanje prosječne veličine čestica u odnosu na nativni škrob. Tretman HVED-om prije i nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod pšeničnog i krumpirovog škroba rezultirao je smanjenjem, a kod kukuruznog i tapiokinog škroba povećanjem prosječne veličine čestica u odnosu sa samu kemijsku modifikaciju.

Tretman HVED-om prije i nakon  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  kod kukuruznog, pšeničnog i tapiokinog škroba rezultirao je smanjenjem, a kod krumpirovog povećanjem prosječne veličine čestica u odnosu na samu kemijsku modifikaciju.

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da u većini slučajeva tretman HVED-om kao i kombinacija HVED-a i kemijskih modifikacija kod kukuruznog i tapiokinog škroba utječu na povećanje, a kod pšeničnog i krumpirovog škroba na smanjenje prosječne veličine čestica.

## 5.8. Tekstura škrobnih gelova

Tekstura gela nativnih i modificiranih škrobova prikazana je na **Slikama 41 - 43**. Određivana je čvrstoća gela, sila pucanja i adhezija gela.

Stvaranje škrobnog gela rezultat je interakcije amiloze i amilopektina, te sposobnosti molekula amiloze da tvore „mrežu“ koja zadržava molekule vode u gelu. Škrob s većim udjelom amiloze ima sposobnost stvaranja gela veće čvrstoće (Vidić i sur., 2011.; Ai i Jane, 2015.) što je uglavnom potvrđeno i u ovom istraživanju. Čvrstoća gela nativnih škrobova kretala se u rasponu od 9,85 g (krumpirov škrob) do 11,12 g (tapiokin škrob). Čvrstoća gela kukuruznog i krumpirovog škroba nakon tretmana HVED-om bila je viša, a pšeničnog i tapiokinog škroba niža u odnosu na nativne uzorke (**Slika 41**). Čvrstoća gela kukuruznog i krumpirovog škroba porasla je nakon modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ , a tapiokinog škroba je pala u odnosu na nativni škrob. Kod pšeničnog škroba modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  uzrokovala je veću, a modifikacija s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  manju čvrstoću gela u odnosu na nativni pšenični škrob.

Tretman HVED-om prije kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod tapiokinog škroba nije utjecao na čvrstoću gela, dok je kod ostalih škrobova rezultirao padom čvrstoće gela u odnosu na samu kemijsku modifikaciju. Tretman HVED-om nakon kemijske modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod kukuruznog i pšeničnog škroba je uzrokovao porast, a kod krumpirovog i tapiokinog škroba pad čvrstoće gela u odnosu na samu kemijsku modifikaciju.

Tretman HVED-om prije modifikacije s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  uzrokovao je pad čvrstoće gela kod krumpirovog škroba, a kod ostalih škrobova porast u odnosu na samu kemijsku modifikaciju, dok je tretman HVED-om nakon  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  rezultirao porastom čvrstoće gela kod svih ispitivanih škrobova u odnosu na samu kemijsku modifikaciju.

Sila pucanja gela obrnuto je proporcionalna s elastičnošću i mekoćom gela i na nju utječe količina vezane vode u škrobnom gelu. Što je viši kapacitet bubrenja granule, veća je količina vezane vode i gel je mekši (Ačkar, 2010.). Prema rezultatima dobivenih u ovom istraživanju za native škrobove uočava se da pšenični škrob ima najvišu silu pucanja, nakon čega slijede krumpirov, kukuruzni i tapiokin škrob. Singh i sur. (2002.) utvrdili su da krumpirov gel ima višu silu pucanja od kukuruznog gela.

Sila pucanja nakon tretmana HVED-om bila je niža kod svih ispitivanih škrobova u odnosu na native škrobove (**Slika 42**). Sila pucanja se snizila kod svih ispitivanih škrobova nakon modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , te kod kukuruznog i krumpirovog škroba nakon modifikacije s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  u odnosu na native škrobove. Kod pšeničnog i tapiokinog škroba nakon modifikacije s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  došlo je do porasta sile pucanja u odnosu na native škrobove.

Tretman HVED-om prije i nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kod krumpirovog i kukuruznog škroba uzrokovao je povišenje, a kod pšeničnog i tapiokinog sniženje sile pucanja u odnosu na samu modifikaciju, ali je zadržan trend sniženja u odnosu na native škrob kod svih ispitivanih uzoraka.

Tretman HVED-om prije i nakon  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  doveo je do povišenja sile pucanja kod kukuruznog, pšeničnog i tapiokinog škroba u odnosu na samu modifikaciju i na native škrob, dok je kod krumpirovog škroba došlo do sniženja sile pucanja u odnosu na kemijsku modifikaciju i na native krumpirov škrob. (**Slika 42**).

Adhezija škrobnog gela predstavlja ljepljivost gela s kontaktnom površinom i što je vrijednost adhezije viša, materijal se više lijepi za površinu. Adhezija gela native kukuruznog i pšeničnog škroba veća je od adhezije gela krumpirovog i tapiokinog native škroba što je u skladu s Li i sur. (2014.) i Singh i sur. (2002.). Nakon tretmana HVED-om adhezija je dodatno porasla kod kukuruznog i pšeničnog škroba, a kod krumpirovog i tapiokinog škroba se smanjila u odnosu na native uzorke (**Slika 43**). Modifikacija s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  uzrokovala je porast adhezije gelova kod svih ispitivanih škrobova u odnosu na vrijednosti za native škrobove, a modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  je uzrokovala porast adhezije gela krumpirovog i tapiokinog škroba, a smanjenje adhezije gela pšeničnog i kukuruznog škroba u odnosu na native škrobove.

Tretman HVED-om prije kemijske modifikacije uzrokovao je pad adhezije gela kukuruznog, krumpirovog i pšeničnog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i kukuruznog, krumpirovog i tapiokinog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  u odnosu na samu kemijsku modifikaciju. Do porasta adhezije gela došlo je kod tapiokinog škroba u kombinaciji HVED-a prije  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i kod pšeničnog škroba u kombinaciji HVED-a prije  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ .

Tretman HVED-om nakon kemijske modifikacije uzrokovao je pad adhezije gela kukuruznog, pšeničnog i tapiokinog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i krumpirovog i tapiokinog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ . Do porasta adhezije gela došlo je kod krumpirovog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i kukuruznog i pšeničnog škroba u kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ .

Analiza korelacije pokazala je da škrobovi koji imaju veći kapacitet bubrenja i veću bistroću te veću vrijednost maksimalne viskoznosti imaju i veću adhezivnost škrobnog gela.

## 5.9. SEM analiza granula škroba

Morfologija granula nativnih i modificiranih škrobova ispitana je pomoću pretražnog (skenirajućeg) elektronskog mikroskopa i rezultati su prikazani na **Slikama 44 - 62**.

SEM analiza je pokazala da se škrobovi razlikuju po obliku i veličini granula koje mogu biti ovalne, okrugle, sferične, poliedarske, a što su utvrdili i Mishra i Rai (2006.). Granule nativnog krumpirovog škroba snimljene SEM-om pokazuju ovalne oblike, bez pora, glatku površinu i veće granule okružene s velikim broj malih granula što su utvrdili Martínez i sur. (2019.) i Puncha-arnon i sur. (2008.). Oblik granule krumpirovog škroba nakon tretmana HVED-om gotovo da nije narušen i nije došlo do značajnog oštećenja škrobne granule. Modifikacija s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  rezultirala je nakupinama na površini granule krumpirovog škroba koje su najviše izražene kod tretmana HVED-om prije  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Autori Lii i sur. (2002.) analizom morfologije krumpirovog i voštanog kukuruznog škroba tretiranih niskotlačnom plazmom zaključili su da je oksidacija na površini škrobne granule uzrokovana plazma reaktivnim vrstama rezultirala nepravilnim taloženjem na površini granule. Na površini granula krumpirovog škroba nisu bile vidljive pore, dok su na granulama voštanog kukuruza uočene pore (Lii i sur. 2002.).

Granule nativnog kukuruznog škroba pokazuju nepravilne poliedarske oblike s malim udubljenjima na površini koje se pojavljuju nakon tretmana HVED-om, a koje su postale izraženije kod tretmana HVED-om prije  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

Kod pšeničnog škroba uočavaju se ovalni, elipsoidni oblici koji su ostali nepromijenjeni nakon tretmana HVED-om. Također se uočavaju velike ovalne granule okružene malim sferičnim oblicima, što predstavlja bimodalni karakter pšeničnog škroba, koji sadrži velike (A) i male (B) granule, a što su utvrdili i Kumar i Khatkar (2017.). Nakon tretmana HVED-om u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  na površini granule pšeničnog škroba uočavaju se sitne naslage i udubljenja.

Morfologija granule tapiokinog škroba prikazuje okrugle oblike koji su ostali nepromijenjeni uslijed modifikacija. Tretman HVED-om u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  rezultirao je pojavom naslaga i oštećenja na površini granule tapiokinog škroba.

Općenito se može zaključiti da je tretman HVED-om u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  uzrokovao najveće promjene na površini škrobnih granula i promatrajući rezultate mjerenja upravo za taj tretman vidljivo je sniženje maksimalne viskoznosti kod pšeničnog, krumpirovog i tapiokinog

škroba u odnosu na samu kemijsku modifikaciju i na native uzorke. Možda su promjene u vidu naslaga na površini granule do kojih je došlo primjenom HVED tretmana spriječile bubrenje granule i utjecale na nižu viskoznost.

### 5.10. FT - IR analiza

Svaka vrsta kemijske veze ima različitu frekvenciju vibracije i infracrveni spektar nije identičan za dvije molekule. Apsorpcija pojedine vrste veze (C-H, O-H, C-O, C=O, C-C, C=C) većinom se nalazi u određenim dijelovima infracrvenog spektra i taj raspon se može definirati za svaku vrstu veze. Izvan tog raspona apsorpcije su obično rezultat neke druge vrste veze. Tako npr. svaka apsorpcija u području  $3000 \pm 150 \text{ cm}^{-1}$  se javlja zbog prisutnosti C-H veze u molekuli, apsorpcija u rasponu  $1715 \pm 100 \text{ cm}^{-1}$  označava prisutnost C=O veze u molekuli (Pavia i sur. 2009.). Područje od  $800 \text{ cm}^{-1}$  do  $1500 \text{ cm}^{-1}$  predstavlja tzv. područje otiska prsta (engl. *fingerprint region*), a u području između  $3000 \text{ cm}^{-1}$  i  $3600 \text{ cm}^{-1}$  nalazi se istezanje -OH veze (Kizil i sur. 2002.). Preklapljeni FT-IR spektri nativnih i modificiranih škrobova kukuruza, krumpira, pšenice i tapioke prikazani su **Slikama 63 - 70**.

Vrpce koje se kod nativnih i modificiranih škrobova javljaju u području od  $3272 \text{ cm}^{-1}$  do  $3295 \text{ cm}^{-1}$  karakteristične su za -OH istezanje što opisuje i Trinh (2018.), a vrpca u području  $2929 \text{ cm}^{-1}$  karakteristična je za istezanje C-H skupine glukoze što je u skladu s Pascoal i sur. (2013.). Vrpca koja se javlja na  $1341 \text{ cm}^{-1}$  kod nativnih i modificiranih škrobova ukazuje na deformaciju C-H skupine, a vrpca na  $1148 \text{ cm}^{-1}$  na istezanje C-O glikozidne veze i na savijanje -OH skupine. Vrpce na  $1074 \text{ cm}^{-1}$  i  $1020 \text{ cm}^{-1}$  rezultat su CO/CC istezanja. Vrpca koja se kod svih ispitivanih škrobova pojavljuje na  $1640 \text{ cm}^{-1}$  rezultat je apsorbirane vode u amorfnoj regiji škroba, što opisuju i Kizil i sur. (2002.) i Wang i sur., (2015.b.).

Vrpce u području od  $700 \text{ cm}^{-1}$  do  $940 \text{ cm}^{-1}$  karakteristične su za vibracije piranoznog prstena (Delval i sur., 2004.). Vrpca koja se javlja kod nativnih i modificiranih škrobova na  $928 \text{ cm}^{-1}$  rezultat je glikozidnih veza u škrobu što je u skladu s Trinh (2018.).

Prema autorima van Soest i sur. (1995.) IR spektar nativnog krumpirovog škroba pokazuje vrpce u području  $2900 - 3000 \text{ cm}^{-1}$  koje su odgovorne za istezanje C-H veze i vrpce na  $1150$ ,  $1124$  i  $1103 \text{ cm}^{-1}$  koje su odgovorne za istezanje C-O i C-C veze, a što se poklapa i s vrpcama nativnog krumpirovog škroba dobivenim u ovom istraživanju i koje se pojavljuju na  $2929 \text{ cm}^{-1}$  i na  $1148 \text{ cm}^{-1}$ . Vrpcama na  $1077$ ,  $1047$ ,  $1022$ ,  $994$  i  $928 \text{ cm}^{-1}$  pripisuje se savijanje C-OH veze, a vrpca na  $861 \text{ cm}^{-1}$  istezanje C-O-C veze i deformacija C-H veze, a što je u skladu s vrpcama dobivenim u ovom istraživanju.

Vrpca na  $1047 \text{ cm}^{-1}$  karakteristična je za kristalnu regiju škroba, a vrpca na  $1022 \text{ cm}^{-1}$  za amorfnu regiju (van Soest i sur. 1995.). Vrpce oko  $1047 \text{ cm}^{-1}$  i  $1022 \text{ cm}^{-1}$  su osjetljive na promjene u kristalnoj i amorfnoj regiji škroba i omjer apsorbanci  $1047$  i  $1022 \text{ cm}^{-1}$  se koristi za

procjenu uređenosti strukture škroba (Wang i sur. 2016.; Warren i sur. 2016.; Kumar i Khatkar. 2017.). Omjer apsorbancija za određivanje stupnja uređenosti škroba koristili su i autori Sevenou i sur., (2002). Veći omjer apsorbancija  $1047/1022\text{ cm}^{-1}$  označava veću kristaličnost, a manji omjer apsorbancija  $1022/995\text{ cm}^{-1}$  veću molekularnu uređenost dvostruke uzvojnice škrobnih granula (Wang i sur., 2015.b.).

**Tablica 3** prikazuje omjer apsorbancija dobivenih u ovom istraživanju. Sukladno omjeru apsorbancija krumpirov škrob tretiran HVED-om prije modifikacije  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  pokazuje veću kristaličnost u odnosu na nativni škrob i na sve ostale modifikacije. Kod kukuruznog škroba to je izraženo kod modifikacije s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , kod pšeničnog škroba u kombinaciji HVED-a nakon  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , a kod tapiokinog škroba najveća kristaličnost je u kombinaciji HVED prije  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . U provedenom istraživanju nisu pronađene nove funkcionalne grupe u molekuli škroba, vjerojatno zbog preklapanja spektara skupina koje sadrže fosfor sa spektrima škroba što je opisao i Trinh (2018.).

## **6. ZAKLJUČCI**

Na osnovi provedenog istraživanja, dobivenih rezultata i provedene rasprave može se zaključiti slijedeće:

- Visokonaponsko električno pražnjenje primijenjeno u uvjetima u ovom istraživanju uzrokovalo je smanjenje udjela amiloze i promjene na površinama granula škroba, koje su uočljive SEM-om.
- Udio rezstentnog škroba u ispitivanim uzorcima bio je niži nakon tretmana HVED-om u odnosu na native uzorke.
- Temperatura početka želatinizacije i temperatura vrha želatinizacije nakon tretmana HVED-om bile su niže kod svih ispitivanih uzoraka u odnosu na native uzorke.
- Primjena HVED-a uzrokovala je smanjenje entalpije želatinizacije kod svih ispitivanih škrobova izuzev tapiokinog škroba.
- Temperatura početka stvaranja paste nakon tretmana HVED-om porasla je kod krumpirovog i pšeničnog škroba, a kod kukuruznog i tapiokinog se snizila u odnosu na native škrobove.
- Maksimalna viskoznost kukuruznog, krumpirovog i tapiokinog škroba povisila se nakon tretmana HVED-om, a pšeničnog se snizila u odnosu na native škrobove.
- Tretman HVED-om uzrokovao je veću stabilnost paste pšeničnog škroba tijekom miješanja pri visokim temperaturama.
- Nakon tretmana HVED-om paste kukuruznog i pšeničnog škroba pokazivale su veću, a paste krumpirovog i tapiokinog škroba manju sklonost retrogradaciji u odnosu na native uzorke.
- Razlike u kapacitetu bubrenja između nativnih i škrobova modificiranih HVED-om uočavaju se tek pri višim temperaturama želatinizacije, dok razlike u indeksu topljivosti nema.
- Iako je došlo do određene promjene boje škrobova nakon tretmana HVED-om, bistroća je zadržana.
- Čvrstoća gela raste uslijed primjene HVED-a kod škroba krumpira i kukuruza, ali pada nakon tretmana škroba pšenice i tapioke.
- U kombinaciji s kemijskim tretmanima ispitivanim u ovom istraživanju, značajniji utjecaj HVED-a zabilježen je u kombinaciji s  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , bez obzira na redoslijed modifikacije.
- U odnosu na samu kemijsku modifikaciju, kombinacija HVED-a i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  rezultira nižim udjelom amiloze, nižom entalpijom želatinizacije, nižom viskoznošću škrobne paste, ali i nižim kapacitetom bubrenja i višim indeksom topljivosti, a značajne su

razlike i u čvrstoći i sili pucanja gela (međutim, efekt ovisi kako o tipu škroba, tako i o redosljedu modificiranja).

- Iz navedenih svojstava vidljivo je da HVED ima utjecaja na kemijsku modifikaciju, ali se radi o „sudaranju“ utjecaja umrežavanja, supstitucije i moguće depolimerizacije škrobnih lanaca.
- U kombinaciji s  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  utjecaj HVED-a nije značajno izražen u odnosu na samu kemijsku modifikaciju kod većine ispitivanih svojstava. Razlike se uočavaju u kapacitetu bubrenja na višim temperaturama, udjelu amiloze, sniženju entalpije želatinizacije, ukupnoj promjeni boje i teksturi škrobnog gela, no konkretan utjecaj ovisi o vrsti škroba i redosljedu modifikacije.
- Iz svega navedenoga može se zaključiti da HVED primijenjen u uvjetima kakvi su bili u ovom istraživanju, uzrokuje promjene na škrobnim granulama, ali one nisu značajne bilo da se radi o „poništanju“ kompetitivnih reakcija (umrežavanje i depolimerizacija), bilo da se radi o preslabom intenzitetu djelovanja samog tretmana, te je vidljivo da se HVED može primijeniti u modificiranju škroba, kako kao samostalan proces, tako i u kombinaciji s kemijskim modifikacijama. Međutim, radi se o vrlo kompleksnom procesu fizikalne i kemijske modifikacije škroba uslijed generiranja jakog električnog polja i aktivnih čestica u vodenoj suspenziji te su potrebna daljnja istraživanja s obzirom na uvjete tretiranja (vrijeme, razmak između elektroda, različita sredstava za suspendiranje, različite koncentracije i vrste škroba), kombinacije s različitim kemijskim sredstvima, a potrebna je i daljnja karakterizacija svojstava dobivenih modifikata, kako bi se dobila jasnija slika mehanizama modifikacije.



## **7. LITERATURA**

- Ačkar Đ: Izoliranje, modificiranje i karakteriziranje škroba pšenice. *Disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2010.
- Ai Y, Jane JL: Gelatinization and rheological properties of starch. *Starch/Staerke*, 67(3-4):213–224, 2015.
- Alcázar-Alay SC, Meireles MAA: Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. *Food Science and Technology* 35(2):215–236, 2015.
- Ashogbon, AO: Current research addressing physical modification of starch from various botanical sources. *Global Nutrition and Dietetics*, 1(1):1–7, 2018.
- Babić J: Utjecaj acetiliranja i dodataka na reološka i termofizikalna svojstva škroba kukuruza i tapioke. *Disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek. 2007.
- Babić J, Šubarić D, Ačkar Đ, Jozinović A, Miličević B, Pajin B, Aličić D: Primjena dodataka na bazi škroba u mesnoj industriji. *Meso*, 15(3):209–211, 2013.
- Banura S, Thirumdas R, Kaur A, Deshmukh RR, Annapure US: Modification of starch using low pressure radio frequency air plasma. *Food Science and Technology*, 89:719–724, 2018.
- Barrera GN, León AE, Ribotta PD: Use of enzymes to minimize the rheological dough problems caused by high levels of damaged starch in starch-gluten systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(7):2539–2546, 2016.
- Barrera GN, Pérez GT, Ribotta PD, León AE: Influence of damaged starch on cookie and bread-making quality. *European Food Research and Technology*, 225(1):1–7, 2007.
- Basaran P, Basaran-Akgul N, Oksuz L: Elimination of *Aspergillus parasiticus* from nut surface with low pressure cold plasma (LPCP) treatment. *Food Microbiology*, 25(4):626–632, 2008.
- BeMiller J, Whistler R: *Starch-Chemistry and Technology*. Academic Press, USA, 2009.
- BeMiller, JN: *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists, Third edit.* Elsevier Inc, USA, 2019.
- Bendichoy S, Barbosa-Canovas GV, Martin O: Milk processing by high intensity pulsed electric fields. *Trends in Food Science & Technology*, 13:195–204, 2002.
- Bertolini, AC: *Starches - Characterization, Properties, and Applications*. CRC Press, USA, 2009.
- Cappa C, Lucisano M, Barbosa-Cánovas GV, Mariotti M: Physical and structural changes induced by high pressure on corn starch, rice flour and waxy rice flour. *Food Research International*, 85:95–103, 2016.
- Chen HH, Chen YK, Chang HC: Evaluation of physicochemical properties of plasma treated brown rice. *Food Chemistry*, 135(1):74–79, 2012.
- Cheng H, Chen S, Wu Y, Ho D: Non-Thermal plasma technology for degradation of organic compounds in wastewater control: a Critical Review. *Journal of Environmental Engineering Management*, 17(6):427–433, 2007.

- Chisenga SM, Workneh TS, Bultosa G, Laing M: Characterization of physicochemical properties of starches from improved cassava varieties grown in Zambia. *AIMS Agriculture and Food*, 4(4):939–966, 2019.
- Chizoba Ekezie FG, Sun DW, Cheng JH: A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: Current applications and future trends. *Trends in Food Science and Technology*, 69:46–58, 2017.
- Clifton P, Keogh J: Starch. *Encyclopedia of Food and Health*, 146–151, 2015.
- Critzer FJ, Kelly-Wintenberg K, South SL, Golden DA: Atmospheric plasma inactivation of foodborne pathogens on fresh produce surfaces. *Journal of Food Protection*, 70(10):2290–2296, 2016.
- Cui SW: *Food Carbohydrates - Chemistry, Physical Properties, and Applications*. CRC Press, SAD, 2005.
- Dapčević-Hadnađev T: Uticaj dodatka emulgujućih skrobova na tehnološke karakteristike testa i kvalitet hleba. *Disertacija*. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2013.
- Deeyai P, Supphantharika M, Wongsagonsup R, Dangtip S: Characterization of modified tapioca starch in atmospheric argon plasma under diverse humidity by FTIR spectroscopy. *Chinese Physics Letters*, 30(1):3–6, 2013.
- Delval F, Crini G, Bertini S, Morin-Crinin N, Badot PM, Vebrel J, Torri G: Characterization of crosslinked starch materials with spectroscopic techniques. *Journal of Applied Polymer Science*, 93(6):2650–2663, 2004.
- Denyer KAY, Johnson P, Zeeman S, Smith AM: The control of amylose synthesis. *Journal of Plant Physiology*, 158(4):479–487, 2001.
- Din Z, Xiong H, Fei P: Physical and chemical modification of starches: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(12):2691–2705, 2017.
- Douzals JP, Perrier Cornet JM, Gervais P, Coquille JC: High-pressure gelatinization of wheat starch and properties of pressure-induced gels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12):4824–4829, 1998.
- Dumitriu S: *Polysaccharides-structural diversity and functional versatility*. Marcel Dekker, USA, 2005.
- Fredriksson H, Silverio J, Andersson R, Eliasson AC, Åman P: The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. *Carbohydrate Polymers*, 35(3–4):119–134, 1998.
- Fuentes-Zaragoza E, Riquelme-Navarrete MJ, Sánchez-Zapata E, Pérez-Álvarez J.A: Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43(4): 931–942, 2010.
- Gunaratne A, Corke H: Starch: Analysis of Quality. U *Encyclopedia of Food Grains Second Edition* (Wrigley CW, Corke H, Seetharaman K, Faubion J, ur.) Academic Press 202:212, 2016 .
- Gunzler H, Gremlich HU: *Uvod u infracrvenu spektroskopiju*. Školska knjiga, Zagreb, 2006.

- Gupta M, Bawa AS, Semwal AD: Morphological, thermal, pasting, and rheological properties of barley starch and their blends. *International Journal of Food Properties*, 12(3):587–604, 2009.
- Han Z, Shi R, Sun DW: Effects of novel physical processing techniques on the multi-structures of starch. *Trends in Food Science and Technology*, 97:126–135, 2020.
- Han Z, Zeng XA, Fu N, Yu SJ, Chen XD, Kennedy JF: Effects of pulsed electric field treatments on some properties of tapioca starch. *Carbohydrate Polymers*, 89(4):1012–1017, 2012.
- Han Z, Zeng XA, Yu, SJ, Zhang BS, Chen XD: Effects of pulsed electric fields (PEF) treatment on physicochemical properties of potato starch. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(4):481–485, 2009.
- Jane J: Structural features of starch granules II. U *Starch Chemistry and Technology* (BeMiller J, Whistler R, ur.). Academic Press, USA, 193-236, 2009.
- Jiang B, Li W, Shen Q, Hu X, Wu J: Effects of high hydrostatic pressure on rheological properties of rice starch. *International Journal of Food Properties*, 18(6):1334-1344, 2015.
- Jeličić I, Lisak K, Božanić R: Utjecaj hidrostatskog tlaka, ultrazvuka i pulsirajućeg električnog polja na sastojke i svojstva mlijeka. *Mljekarstvo*, 62(1):3–13, 2012.
- Jukić M, Ugarčić-Hardi Ž, Koceva Komlenić D: Colour changes of pasta produced with different supplements during drying and cooking. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 103(4):159–163, 2007.
- Jukić M, Koceva Komlenić D, Mastanjević K, Mastanjević K, Lučan, M., Popovici C, Nakov G, Lukinac J: Influence of damaged starch on the quality parameters of wheat dough and bread. *Ukrainian Food Journal*, 8(3):512–521, 2019.
- Kawai K, Fukami K, Yamamoto K: Effect of temperature on gelatinization and retrogradation in high hydrostatic pressure treatment of potato starch-water mixtures. *Carbohydrate Polymers*, 87(1):314–321, 2012.
- Kerr RW, Cleveland FC: Orthophosphate esters of starch. U.S. Patent 2 884 413, 3–5, 1959.
- Kizil R, Irudayaraj J, Seetharaman K: Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14):3912–3918, 2002.
- Kokić B: Uticaj termičkih tretmana hrane za životinje na promene skrobne komponente i svarljivost. *Disertacija*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, 2017.
- Kramar, A: Modifikovanje površine celuloznih vlakana primenom dielektričnog barijernog pražnjenja, *Disertacija*. Tehnološko metalurški fakultet, Beograd, 2015.
- Kumar R, Khatkar BS: Thermal, pasting and morphological properties of starch granules of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 54(8): 2403–2410, 2017.
- Lelas V: Nove tehnike procesiranja hrane, *Mljekarstvo*, 56(49):311–330, 2006.

- Li JY, Yeh AI: Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. *Journal of Food Engineering*, 50(3):141–148, 2001.
- Li S, Zhang Y, Wei Y, Zhang W, Zhang B: Thermal, pasting and gel textural properties of commercial starches from different botanical sources. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 4(4), 2014. DOI: [10.4172/2155-9821.1000161](https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000161) [5.2.2019.]
- Lii C, Liao C, Stobinski L, Tomasik P: Behaviour of granular starches in low-pressure glow plasma. *Carbohydrate Polymers*, 49:499–507, 2002.
- Lim S, Seib PA: Preparation and Pasting Properties of Wheat and Corn Starch Phosphates'. *Cereal Chemistry*, 70(2):137–144, 1973.
- Liu H, Xie F, Chen L, Yu L, Dean K, Bateman S: Thermal Behaviour of High Amylose Cornstarch Studied by DSC. *International Journal of Food Engineering*, 1(1), 2005. dostupno na DOI: [10.2202/1556-3758.1004](https://doi.org/10.2202/1556-3758.1004) [31.1.2019.]
- Luo Z, Fu X, He X, Luo F, Gao Q, Yu S: Effect of ultrasonic treatment on the physicochemical properties of maize starches differing in amylose content. *Starch/Staerke*, 60(11):646–653, 2008.
- Ljubić Herceg I, Šubarić D, Babić J, Herceg Z: Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na reološka i pastozna svojstva škroba pšenice. *Croatia Journal of Food Science and Technology*, 2(1):1–8, 2010.
- Martínez P, Peña F, Bello-Pérez LA, Núñez-Santiago C, Yee-Madeira H, Velezmoro C: Physicochemical, functional and morphological characterization of starches isolated from three native potatoes of the Andean region. *Food Chemistry*, 10 (2) 100030, 2019.
- Mehrotra R: Infrared Spectroscopy, Gas Chromatography/Infrared in Food Analysis. U *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, 2000, John Wiley & Sons, Ltd., 2006.
- Mishra S, Rai T: Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. *Food Hydrocolloids*, 20(5):557–566, 2006.
- Misra NN, Schluter OK, Cullen PJ: Plasma in food and agriculture. U *Cold Plasma in Food and Agriculture* (Misra NN, Schluter O, Cullen PJ, ur.). Academic Press, USA, 1-16, 2016.
- Misra, NN, Tiwari BK, Raghavarao KSMS, Cullen PJ: Nonthermal Plasma Inactivation of Food-Borne Pathogens. *Food Engineering Reviews*, 3(3–4):159–170, 2011.
- Nedić Tiban N: Primjena diferencijalne motridbene kalorimetrije za utvrđivanje patvorenja meda. *Disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2005.
- Nemtanu MR, Minea R: Functional properties of corn starch treated with corona electrical discharges. *Macromolecular Symposia*, 245–246:525–528, 2006.
- Niemira BA, Sites J: Cold plasma inactivates Salmonella Stanley and Escherichia coli O157:H7 inoculated on golden delicious apples. *Journal of Food Protection*, 71(7):1357-1365, 2008.
- Ogotu FO: Ultrasonic Modification of Selected Polysaccharides-Review. *Journal of Food Processing & Technology*, 6(5), 2015. DOI: [10.4172/2157-7110.1000446](https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000446) [14.2.2019.]

- Pascoal AM, Di-Medeiros MCB, Batista KA, Leles MIG, Lião LM, Fernandes KF: Extraction and chemical characterization of starch from *S. lycocarpum* fruits. *Carbohydrate Polymers*, 98(2):1304–1310, 2013.
- Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS, Vyvyan JR: Introduction to Spectroscopy. Brooks/Cole, USA, 2009.
- Pei-Ling L, Xiao-Song H, Qun S: Effect of high hydrostatic pressure on starches: A review. *Starch/Staerke*, 62(12):615–628, 2010.
- Prasanthi NL, Rama Rao, N: A novel pharmaceutical excipient for tablet formulation journal of pharmacy research. *Starch Phosphate*, 3(12):2919–2923, 2010.
- Puncha-arnon S, Pathipanawat W, Puttanlek C, Rungsardthong V, Uttapap D: Effects of relative granule size and gelatinization temperature on paste and gel properties of starch blends. *Food Research International*, 41(5):552–561, 2008.
- Pycia K, Gałkowska D, Juszczak L, Fortuna T, Witczak T: Physicochemical, thermal and rheological properties of starches isolated from malting barley varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 52(8):4797–4807, 2015.
- Ranum P, Peña-Rosas JP, Garcia-Casal MN: Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1312:105–112, 2014.
- Ratnayake WS, Jackson DS: Gelatinization and solubility of corn starch during heating in excess water: New insights. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(10):3712–3716, 2006.
- Razić SE, Čunko R: Modifikacija svojstava tekstilija primjenom plazme. *Tekstil*, 58(3):55–74, 2009.
- Rodríguez-Sandoval E, Fernández-Quintero A, Cuvelier G, Relkin P, Bello-Pérez LA: Starch retrogradation in cassava flour from cooked parenchyma. *Starch/Staerke*, 60(3–4): 174–180, 2008.
- Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR: Resistant Starch— A Review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 5:1-17, 2006.
- Sasaki T, Matsuki J: Effect of Wheat Starch Structure on Swelling Effect of Wheat Starch Structure on Swelling Power. *Cereal Chemistry*, 75(4):525–529, 1998.
- Sasaki, T, Yasui T, Matsuki J: Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation, and pasting properties of starches from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. *Cereal Chemistry*, 77(1):58–63, 2000.
- Sevenou O, Hill SE, Farhat IA, Mitchell JR: Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 31(1–3):79–85, 2002.
- Shevkani K, Singh N, Bajaj R, Kaur A: Wheat starch production, structure, functionality and applications—a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(1): 38–58, 2017.

- Singh N, Kaur A, Shevkani K, Ezekiel R: Potato: Production, composition and starch processing. U *Advances in Food Science and Nutrition* (Visakh PM, Iturriaga LB, Ribotta PD, ur.). Wiley, SAD, 23–48, 2014.
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, N. S., & Gill, B. S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, 81(2), 219–231.
- Singh N, Singh J, Sodhi NS: Morphological, thermal, rheological and noodle-making properties of potato and corn starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(12):1376–1383, 2002.
- Stephen AM, Phillips GO, Williams PA: *Food polysaccharides and their applications*. CRC Taylor & Francis Group Boca Raton, New York, 2006.
- Sung JH, Park DP, Park BJ, Choi HJ, Jhon MS: Phosphorylation of potato starch and its electrorheological suspension. *Biomacromolecules*, 6:2182–2188, 2005.
- Svihus B, Uhlen AK, Harstad OM: Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 122(3–4):303–320, 2005.
- Šubarić D, Babić J, Ačkar Đ: Modificiranje škroba radi proširenja primjene. *Radovi Zavoda za znanstveni i umjetnički rad u Požezi*, 1:247–258, 2012.
- Tester RF, Karkalas J, Qi X: Starch - Composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2):151–165, 2004.
- Tester RF, Morrison WR: Swelling and gelatinization of cereal starches.I. Effects of amylopectin, amylose and lipids. *Cereal Chemistry*, 67(6):551-557, 1990.
- Thirumdas R, Kadam D, Annapure US: Cold Plasma: an Alternative Technology for the Starch Modification. *Food Biophysics*, 12(1):129–139, 2017.a.
- Thirumdas R, Trimukhe A, Deshmukh RR, Annapure US: Functional and rheological properties of cold plasma treated rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 157:1723–1731, 2017.b.
- Trinh KS: Formation of boiling-stable resistant cassava starch using the atmospheric argon-plasma treatment. *Journal of Bioenergy and Food Science*, 5(3):97–105, 2018.
- Vanraes P, Nikiforov AY, Leys C: *Electrical discharge in water treatment technology for micropollutant decomposition*. U *Plasma Science and Technology* (Mieno T, ur.). IntechOpen, London, 2016. DOI: 10.5772/61830 [09.03.2020.].
- van Soest JJG, Tournois H, Wit D, Vliegthart JFG: Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 279:201–214, 1995.
- Vidić B, Vukušić T, Herceg Ljubić I, Šubarić D, Ačka Đ: Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na fizikalna i teksturalna svojstva suspenzija škroba pšenice. *Hrvatski časopis za prehranbeno tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, 6:134–140, 2011.
- Vukušić T: Primjena hladne plazme pri obradi voćnih sokova. *Disertacija*. Prehranbeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2016.

- Wang Q, Li L, Zheng X: A review of milling damaged starch: Generation, measurement, functionality and its effect on starch-based food systems. *Food Chemistry*, 315: 126267, 2020.
- Wang RX, Nian WF, Wu HY, Feng HQ, Zhang K, Zhang J, Zhu WD, Becker KH, Fang J: Atmospheric-pressure cold plasma treatment of contaminated fresh fruit and vegetable slices: Inactivation and physicochemical properties evaluation. *European Physical Journal D*, 66(10), 2012.
- Wang S, Li C, Copeland L, Niu Q, Wang S: Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5):568–585, 2015.a.
- Wang S, Wang J, Zhang W, Li C, Yu J, Wang S: Molecular order and functional properties of starches from three waxy wheat varieties grown in China. *Food Chemistry*, 181:43–50, 2015.b.
- Wang S, Zhang X, Wang S, Copeland L: Changes of multi-scale structure during mimicked DSC heating reveal the nature of starch gelatinization. *Scientific Reports*, 6:1–9, 2016.
- Wani AA, Singh P, Shah MA, Schweiggert-Weisz U, Gul K, Wani IA: Rice Starch Diversity: Effects on Structural, Morphological, Thermal, and Physicochemical Properties-A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(5):417–436, 2012.
- Warren FJ, Gidley MJ, Flanagan BM: Infrared spectroscopy as a tool to characterise starch ordered structure - A joint FTIR-ATR, NMR, XRD and DSC study. *Carbohydrate Polymers*, 139:35–42, 2016.
- Waterschoot J, Gomand SV, Fierens E, Delcour JA: Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. *Starch/Staerke*, 67(1–2):14–29, 2015.
- Web 1 <http://www.pirx.com/droplet/micro/starch1.html> [18.12.2019.]
- Web 2 <http://chemistry.elmhurst.edu/vchembook/548starchiodine.html> [15.01.2020.]
- Wongsagonsup R, Deeyai P, Chaiwat W, Horrungsawat S, Leejariensuk K, Suphantharika M, Fuongfuchat A, Dangtip S: Modification of tapioca starch by non-chemical route using jet atmospheric argon plasma. *Carbohydrate Polymers*, 102(1):790–798
- Wu TY, Sun NN, Chau CF: Application of corona electrical discharge plasma on modifying the physicochemical properties of banana starch indigenous to Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(1):244–251, 2018.
- Wu TY, Chang CR, Chang TJ, Chang YJ, Liew Y, Chau CF: Changes in physicochemical properties of corn starch upon modifications by atmospheric pressure plasma jet. *Food Chemistry*, 283:46–51, 2019.
- Yamamoto K, Buckow R: Pressure Gelatinization of Starch. U *Food, Special Issue* 1:57–66, 2009.
- Zavareze EDR, Dias ARG: Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 83(2):317–328, 2011.



- Zhou X, Wang R, Yoo SH, Lim ST: Water effect on the interaction between amylose and amylopectin during retrogradation. *Carbohydrate Polymers*, 86(4):1671–1674., 2011.
- Zhou Y, Yan Y, Shi M, Liu Y: Effect of an atmospheric pressure plasma jet on the structure and physicochemical properties of waxy and normal maize starch. *Polymers*, 11(1): 8, 2018.
- Zhu F: Impact of ultrasound on structure, physicochemical properties, modifications, and applications of starch. *Trends in Food Science and Technology*, 43(1):1–17, 2015.

## **8. PRILOZI**

**Prilog 1** Svojstva nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

	RS [% s, tv.]	OS [% s, tv.]	UA [% s, tv.]	t <sub>0</sub> [°C]	t <sub>p</sub> [°C]	t <sub>e</sub> [°C]
Nativni	21,93 ± 32,37 <sup>a</sup>	1,24 ± 1,10 <sup>a</sup>	15,76 ± 3,24 <sup>a</sup>	60,38 ± 4,47 <sup>a</sup>	65,86 ± 4,91 <sup>a</sup>	71,03 ± 6,37 <sup>a</sup>
HVED	19,27 ± 33,48 <sup>b</sup>	0,50 ± 0,42 <sup>b</sup>	13,71 ± 2,92 <sup>b</sup>	59,71 ± 4,2 <sup>b</sup>	64,69 ± 4,80 <sup>b</sup>	70,38 ± 5,73 <sup>a</sup>
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	9,71 ± 16,46 <sup>a</sup>	0,56 ± 0,32 <sup>a</sup>	12,84 ± 4,53 <sup>a</sup>	57,72 ± 4,78 <sup>a</sup>	62,99 ± 5,69 <sup>a</sup>	68,51 ± 6,44 <sup>a</sup>
HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	10,68 ± 18,41 <sup>a</sup>	0,59 ± 0,28 <sup>a</sup>	13,43 ± 5,03 <sup>a</sup>	57,32 ± 5,34 <sup>a</sup>	62,59 ± 5,89 <sup>b</sup>	68,21 ± 6,57 <sup>b</sup>
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED	14,73 ± 21,79 <sup>a</sup>	0,59 ± 0,36 <sup>a</sup>	12,91 ± 3,86 <sup>a</sup>	57,64 ± 5,01 <sup>b</sup>	62,8 ± 5,66 <sup>b</sup>	68,20 ± 6,43 <sup>b</sup>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	12,87 ± 23,08 <sup>a</sup>	0,47 ± 0,30 <sup>a</sup>	13,5 ± 3,89 <sup>a</sup>	60,88 ± 6,55 <sup>a</sup>	66,04 ± 6,57 <sup>a</sup>	71,53 ± 7,00 <sup>a</sup>
HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	13,06 ± 19,54 <sup>a</sup>	0,33 ± 0,25 <sup>b</sup>	12,84 ± 2,52 <sup>a</sup>	62,34 ± 6,64 <sup>b</sup>	67,7 ± 6,75 <sup>b</sup>	72,88 ± 7,24 <sup>b</sup>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED	3,67 ± 4,38 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,21 <sup>b</sup>	14,21 ± 2,90 <sup>a</sup>	62,21 ± 6,63 <sup>b</sup>	67,49 ± 6,84 <sup>b</sup>	72,88 ± 7,18 <sup>b</sup>
	$\Delta H$ [J/g]	TP [°C]	MV [BU]	Visk.92 °C [BU]	Visk.mij.92 °C [BU]	Visk.50 °C [BU]
Nativni	13,10 ± 3,77 <sup>a</sup>	66,44 ± 6,09 <sup>a</sup>	717,62 ± 637,39 <sup>a</sup>	412,88 ± 198,28 <sup>a</sup>	280,38 ± 158,51 <sup>a</sup>	614,25 ± 363,52 <sup>a</sup>
HVED	13,76 ± 3,44 <sup>a</sup>	66,69 ± 4,85 <sup>a</sup>	740,75 ± 643,15 <sup>a</sup>	422,75 ± 181,06 <sup>a</sup>	287,38 ± 159,93 <sup>b</sup>	627,00 ± 354,85 <sup>a</sup>
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	12,77 ± 2,8 <sup>a</sup>	63,03 ± 4,99 <sup>a</sup>	869,12 ± 455,85 <sup>a</sup>	584,38 ± 191,56 <sup>a</sup>	361,75 ± 97,17 <sup>a</sup>	658,62 ± 160,55 <sup>a</sup>
HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	12,60 ± 2,86 <sup>a</sup>	62,94 ± 5,3 <sup>a</sup>	943,88 ± 568,31 <sup>a</sup>	588,12 ± 164,14 <sup>b</sup>	367,62 ± 91,21 <sup>b</sup>	670,50 ± 134,15 <sup>a</sup>
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED	12,66 ± 2,68 <sup>b</sup>	64,04 ± 4,86 <sup>a</sup>	931,62 ± 655,51 <sup>b</sup>	565,62 ± 200,67 <sup>a</sup>	349,38 ± 95,85 <sup>a</sup>	653,62 ± 138,75 <sup>a</sup>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	11,85 ± 2,24 <sup>a</sup>	66,46 ± 6,22 <sup>a</sup>	464,75 ± 197,99 <sup>a</sup>	377,75 ± 139,61 <sup>a</sup>	201,75 ± 51,87 <sup>a</sup>	390,75 ± 93,98 <sup>a</sup>
HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	10,80 ± 2,25 <sup>b</sup>	68,14 ± 6,39 <sup>b</sup>	385,00 ± 157,13 <sup>b</sup>	324,75 ± 135,53 <sup>b</sup>	162,88 ± 54,58 <sup>b</sup>	307,38 ± 101,55 <sup>b</sup>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED	11,06 ± 2,08 <sup>b</sup>	68,17 ± 6,02 <sup>b</sup>	402,75 ± 170,04 <sup>b</sup>	344,38 ± 149,22 <sup>b</sup>	179,12 ± 63,61 <sup>b</sup>	339,12 ± 120,88 <sup>b</sup>
	Visk.mij.50°C [BU]	BD	SB	VC [µm]		
Nativni	537,75 ± 320,54 <sup>a</sup>	437,12 ± 486,73 <sup>a</sup>	333,88 ± 205,65 <sup>a</sup>	25,71 ± 17,14 <sup>a</sup>		
HVED	551,50 ± 301,68 <sup>a</sup>	453,12 ± 491,79 <sup>a</sup>	339,62 ± 195,60 <sup>a</sup>	26,96 ± 14,78 <sup>a</sup>		
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	552,88 ± 123,44 <sup>a</sup>	506,62 ± 368,70 <sup>a</sup>	296,88 ± 70,89 <sup>a</sup>	26,5 ± 16,18 <sup>a</sup>		
HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	560,88 ± 109,61 <sup>a</sup>	575,00 ± 484,62 <sup>a</sup>	302,88 ± 47,76 <sup>a</sup>	26,42 ± 16,83 <sup>a</sup>		
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ +HVED	551,00 ± 126,84 <sup>a</sup>	582,00 ± 569,87 <sup>b</sup>	304,25 ± 46,56 <sup>a</sup>	26,95 ± 17,67 <sup>a</sup>		
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	334,50 ± 51,25 <sup>a</sup>	262,88 ± 154,33 <sup>a</sup>	189,00 ± 43,09 <sup>a</sup>	28,09 ± 17,78 <sup>a</sup>		
HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	267,00 ± 70,15 <sup>b</sup>	221,75 ± 108,52 <sup>b</sup>	144,50 ± 47,25 <sup>b</sup>	27,79 ± 15,31 <sup>a</sup>		
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED	293,38 ± 84,66 <sup>b</sup>	223,25 ± 117,31 <sup>b</sup>	160,00 ± 58,006 <sup>b</sup>	27,84 ± 16,32 <sup>a</sup>		

srednja vrijednost ± standardna devijacija (n=4)

\*\*vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (indeksima) su statistički značajno različite prema bootstrap testu o jednakosti očekivanja za sparene uzorke uz 9999 ponavljanja (p ≤ 0,05)

**Prilog 1** Svojstva nativnih škrobova, škrobova modificiranih HVED-om i škrobova modificiranih  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  sa i bez primjene HVED-a

	KB 65 °C [g/g]	KB 75 °C [g/g]	KB 85 °C [g/g]	KB 95 °C [g/g]	IT 65 °C [g/g]	IT 75 °C [g/g]
Nativni	12,32 ± 11,05 <sup>a</sup>	18,44 ± 16,87 <sup>a</sup>	10,20 ± 3,46 <sup>a</sup>	19,56 ± 11,17 <sup>a</sup>	10,36 ± 6,40 <sup>a</sup>	25,06 ± 18,14 <sup>a</sup>
HVED	11,82 ± 10,95 <sup>b</sup>	18,38 ± 16,62 <sup>a</sup>	11,48 ± 4,26 <sup>b</sup>	11,29 ± 3,19 <sup>b</sup>	10,14 ± 7,66 <sup>a</sup>	28,25 ± 22,35 <sup>b</sup>
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	16,22 ± 10,55 <sup>a</sup>	22,95 ± 9,48 <sup>a</sup>	29,14 ± 8,11 <sup>a</sup>	24,79 ± 5,09 <sup>a</sup>	11,31 ± 7,69 <sup>a</sup>	20,99 ± 12,99 <sup>a</sup>
HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	15,96 ± 10,01 <sup>b</sup>	23,61 ± 10,26 <sup>a</sup>	25,67 ± 6,02 <sup>a</sup>	27,46 ± 3,49 <sup>a</sup>	11,64 ± 8,34 <sup>a</sup>	21,78 ± 12,45 <sup>a</sup>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	13,59 ± 9,14 <sup>a</sup>	21,28 ± 11,44 <sup>a</sup>	27,41 ± 10,58 <sup>b</sup>	29,64 ± 8,50 <sup>a</sup>	10,71 ± 7,43 <sup>a</sup>	20,69 ± 12,10 <sup>a</sup>
HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	8,16 ± 4,28 <sup>a</sup>	12,22 ± 4,9 <sup>a</sup>	13,69 ± 4,86 <sup>a</sup>	16,01 ± 5,90 <sup>a</sup>	13,81 ± 5,68 <sup>a</sup>	23,62 ± 8,43 <sup>a</sup>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED	6,55 ± 3,47 <sup>b</sup>	10,21 ± 4,62 <sup>b</sup>	11,31 ± 4,40 <sup>b</sup>	11,59 ± 2,81 <sup>b</sup>	17,00 ± 4,03 <sup>b</sup>	25,69 ± 7,11 <sup>b</sup>
	6,50 ± 3,32 <sup>b</sup>	9,68 ± 5,85 <sup>b</sup>	11,28 ± 5,25 <sup>b</sup>	13,04 ± 4,10 <sup>b</sup>	16,96 ± 3,77 <sup>b</sup>	26,84 ± 8,16 <sup>b</sup>
	IT 85 °C [g/g]	IT 95 °C [g/g]	BIS	L*	a*	b*
Nativni	52,35 ± 43,87 <sup>a</sup>	65,70 ± 33,00 <sup>a</sup>	38,21 ± 37,75 <sup>a</sup>	95,32 ± 0,96 <sup>a</sup>	-0,93 ± 0,43 <sup>a</sup>	3,12 ± 0,92 <sup>a</sup>
HVED	51,34 ± 42,83 <sup>b</sup>	67,17 ± 33,84 <sup>b</sup>	37,04 ± 39,12 <sup>a</sup>	94,78 ± 1,43 <sup>b</sup>	-0,88 ± 0,43 <sup>b</sup>	3,00 ± 1,00 <sup>b</sup>
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	34,94 ± 14,72 <sup>a</sup>	66,15 ± 22,89 <sup>a</sup>	34,44 ± 21,35 <sup>a</sup>	94,69 ± 0,45 <sup>a</sup>	-0,78 ± 0,26 <sup>a</sup>	3,59 ± 0,66 <sup>a</sup>
HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	43,37 ± 24,44 <sup>a</sup>	66,02 ± 21,94 <sup>a</sup>	37,49 ± 30,47 <sup>a</sup>	94,83 ± 0,62 <sup>b</sup>	-0,82 ± 0,26 <sup>b</sup>	3,51 ± 0,71 <sup>b</sup>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	35,29 ± 16,29 <sup>a</sup>	62,98 ± 24,09 <sup>a</sup>	36,69 ± 32,95 <sup>a</sup>	94,78 ± 0,61 <sup>b</sup>	-0,80 ± 0,27 <sup>b</sup>	3,38 ± 0,78 <sup>b</sup>
HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	32,57 ± 10,88 <sup>a</sup>	46,85 ± 8,8 <sup>a</sup>	19,46 ± 9,45 <sup>a</sup>	92,36 ± 0,35 <sup>a</sup>	-0,75 ± 0,67 <sup>a</sup>	7,49 ± 1,52 <sup>a</sup>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED	35,43 ± 11,71 <sup>b</sup>	50,49 ± 14,98 <sup>a</sup>	17,99 ± 9,19 <sup>b</sup>	92,48 ± 0,56 <sup>b</sup>	-0,02 ± 0,42 <sup>a</sup>	6,30 ± 0,80 <sup>b</sup>
	34,66 ± 10,78 <sup>b</sup>	49,74 ± 12,07 <sup>b</sup>	18,66 ± 9,26 <sup>a</sup>	92,45 ± 0,61 <sup>b</sup>	0,03 ± 0,45 <sup>a</sup>	6,37 ± 0,95 <sup>b</sup>
	C	h°	$\Delta E$	CG [g]	SP [g]	AG [g/s]
Nativni	3,28 ± 0,88 <sup>a</sup>	107,78 ± 8,19 <sup>a</sup>	0 ± 0 <sup>a</sup>	10,44 ± 0,66 <sup>a</sup>	713,67 ± 248,56 <sup>a</sup>	337,50 ± 298,21 <sup>a</sup>
HVED	3,15 ± 0,97 <sup>b</sup>	107,66 ± 8,41 <sup>b</sup>	0,62 ± 0,54 <sup>b</sup>	10,64 ± 0,45 <sup>a</sup>	664,63 ± 269,82 <sup>b</sup>	360,50 ± 348,55 <sup>a</sup>
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	3,68 ± 0,67 <sup>a</sup>	102,44 ± 3,74 <sup>a</sup>	0,99 ± 0,52 <sup>a</sup>	10,35 ± 0,79 <sup>a</sup>	727,82 ± 254,87 <sup>a</sup>	441,12 ± 321,06 <sup>a</sup>
HVED+ $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	3,62 ± 0,70 <sup>b</sup>	103,48 ± 4,33 <sup>b</sup>	0,84 ± 0,41 <sup>b</sup>	11,42 ± 0,43 <sup>a</sup>	780,35 ± 293,74 <sup>a</sup>	502,31 ± 450,08 <sup>a</sup>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	3,48 ± 0,78 <sup>b</sup>	103,83 ± 4,83 <sup>b</sup>	0,80 ± 0,44 <sup>b</sup>	10,59 ± 0,92 <sup>b</sup>	799,31 ± 274,10 <sup>a</sup>	400,67 ± 336,45 <sup>a</sup>
HVED+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	7,55 ± 1,57 <sup>a</sup>	95,03 ± 4,31 <sup>a</sup>	5,37 ± 2,18 <sup>a</sup>	10,62 ± 0,46 <sup>a</sup>	426,76 ± 252,81 <sup>a</sup>	353,38 ± 270,25 <sup>a</sup>
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ +HVED	6,32 ± 0,79 <sup>b</sup>	90,32 ± 3,93 <sup>b</sup>	4,36 ± 1,58 <sup>b</sup>	10,33 ± 0,42 <sup>b</sup>	401,92 ± 130,29 <sup>a</sup>	326,87 ± 228,91 <sup>a</sup>
	6,39 ± 0,95 <sup>b</sup>	89,94 ± 4,08 <sup>b</sup>	4,51 ± 1,66 <sup>b</sup>	10,66 ± 1,00 <sup>a</sup>	422,66 ± 147,95 <sup>a</sup>	335,97 ± 249,95 <sup>a</sup>

srednja vrijednost ± standardna devijacija (n=4)

\*\*vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (indeksima) su statistički značajno različite prema bootstrap testu o jednakosti očekivanja za sparene uzorke uz 9999 ponavljanja ( $p \leq 0,05$ )

