

# **Upotreba različitih otopina u određivanju broja padanja prema Hagberg-Pertenu**

---

**Ivanković, Ana**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*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:109:642138>*

*Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International / Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)*

*Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-07***

**REPOZITORIJ**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**Ana Ivanković**

**Upotreba različitih otopina u određivanju broja padanja  
prema Hagberg-Pertenu**

**DIPLOMSKI RAD**

**Osijek, rujan, 2021.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**

**Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

**Zavod za prehrambene tehnologije**

**Katedra za tehnologije prerađe žitarica**

Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

**Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo**

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Nastavni predmet:** Skladištenje žitarica i proizvodnja brašna

**Tema rada** je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća  
Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2019./2020.  
održanoj 24.-25. lipnja 2020.

**Mentor:** prof. dr. sc. *Marko Jukić*

**Pomoć pri izradi:**

### **UPOTREBA RAZLIČITIH OTOPINA U ODREĐIVANJU BROJA PADANJA PREMA HAGBERG-PERTENU**

Ana Ivanković, 0113136466

**Sažetak:** Zadatak ovog rada bio je ispitati utjecaj primjene otopine natrijevog karbonata i mlječne kiseline u određivanju broja padanja po Hagberg-Pertenu na uzorcima pšeničnog brašna te odrediti razlike u dobivenim rezultatima u odnosu na standardno određivanje s demineraliziranom vodom. Osim toga, kako bi se utvrdila eventualna međuvisnost, provedena je usporedba dobivenih rezultata broja padanja s udjelima proteina, vlažnog i suhog glutena te rezultatima određivanja retencijske sposobnosti brašna i reološkim ispitivanjima na farinografu, ekstenzografu i amilografu.

Na temelju provedenih ispitivanja može se zaključiti da se modifikacijom standardne metode za određivanje broja padanja, na način da se deionizirana voda zamjeni otopinama mlječne kiseline i natrijevog karbonata, mogu dobiti vrlo korisne informacije o kvaliteti analiziranog pšeničnog brašna. Dodatkom mlječne kiseline broj padanja se značajno smanjio uslijed kiselinske hidrolize škroba, a istovremeno su se inaktivirali amilolitički enzimi, što omogućava bolju procjenu kvalitete proteinske komponente brašna. Dodatkom otopine natrijevog karbonata povećao se broj padanja uslijed pojačanog bubrenja škrobnih granula

S obzirom na kratko vrijeme trajanja i jednostavnost analize, metoda određivanja broja padanja s otopinom mlječne kiseline može se uspješno koristiti za predviđanje udjela proteina i glutena te pojedinih farinografskih i ekstenzografskih pokazatelja kvalitete brašna.

**Ključne riječi:** pšenično brašno, broj padanja, sposobnost zadržavanja otapala

**Rad sadrži:**  
33 stranica  
4 slike  
13 tablica  
20 literturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

### **Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Daliborka Koceva Komlenić</i>  | predsjednik   |
| 2. prof. dr. sc. <i>Marko Jukić</i>                | član-mentor   |
| 3. izv. prof. dr. sc. <i>Jasmina Lukinac Čaćić</i> | član          |
| 4. doc. prof. dr. sc. <i>Kristina Mastanjević</i>  | zamjena člana |

**Datum obrane:** 30. rujna 2021.

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

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

### Graduate program Food Engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Cereal storage and flour production

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VIII held on June 24-25, 2020

**Mentor:** *Marko Jukić*, PhD, full prof.

### Technical assistance:

### THE USE OF DIFFERENT SOLUTIONS IN THE DETERMINATION OF THE HAGBERG-PERTEN FALLING NUMBER

Ana Ivanković, 0113136466

**Summary:** The aim of this research was to examine the influence of the use of sodium carbonate solution and lactic acid solution in determining the Hagberg-Perten falling number of wheat flour samples and to determine differences in obtained results in relation to the standard determination with demineralised water. In addition, in order to evaluate possible correlations, the results of falling number determination were compared with the protein content, wet and dry gluten content, as well as with the solvent retention capacity of flour and rheological tests (farinograph, extensograph and amylograph).

Based on the research results, it can be concluded that modification of the standard falling number method by substituting deionised water with solutions of lactic acid and sodium carbonate may provide very useful information on the quality of the analyzed wheat flour. The addition of lactic acid significantly reduced the falling number due to acid hydrolysis of starch, while at the same time amylolytic enzymes were inactivated, which enables better evaluation of the quality of the protein component of flour. The addition of sodium carbonate solution increased the falling number due to an increased swelling of starch granules.

Given the short duration and simplicity of analysis, the falling number method with lactic acid solution can be successfully used to predict protein and gluten content, as well as individual farinographic and extensographic indicators of flour quality.

**Key words:** barley, quality, physicochemical properties, digital image analysis of barley grain

**Thesis contains:** 33 pages

4 figures

13 tables

20 references

**Original in:** Croatian

### Defense committee:

1. *Daliborka Koceva Komlenić*, PhD, full prof.
2. *Marko Jukić*, PhD, full prof.
3. *Jasmina Lukinac Čačić*, PhD, associate prof.
4. *Kristina Mastanjević*, PhD, assistant prof.

chair person

member-supervisor

member

stand-in

**Defense date:** September 30, 2021

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

## **Sadržaj**

1.	UVOD .....	1
2.	TEORIJSKI DIO .....	1
2.1.	PŠENICA .....	2
2.1.1.	Ugljikohidrati.....	3
2.1.2.	Proteini.....	4
2.1.3.	Lipidi .....	4
2.1.4.	Enzimi .....	4
2.1.5.	Mineralne tvari.....	5
2.2.	REOLOŠKA SVOJSTVA TIJESTA.....	5
2.2.1.	Farinograf.....	5
2.2.2.	Ekstenzograf.....	7
2.2.3.	Amilograf.....	8
2.2.4.	Broj padanja .....	9
2.3.	RETENCIJSKA SPOSOBNOST BRAŠNA PREMA OTAPALIMA (SRC) .....	10
3.	EKSPERIMENTALNI DIO.....	13
3.1.	Zadatak .....	14
3.2.	Materijali.....	14
3.3.	Metode .....	14
3.3.1.	Određivanje udjela proteina i glutena.....	14
3.3.2.	Određivanje reoloških svojstava .....	14
3.3.3.	Određivanje retencijske sposobnosti brašna prema različitim otapalima (SRC) .....	15
3.3.4.	Statistička obrada rezultata.....	15
4.	REZULTATI.....	17
4.1.	REZULTATI ISPITIVANJA FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTAVA .....	18
4.2.	KORELACIJSKE MATRICE REZULTATA ISPITIVANJA .....	21
4.3.	REZULTATI VIŠESTRUKUE LINEARNE REGRESIJE .....	23
5.	RASPRAVA.....	25
6.	ZAKLJUČCI .....	29
7.	LITERATURA.....	31

## **1. UVOD**

Pšenica (*Triticum species*) potiče iz porodice trava (*Poaceae*). Jednogodišnja je zeljasta biljka porijeklom iz jugozapadne Azije i Europe, no njen uzgoj se proširio i na ostale dijelove svijeta. Smatra se da je pšenica, uz rižu i kukuruz, jedna od najvažnijih žitarica u ljudskoj prehrani, naročito žitarica roda *Triticum aestivum*. Zrno pšenice se sastoji od omotača (plodna i sjemena ovojnica), aleuronskog sloja, klice i endosperma. Upravo endosperm čini najveći dio zrna (70-85%) te se od njega proizvodi brašno, dok se ostali dijelovi zrna odvajaju prilikom mljevenja.

Najvažnije komponente pšeničnog brašna koje utječu na kvalitetu su škrob i proteini, lipidi, te enzimi od kojih je najznačajnija  $\alpha$ -amilaza. Kako bismo utvrdili kvalitetu pšeničnog brašna koristimo različite metode. Neki od glavnih parametara u ispitivanju kvalitete su sadržaj vlage, udio proteina te reološka svojstva tijesta. Ovim testovima se provodi specifikacija pšenice te se utvrđuje kako će se brašno ponašati tijekom obrade. Jedna od često korištenih metoda je i broj padanja po Hagberg-Pertenu. To je metoda koja se zasniva na brzoj želatinizaciji škroba u suspenziji brašna i vode te mjerenu likvefakciju škrobne paste pod utjecajem  $\alpha$ -amilaze. Također, uz osnovne metode određivanja kvalitativnih svojstava brašna imamo i tzv. brze metode poput SRC metode (engl. *Solvent Retention Capacity*). SRC metoda je sposobnost zadržavanja otapala vezanog za brašno nakon centrifugiranja te analizira svaku glavnu komponentu brašna pojedinačno.

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj primjene otopine natrijevog karbonata i mlijecne kiseline u određivanju broja padanja po Hagberg-Pertenu na uzorcima pšeničnog brašna te odrediti razlike u dobivenim rezultatima u odnosu na standardno određivanje s demineraliziranim vodom. Osim toga, provedena je usporedba dobivenih rezultata broja padanja s rezultatima određivanja SRC metodom i reološkim ispitivanjima na farinografu, ekstenzografu i amilografu kako bi se utvrdila eventualna međuovisnost.

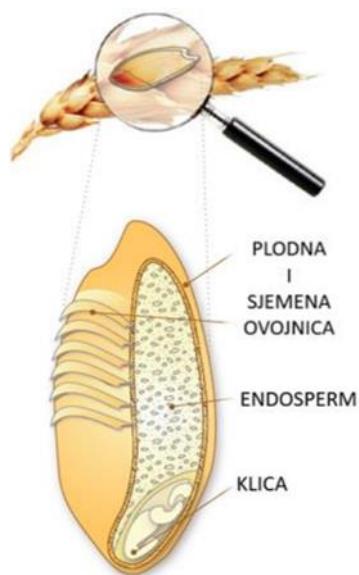
## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. PŠENICA

Pšenica spada u red *Poales*, porodicu *Poaceae* (trave), te potporodicu *Pooideae*. Jedna je od najstarijih kulturnih biljaka koja se uzgaja širom svijeta već više od 10 000 godina, te se smatra najvažnijom biljkom koja se koristi za ljudsku prehranu. Jednogodišnja je biljka koja se sastoji od korijena, stabljike, lista i zrna.

Najznačajnije vrste pšenice su: *Triticum aestivum*, *Triticum durum* i *Triticum compactum*. *Triticum aestivum* ima najvažniju ulogu u ljudskoj prehrani. Zrno te pšenice daje brašno visoke kvalitete koje se zatim koriste u proizvodnji različitih vrsta proizvoda od kojih je najznačajnija proizvodnja kruha, odnosno pekarskih proizvoda. *Triticum durum* se najčešće koristi u proizvodnji tjestenine, dok se *Triticum compactum* najčešće upotrebljava za proizvodnju finih pekarskih proizvoda (keksa).

Zrno pšenice (**Slika 1**) sastoji se od omotača, klice, aleuronskog sloja i endosperma. Omotač se sastoji od nekoliko dijelova, a funkcija mu je čuvanje klice i endosperma od nepovoljnih vanjskih utjecaja. Ispod omotača nalazi se aleuronski sloj, a zatim endosperm i klica. Endosperm, čija uloga je najvažnija, čini najveći dio pšenice te se nakon izdvajanja posija melje u brašno. Kemijski sastav brašna ovisi o sorti i vrsti pšenice te klimatskim uvjetima uzgoja i vrsti tla. Najzastupljeniji u zrnu su voda, ugljikohidrati, proteini, vitamini, lipidi te mineralne tvari i enzimi.



**Slika 1** Dijelovi zrna pšenice (Web 1)

### 2.1.1. Ugljikohidrati

Ugljikohidrati su najvažniji sastavni dio zrna pšenice. Ukupna količina tih tvari u zrnu može doseći 80%. Glavni ugljikohidrati koji ulaze u sastav zrna pšenice su škrob, šećeri, celuloza, hemiceluloza i pentozani (Pospišil, 2010). Najveći i najvažniji udio čini škrob. Škrob je polisaharid kojeg biljke sintetiziraju fotosintezom iz glukoze, te se nagomilava u sjemenkama, korijenu, gomolju ili plodovima biljaka u obliku škrobnih granula. Sastoje se od amiloze i amilopektina, odnosno  $\alpha$ -D-glukoznih jedinica koje su međusobno povezane glikozidnim vezama koje se razlikuju po strukturi i veličini. Amiloza je pretežito linearni polimer sastavljen od jedinica glukoze međusobno povezanih  $\alpha$ -1,4 glikozidnim vezama te se njen omjer kreće između 15-25% od ukupne količine škroba. Amilopektin je razgranati polimer kojeg čine jedinice glukoze povezane  $\alpha$ -1,4 vezama u strukturi ravnih božnih lanaca, a  $\alpha$ -1,6 vezama na mjestima grananja (BeMiller i Whistler, 1996). Omjer amilopektina u škroboj granuli je znatno viši te se kreće oko 75%. Odnos amiloze i amilopektina ima vrlo važan utjecaj na svojstva škroba poput viskoznosti, želatinizacije, ljepljivosti, teksture itd. Oblik i veličina škrobnih granula se razlikuju s obzirom na botaničko podrijetlo. Veličinom mogu varirati od 1-100  $\mu\text{m}$ , a poslagane su u gusto zbijene stabilne semikristalne strukture što ih čini netopljivima u vodi pri sobnoj temperaturi (Hoover, 2001).

Zagrijavanjem namirnica bogatih škrobom u prisustvu vode dolazi do procesa kojeg nazivamo želatinizacija. To je složen proces koji se odvija u više faza i u određenom temperaturnom rasponu koji ovisi o vrsti škroba i količini vode (Babić, 2011). U prvoj fazi želatinizacije dolazi do narušavanja strukture, apsorbira se voda te dolazi do bubrenja. Dalnjim zagrijavanjem škrobnih granula dolazi do razaranja amorfnih dijelova granule te dolazi do pucanja veza u kristalnom području i razaranja granule. Otapanjem škrobnih granula raste viskoznost te kao rezultat toga nastaje pasta. Pasta se sastoje od otopljenih molekula amiloze i amilopektina kao i neotopljenih dijelova škrobne granule. Ako se pasta podvrgne hlađenju, doći će do dodatnog povećanja njene viskoznosti i nastat će gel (Babić, 2011).

Hlađenjem želatiniziranog sustava škrob/voda sustav spontano prelazi u stanje s manjim sadržajem energije. Povezivanje molekula škroba vodikovim vezama nakon hlađenja želatinizirane škrobne paste naziva se retrogradacija (proces koji se javlja kada molekule škroba započinju međusobno udruživanje u uređeniju strukturu (Pomeranz, 1988).

### **2.1.2. Proteini**

Od tri glavne kategorije organskih spojeva proteini su najvažniji i kemijski najsloženiji (Pyler, 1988). Organske su makromolekule sastavljene od velikog broja aminokiselina. Njihova uloga je od velikog značaja za tehnološku kvalitetu pšenice, te reološka svojstva tijesta. Najviše ga sadrži sam endosperm zrna pšenice, no ima ga u svim dijelovima zrna. Obično se njegov udio u zrnu kreće od 9-25%, ovisno o vrsti pšenice. Obzirom na topljivost, mogu se podijeliti na topljive i na netopljive u vodi. Najznačajniji topljivi proteini su albumin i globulin, dok su netopljivi, koji čine oko 85% ukupnih proteina, gliadin i glutenin, koji čine gluten. Gluten je elastična bjelančevinasta tvar netopljiva u vodi. Dodatkom vode dolazi do njenog bubrenja te stvaranja plastično-elastične mase, tzv. lijepka ili vlažnog glutena.

### **2.1.3. Lipidi**

Lipidi ili masti su hidrofobni kemijski spojevi prisutni u pšenici. Topljivi su u nepolarnim organskim otapalima i netopljivi u vodi. Ukupni udio lipida iznosi 1,5-2,5%, a dijelimo ih na polarne i nepolarne lipide. Nepolarni lipidi su najzastupljeniji u pšenici te čine oko 70% ukupnih lipida. Preostali udio lipida čine polarni lipidi, glikolipidi i fosfolipidi.

### **2.1.4. Enzimi**

Enzimi su biokemijski katalizatori, odnosno specifični proteini koji ubrzavaju kemijske reakcije, a pritom ostaju nepromijenjeni. Njihova uloga je od velikog značaja u pekarstvu. Njihova aktivnost raste porastom temperature, te će se porastom temperature za 10 °C ubrzati enzimske reakcije za 1,3-3 puta sve do optimalne temperature. Najznačajniji enzimi u brašnu su: amilolitički, proteolitički, te enzim lipoksigenaza. Amilolitički enzimi pšeničnog brašna su  $\alpha$ -amilaza i  $\beta$ -amilaza. Oni djeluju na škrob te ga prevode u manje složene molekule, maltozu i dekstrine različite molekularne mase. Njihova aktivnost doprinosi stvaranju većeg volumena pekarskih proizvoda, poželjnoj boji i hrskavosti kore, te aromi.

Razgradnja bjelančevina se odvija pomoću proteolitičkih enzima. Smatraju se nepoželjnim enzimima jer umanjuju sposobnost tijesta da zadrži nastale plinove tijekom fermentacije. No, u slučaju kada je gluten nedovoljno rastezljiv ili jak, njihova prisutnost je poželjna.

Lipoksigenaza je enzim koji se u pekarstvu koristi kao aktivator oksidacije te kao sredstvo za bijeljenje pigmenata brašna.

### 2.1.5. Mineralne tvari

Mineralne tvari se nalaze u obliku anorganskih i organskih soli, fosfata. Najviše se nalaze u aleuronском sloju i perikarpu, a u klici gotovo da ih i nema. Njihova zastupljenost u brašnu je od 0,4 do 1,6%. Udio mineralnih tvari se određuje kao ostatak nakon žarenja, odnosno pepeo koji sadrži okside kalija, natrija, kalcija, fosfata i dr. Najzastupljeniji su fosfor (oko 50%), zatim kalij (20-30%), te nešto manje kalcij, magnezij, silicij, željezo i ostali elementi. Sadržaj i sastav pepela mjerilo je kvalitete brašna i služi za njegovu tipizaciju i dokazivanje porijekla (Marić, 2000).

## 2.2. REOLOŠKA SVOJSTVA TIJESTA

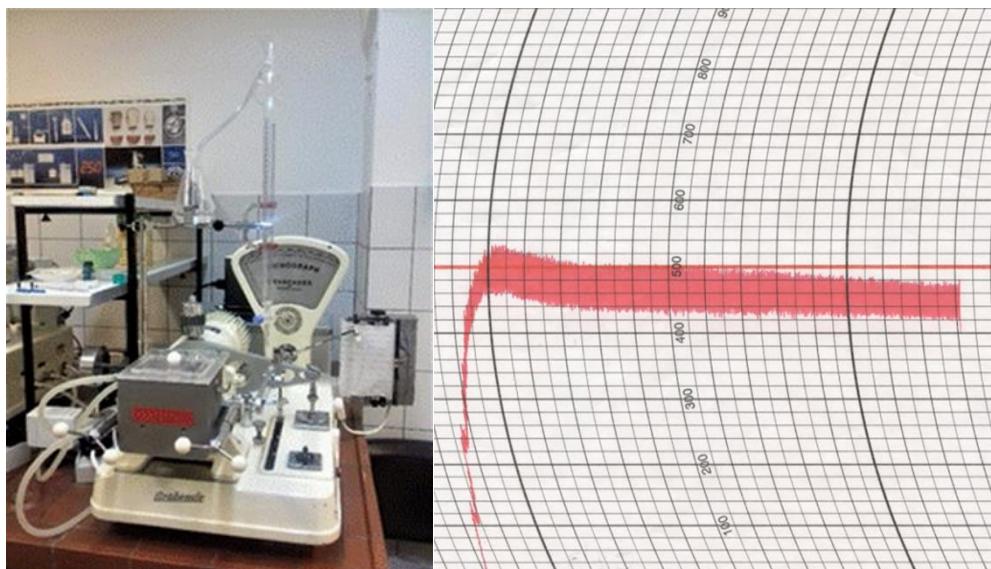
Reologija je grana fizike koja se bavi proučavanjem deformacija i tečenja krutih i tekućih materijala podvrgnutim djelovanju sile. Osnovna reološka svojstva su elastičnost, plastičnost i viskoznost. Elastičnost je kada se deformacija pojavi trenutno s djelovanjem naprezanja, no nakon prestanka njegova djelovanja nema ni deformacije. Plastičnost je ako materijal podliježe trajnoj deformaciji nakon postignutog određenog praga naprezanja. Viskoznost je trenje nastalo pri strujanju fluida zbog različite brzine gibanja njegovih slojeva. Stoga možemo reći da elastičnost i plastičnost čine osnovna reološka svojstva krutih materijala, a viskoznost tekućih. Poznavanje reoloških svojstava uvelike doprinosi razvoju prehrambene industrije i utječe, kako na vođenje procesa, tako i na samu proizvodnju obzirom da su prehrambeni proizvodi složenog sastava i rijetko sadrže samo jedan od navedenih svojstava. Međutim, reološka svojstva također služe kao parametar kvalitete proizvoda.

U pekarskoj industriji je vrlo važno odrediti svojstva tijesta, odnosno kako će se ono ponašati prilikom zamjesa, fermentacije i pečenja kako bi se na kraju procesa dobio kvalitetan pekarski proizvod željenih karakteristika (Menjivar, 1990). Za analizu odnosa između kvalitete brašna i kvalitete pečenih proizvoda tradicionalno se koriste različite metode za određivanje reoloških svojstava tijesta (farinografija, miksografija, ekstenzografija, amilografija i alveografija).

### 2.2.1. Farinograf

Farinograf je uređaj kojim se određuje kvaliteta glutena i jakost tijesta na način da se mjeri otpor tijesta na miješanje i gnječenje u mijesilici uređaja. Za provođenje analize uzima se od 50 do 300 g brašna vlažnosti od 14% te se ubacuje u uređaj za miješanje. Zatim se dodaje

optimalna količina vode kako bi se oblikovalo tijesto. Tijekom određenog vremena miješanja dolazi do promjena fizikalnih svojstava tijesta i pomoću dinamometra se mjeri snaga potrebna za kretanje lopatica kroz tijesto koje zatim farinograf bilježi kao krivulju (farinogram) na graf papiru. Količina dodane vode utječe na položaj krivulja na farinogramu. Ukoliko je dodana manja količina vode povećati će se konzistencija tijesta što će utjecati na pomicanje krivulje prema gore. Rezultati se koriste kao parametri za procjenu količine vode potrebne za izradu tijesta, za procjenu učinaka sastojaka na svojstva miješanja, za procjenu potreba za miješanjem brašna, i za provjeru ujednačenosti brašna. Također, pomoću njega možemo odrediti konzistenciju tijesta tijekom proizvodnje, te je koristan za predviđanje karakteristika gotovog proizvoda.



**Slika 2** Farinograf i pripadajući dijagram (farinogram)

Podaci koji se dobiju farinografskim ispitivanjem uključuju:

- sposobnost upijanja vode,
- razvoj tijesta (vrijeme u minutama koje je potrebno da se razvije tijesto optimalne konzistencije),
- stabilnost tijesta u minutama tijekom kojih se konzistencija tijesta ne mijenja sve do trenutka opadanja krivulje,
- otpornost ili rezistencija tijesta na miješanje,

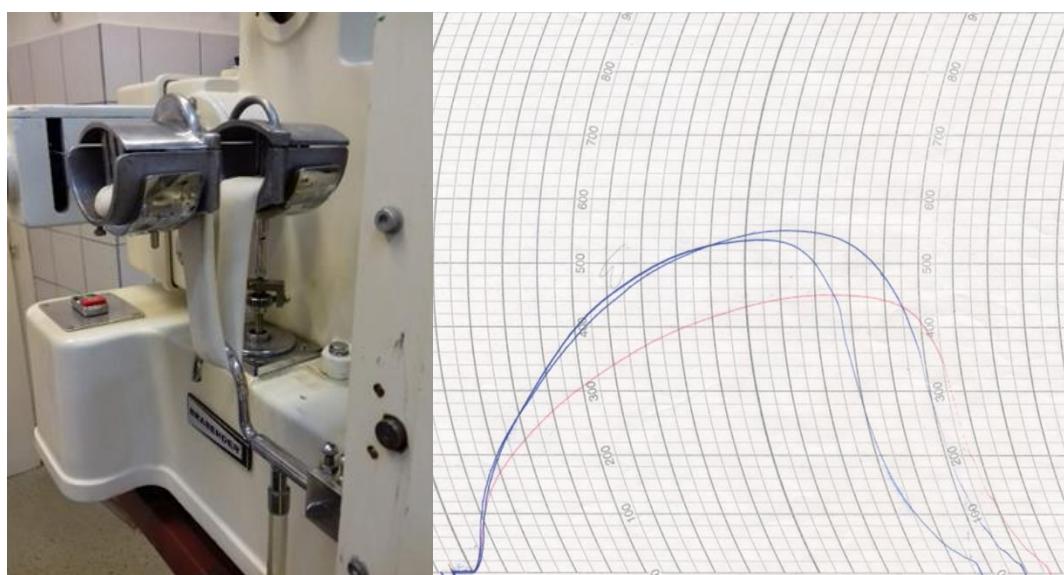
- stupanj omešanja koji prikazuje razliku između crte optimalne konzistencije i sredine krivulje na kraju miješanja te
- kvalitetni broj i kvalitetne skupine brašna (Đaković, 1980., Koceva Komlenić i Jukić, 2016).

### 2.2.2. Ekstenzograf

Ekstenzograf je uređaj za određivanje fizikalnih svojstava pšeničnog brašna na osnovu otpornosti tijesta na rastezanje. Prilikom rastezanja dolazi do otpora koji prikazuje silu koja je potrebna kako bi se tijesto rastegnulo na određenu duljinu. Otpor tijesta tijekom razvlačenja tijesta se izražava u centimetrima (cc), Brabender jedinicama (BU) ili ekstenzografskim jedinicama (EU), a bilježi se u vidu krivulje – ekstenzograma.

Dijagram ekstenzograma prikazuje:

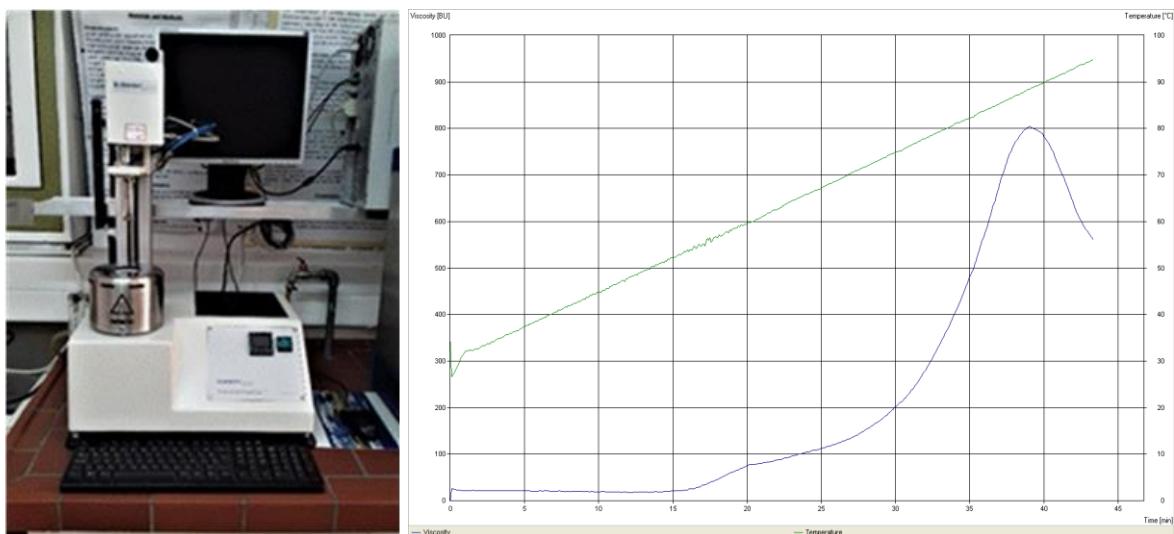
- rastezljivost tijesta ( $R$ ) izražena u mm,
- otpor na rastezanje ( $O$ ) i maksimalni otpor ( $O_{max}$ ) izraženi u cm,
- energija utrošena za rastezanje rastezanja ( $E$ ) predstavljena površinom ispod krivulje izražena u  $\text{cm}^2$ ,
- omjer otpora i rastezljivosti ( $O/R$ ) – poželjno je da bude oko 2,5.



**Slika 3** Ekstenzograf i pripadajući dijagram (ekstenzogram)

### 2.2.3. Amilograf

Amilograf je rotacijski viskozimetar za određivanje svojstava škroba i aktivnost enzima  $\alpha$ -amilaze u brašnu koja je posljedica oštećenja pšenice. Klijanje pšenice, uzrokovan visokom aktivnošću enzima može uzrokovati probleme tijekom obrade i u konačnici dati proizvod lošije kvalitete. Amilografski testovi bilježe promjene viskoznosti tijekom zagrijavanja tjesteta (brašno i voda) prilikom čega dolazi do procesa želatinizacije. Analiza se provodi na način da se uzorak brašna pomiješa sa destiliranom vodom do nastanka homogene smjese. Smjesa se podvrgava zagrijavanju počevši s temperaturom od  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  uz miješanje i konstantno podizanje temperature svake minute za  $1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  sve do postizanja krajnje temperature od  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Kada se tjesto zagrije, granule škroba bubre i nastaje gusta pasta, prilikom čega amilografski uređaj bilježi otpor miješača tijekom nastajanja škrobnog gela. Rezultati analize se pomoću pisača bilježe na pokretnu traku papira. Što je otpor veći, veća i viskoznost paste, što ukazuje na manju aktivnost enzima. Brašno s većom viskoznosti je pogodnije za izradu tjesteta, te će proizvodi imati optimalnu i kompaktniju sredinu. Ukoliko je amilolitička aktivnost visoka, proizvodi od takvog brašna su najčešće ljepljive sredine i malog volumena.



**Slika 4** Amilograf i pripadajući dijagram (amilogram)

## 2.2.4. BROJ PADANJA

U reološke metode ubrajamo i metodu određivanja broja padanja prema Hagberg-Pertenu. Svrha određivanja broja padanja je određivanje aktivnosti  $\alpha$ -amilaze u fino mlijevenim žitaricama i brašnu. Metoda se provodi na uređaju koji su razvili Hagberg i Perten. Zasniva na brzoj želatinizaciji škroba u suspenziji brašna i vode te se mjeri viskoznost škrobnog gela i njegove likvefakcije do koj dolazi djelovanjem alfa-amilaze. Broj sekundi označava vrijednost enzimske aktivnosti, odnosno označava vrijeme koje je potrebno da mješač propadne kroz škrobni gel.

Odnos broja padanja i aktivnosti  $\alpha$ -amilaze može se iskazati kao linearna funkcija prevođenjem vrijednosti broja padanja (FN) u likvefakcijski broj (LN). Prevođenje se provodi prema formuli (1).

$$LN = \frac{6000}{FN - 50} \quad (1)$$

gdje je 6000 konstanta, a 50 se odnosi na približno vrijeme u sekundama potrebno da se škrob iz brašna dovoljno želatinizira da ga enzimi mogu hidrolizirati, FN predstavlja broj padanja [s] te LN likvefakcijski broj [ $s^{-1}$ ] (Constantin i sur., 2015).

Kada procjenjujemo aktivnost  $\alpha$ -amilaze u jednoj vrsti brašna dovoljno je poznavati FN iz kojeg se može utvrditi je li aktivnost  $\alpha$ -amilaze visoka, niska ili optimalna. Ako procjenjujemo aktivnost  $\alpha$ -amilaze za smjesu dvije ili više vrsta brašna moramo računati LN. LN ima linearnu ovisnost s aktivnosti  $\alpha$ -amilaze u smjesi više vrsta brašna dok FN nema linearnu ovisnost (Constantin i sur., 2015)



**Slika 4** Uredaj za određivanje broja padanja

Dobiveni rezultati broja padanja ukazuju na indeks aktivnost  $\alpha$ -amilaze u brašnu. Udio  $\alpha$ -amilaze je obrnutno proporcionalan vrijednosti broja padanja. Ukoliko je vrijednost broja padanja viša od 300 s, takav uzorak ima minimalnu aktivnost enzima. Od 200-300 s predstavlja srednju aktivnost, a ispod 200 s je visoka aktivnost  $\alpha$ -amilaze te se smatra da su pšenica ili brašno oštećeni klicama.

Na broj padanja utječe razinaenzimske aktivnost te se samim testom broja padanja može u određenoj mjeri predvidjeti i kvaliteta proizvoda. Npr. kvasac u tijestu za kruh zahtjeva šećere koji se pravilno razvijaju i zato trebaju određenu razinuenzimske aktivnosti. Prevelika aktivnost enzima znači i previše šećera, a premalu prisutnost škroba. Budući da škrob pruža potporu strukturi kruha, prevelika aktivnost enzima rezultira ljepljivim tijekom proizvodnje i lošom teksturom gotovog proizvoda. Ako je broj padanja previsok, enzimi se mogu dodavati u brašno na razne načine da bi se nadoknadio nedostatak. Ako je padajući broj prenizak, enzimi se ne mogu ukloniti iz brašna ili pšenice, što rezultira ozbiljnim problemom zbog kojeg je brašno neiskoristivo.

### 2.3. RETENCIJSKA SPOSOBNOST BRAŠNA PREMA OTAPALIMA (SRC)

Tradicionalne metode daju općenite podatke o brašnu bez jasnih smjernica koja komponenta u brašnu utječe na promjenu nekog njegovog svojstva. Upravo iz tog razloga je nastala metoda određivanja retencijske sposobnosti brašna prema različitim otapalima (engl. *Solvent Retention Capacity – SRC*) koja analizira doprinose svake glavne komponente brašna pojedinačno. Godine 1999. Tehnički odbor za mekano pšenično brašno Američkog udruženja za kemiju žitarica (AACC) proveo je studiju za procjenu ove metode, a Odbor za metode potom ju je odobrio kao službenu metodu br. 56-11.02 (Gaines, 2000).

SRC je metoda kojom se određuje sposobnost zadržavanja otapala vezanog za brašno nakon centrifugiranja. Izražava se kao postotak težine brašna, na bazi udjela vlage od 14%. Kako bismo odredili koja funkcionalna komponenta brašna je utjecala na bubreњe koristimo četiri otapala: deionizirana voda, 50%-tna otopina saharoze, 5%-tna otopina natijevog karbonata i 5%-tna otopina mliječne kiseline. Dobivanjem SRC vrijednosti za uzorce analizirane s ove četiri otopine moguće je odrediti kvalitetu brašna. Sposobnost zadržavanja mliječne kiseline povezujemos s karakteristikama glutenina, natrij karbonata s količinom oštećenog škroba,

otopinu saharoze za svojstva pentozana dok se vodena otopina veže za sve navedene komponente brašna (AACC 56-11.02).

SRC metoda temelji se na energetici (koja se odnosi na termodinamičku kompatibilnost polimera i otapala), a ne na kinetici (koja se odnosi na ograničenja pokretljivosti za loše plastifikatore). Reološka ispitivanja tijesta, za razliku od njih, temelje se na kinetici razvoja tijesta koja uključuje polimere brašna plastificirane vodom ili otopinama šećera i vode, koriste ograničene količine otapala i daju informacije o brzinama razvoja mreže (Kweon i sur., 2011).

Pšenični gluten može po 1 g osušenog glutena upiti 2,8 g vode dok neglutenski proteini upijaju neznatnu količinu vode. Nativni pšenični škrob po 1 g suhog pšeničnog škroba upije od 0,3 do 0,45 g vode, oštećeni škrob 1,5 -2 g, a želatinizirani škrob upije oko 10 g vode. U vodi topljni pentozani (arabinoksilan) mogu apsorbirati 10 g vode po 1 g suhog pentozana (Kweon i sur., 2011). Svaki polimer brašna je topljiviji u svom SRC otapalu nego u vodi. Stoga će kod 5%-tne otopine mlijecne kiseline doći do bubrenja gluteninske mreže, a rezultat SRC analize predstavlja kvalitetu glutena. Obzirom da voda nije najbolje otapalo za bilo koji funkcionalni polimer brašna, svrha preostala tri otapala je izdvojiti doprinos jedne funkcionalne komponente brašna te usporediti doprinos bubrenju u vodi. No, sva ova otapala sadrže minimalno 50% vode. S, toga kad se razina bilo kojeg polimera brašna poveća, bubrenje će se povećati u svim tim otapalima na bazi vode. Ipak, najveće povećanje će se dogoditi u otapalu koje je najkompatibilnije s polimerom brašna čija se razina povećava.

Otopina mlijecne kiseline će pojačati bubrenje gluteninske mreže, a vrijednost određivanja SRC vrijednosti za mlijecnu kiselinu predstavlja mjeru kvalitete i funkcionalnosti glutena. Također, pH mlijecne kiseline je oko 2,0 što oponaša i uobičajeno stanje ( $\text{pH} < 4,0$ ) koje stvaraju mlijecne bakterije utjecajem na funkcionalnost glutenina tijekom procesa fermentacije. pH otopine natrijevog karbonata je 12,0 što je visoko alkalno okruženje. Ovakvo okruženje je iznad  $\text{pK}$  škrobnih hidroksilnih grupa. U ovim uvjetima oštećeni škrob se može lagano disocirati 5%-tom otopinom natrijevog karbonata te uzrokuje pretjerano bubrenje škroba. Bubrenje omogućuje razlikovanje oštećenog od neoštećenog sirovog prirodnog škroba. Otopina saharoze ima neutralan pH što uzrokuje bubrenje arabinoksilana, jer 50%-tina otopina saharoze pokazuje dobru kompatibilnost otapala sa ksilanskom okosnicom arabinoksilana pšeničnog brašna.

Također, u novije vrijeme koristi se parametar GPI (engl. *Gluten Performance Indeks*) definiran kao omjer rezultata SRC mlijecne kiseline i zbroja rezultata SRC natrijevog karbonata i SRC otopine saharoze:

$$\text{GPI} = \frac{\text{mlijecna kiselina SRC}}{(\text{natrijev-karbonat SRC} + \text{SRC saharoze})} \quad (2)$$

Smatra se da GPI parametar može biti dobar pokazatelj ukupne učinkovitosti umrežavanja glutenina brašnu u okruženju drugih polimera brašna.

Uobičajeno, specifikacije mekog pšeničnog brašna uključuju samo vlagu, proteine i sadržaj pepela što predstavlja kompozicijske, a ne funkcionalne specifikacije, koje su vitalne i korisne za izradu kvalitetnog tijesta. Sadržaj proteina je posebno neinformativna specifikacija brašna jer uključuje (funkcionalni) gluten i (nefunkcionalni) protein bez glutena. Čak i s obzirom na gluten, njegov sastavni dio proteina, glijadini i glutenini, pokazuju sasvim različite funkcionalnosti. Upotreba SRC metode primjenjiva je za procjenu funkcionalnosti mekog brašna, ali i tvrdog. Ovakva vrsta testiranja omogućuje predviđanje funkcionalnog doprinosa svake komponente brašna na ukupnu funkcionalnost i rezultirajući kvalitetu gotovog proizvoda.

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### **3.1. ZADATAK**

Zadatak ovog rada bio je ispitati utjecaj primjene otopine natrijevog karbonata i mlijecne kiseline u određivanju broja padanja po Hagberg-Pertenu na uzorcima pšeničnog brašna te odrediti razlike u dobivenim rezultatima u odnosu na standardno određivanje s demineraliziranim vodom. Osim toga, kako bi se utvrdila eventualna međuvisnost, provedena je usporedba dobivenih rezultata broja padanja s udjelima proteina, vlažnog i suhog glutena te rezultatima određivanja SRC metodom i reološkim ispitivanjima na farinografu, ekstenzografu i amilografu.

### **3.2. MATERIJALI**

U istraživanju je korišteno deset različitih uzoraka pšeničnog brašna T-550.

Od otopina su u radu korištene deionizirana voda, 50 %-tna otopina saharoze, 5 %-tna otopina mlijecne kiseline i 5 %-tna otopina  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

### **3.3. METODE**

U istraživanju je korišteno deset različitih uzoraka pšeničnog brašna T-550.

#### **3.3.1. Određivanje udjela proteina i glutena**

Udio proteina određen je prema standardnoj metodi HRN EN ISO 5983-2:2010, a vlažni i suhi gluten prema metodi HRN EN ISO 21415-2:2015.

#### **3.3.2. Određivanje reoloških svojstava**

Farinografska ispitivanja provedena su prema modificiranoj standardnoj metodi HRN EN ISO 5530-1:2015, ekstenzografska prema metodi HRN EN ISO 5530-2:2015, a amilografska prema metodi HRN EN ISO 7973:2016.

Broj padanja određen je prema metodi HRN EN ISO 3093:2010. Postupak uključuje određivanje vlažnosti uzorka, jer o udjelu vlage ovisi masa upotrebljenog uzorka za određivanje broja padanja. Uzorak sa 14% vlažnosti imati će odvagu 7 g, a ukoliko je vlažnost manja ili veća od 14% potrebno je korigirati količinu uzorka. Zatim se u staklenu kivetu dodaje izvagani uzorak brašna i 25 ml deionizirane vode, gumenim čepom se zatvori i vrši se snažno

mućkanje do formiranja homogene smjese. Gumeni čep se skine te se uzorak zajedno s uronjenim miješalom stavlja u ključalu vodenu kupelj uređaja, te se tipkom pokrene miješanje. Nakon 5 sekundi suspenzija vode i brašna se počinje miješati. Konstantnim miješanjem pri povišenoj temperaturi dolazi do želatinizacije škroba i formiranja gусте paste. Točno 60 sekundi nakon uranjanja staklene epruvete u vodenu kupelj, miješalo se zaustavlja u gornjem položaju i polako počinje padati. Ukupno vrijeme od trenutka uključivanja kronometra do trenutka kada miješalo prestane padati kroz škrobni gel bilježi se kao broj padanja, izražen u sekundama. Za određivanje broja padanja su se u ovom istraživanju, osim demineralizirane vode, koristile i 5 %-tna otopina mlijecne kiseline te 5 %-tna otopina  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Otopina saharoze nije se koristila jer zbog prekomjernog zagrijavanja suspenzije nije bilo moguće dobiti relevantne rezultate.

### **3.3.3. Određivanje retencijske sposobnosti brašna prema različitim otapalima (SRC)**

Određivanje retencijske sposobnosti brašna (SRC) provedeno je prema AACC standardnoj metodi 56-11.02. Postupak uključuje prethodno izmjerenu vlažnost brašna koja je od iznimne važnosti za svako pouzdano mjerjenje funkcionalnosti brašna. Uzorci brašna se važu (5 g) u polipropilenske kivete za centrifugiranje s konusnim dnom. Dodaje se 25 g odgovarajućeg otapala (deionizirana voda, 50 %-tna otopina saharoze, 5 %-tna otopina mlijecne kiseline i 5 %-tna otopina  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). U tom trenutku započinje mjerjenje vremena. Zatvaraju se kivete te se snažno miješaju uzorci kako bi se smjesa homogenizirala. Miješanje se provodi svakih 5 min, tokom narednih 20 minuta. Nakon toga se provodi centrifugiranje na  $1000 \times g$  15 min. Supernatant se odlijeva i kivete se ostave na cijeđenju 10 minuta kako bi se osušile. Nakon sušenja važu se kivete te se računaju vrijednosti SRC i izražavaju se u postotcima. Iz dobivenih SRC vrijednosti izračunat je i parametar  $\text{SRC}_{\text{GPI}}$ .

### **3.3.4. Statistička obrada rezultata**

Statistička analiza provedena je upotrebom programa Statistica (inačica 13.5.0.17, TIBCO Software Inc., Palo Alto, SAD). Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija. Međuvisnost rezultata određivanja broja padanja, SRC metode i reoloških analiza ocijenjena je Pearsonovim ( $r$ ) koeficijentom korelacije ( $p<0,05$ ). Provedena je i višestruka

postupna ili stupnjevita (engl. *Stepwise*) regresijska analiza s odabirom unaprijed (engl. *Forward Selection*) kako bi se dobili modeli predviđanja pojedinih fizikalno-kemijskih svojstava brašna upotrebom metode broja padanja s različitim otapalima. Kao pravilo zaustavljanja regresijske analize postavljen je prag za prihvaćanje varijable u modelu od 0,05. Za procjenu uspješnosti predviđanja dobivenim modelima korišten je koeficijent determinacije ( $R^2$ ). Ispitivanje autokorelacijskog odstupanja u regresijskoj analizi provedeno je Durbin-Watsonovim testom pri čemu njegove vrijednosti u rasponu 1,5-2,5 predstavljaju odsutnost autokorelacijske. Nezavisne varijable u regresijskoj analizi bile su rezultati određivanja broja padanja s dekioniziranim vodom ( $FN_{H_2O}$ ), 5 %-tnom otopinom mliječne kiseline ( $FN_{MK}$ ) te 5 %-tnom otopinom  $Na_2CO_3$  ( $FN_{Na_2CO_3}$ ). Zavisne varijable bile su udjeli proteina, vlažnog i suhog glutena, farinografski, ekstenzografski i amilografski pokazatelji kvalitete brašna te SRC vrijednosti.

## **4. REZULTATI**

## 4.1. REZULTATI ISPITIVANJA FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTAVA

**Tablica 1** Rezultati određivanja broja padanja s različitim otapalima

Oznaka uzorka	FN <sub>H2O</sub>	FN <sub>MK</sub>	FN <sub>Na2CO3</sub>
1	426,3	252,3	543,3
2	280,3	248,0	405,0
3	518,7	265,3	482,0
4	468,7	247,0	523,3
5	497,3	248,0	533,0
6	263,7	247,7	502,7
7	452,3	277,0	644,3
8	290,0	254,7	526,7
9	401,7	259,0	561,7
10	438,7	245,0	466,7
<b>Ȑ</b>	403,8	254,4	518,9
<b>MIN</b>	263,7	245,0	405,0
<b>MAX</b>	518,7	277,0	644,3

**Tablica 2** Rezultati određivanja retencijske sposobnosti brašna

Oznaka uzorka	SRC <sub>H2O</sub>	SRC <sub>MK</sub>	SRC <sub>Na2CO3</sub>	SRC <sub>SAH</sub>	SRC <sub>GPI</sub>
1	65,9	126,1	70,9	98,2	0,75
2	58,4	110,4	61,6	85,2	0,75
3	59,7	126,8	63,4	86,4	0,85
4	60,4	110,5	68,3	92,3	0,69
5	67,0	99,5	71,9	96,2	0,59
6	61,8	111,0	75,2	97,4	0,64
7	65,6	140,2	67,2	96,6	0,86
8	65,5	107,4	71,1	95,4	0,64
9	62,1	115,4	70,7	99,8	0,68
10	58,5	94,9	61,7	86,1	0,64
<b>Ȑ</b>	62,5	114,2	68,2	93,4	0,71
<b>MIN</b>	58,4	94,9	61,6	85,2	0,59
<b>MAX</b>	67,0	140,2	75,2	99,8	0,86

**Tablica 3** Udio proteina i glutena

Oznaka uzorka	Proteini (%)	Vlažni gluten (%)	Suhi gluten (%)
<b>1</b>	11,2	25,2	9,2
<b>2</b>	10,7	28,5	9,5
<b>3</b>	11,0	27,3	9,6
<b>4</b>	8,6	16,1	5,5
<b>5</b>	10,2	25,0	9,1
<b>6</b>	8,8	18,3	6,5
<b>7</b>	12,7	36,2	13,5
<b>8</b>	9,2	22,1	7,9
<b>9</b>	10,3	27,4	10,5
<b>10</b>	8,7	19,1	6,6
<b>Ȑ</b>	10,2	24,5	8,8
<b>MIN</b>	8,6	16,1	5,5
<b>MAX</b>	12,7	36,2	13,5

**Tablica 4** Rezultati farinografskih ispitivanja

Oznaka uzorka	Upijanje vode (%)	Razvoj tijesta (min)	Stabilnost (min)	Rezistencija (min)	Stupanj omešanja (FJ)	Kvalitetni broj
<b>1</b>	64,1	1,7	0,4	2,1	110	37,5
<b>2</b>	57,9	1,6	0,4	2,0	110	43,3
<b>3</b>	59,1	1,8	0,5	2,3	95	46,0
<b>4</b>	55,1	1,5	0,5	2,0	125	36,3
<b>5</b>	63,9	1,9	0,4	2,3	95	47,8
<b>6</b>	57,2	1,7	0,1	1,8	135	32,8
<b>7</b>	65,0	1,9	0,8	2,7	50	64,8
<b>8</b>	62,7	1,5	0,2	1,7	150	26,3
<b>9</b>	58,4	1,7	0,7	2,4	85	48,8
<b>10</b>	56,2	1,4	0,5	1,9	130	38,7
<b>Ȑ</b>	60,0	1,7	0,5	2,1	109	42
<b>MIN</b>	55,1	1,4	0,1	1,7	50	26
<b>MAX</b>	65,0	1,9	0,8	2,7	150	65

**Tablica 5** Rezultati ekstenzografskih ispitivanja

Oznaka uzorka	Energija (cm <sup>2</sup> )	Rastezljivost (mm)	Otpor (EJ)	Maksimalni otpor (EJ)	Omjer (EJ/mm)
1	91	202	250	350	1,2
2	83,3	186	215	315	1,2
3	112	168	345	515	2,1
4	94	145	370	480	2,6
5	66	172	220	285	1,3
6	58	157	220	265	1,4
7	128	248	250	415	1,0
8	85	163	280	400	1,7
9	79	202	210	280	1,0
10	48	154	200	220	1,3
$\bar{x}$	84	180	256	353	1,5
MIN	48	145	200	220	1,0
MAX	128	248	370	515	2,6

**Tablica 6** Rezultati amilografskih ispitivanja

Oznaka uzorka	Početak bubreњa (°C)	Temperatura maksimuma (°C)	Vrijeme tvorbe paste (min)	Maksimalna viskoznost (AJ)
1	60,4	85,0	16,4	1485
2	57,7	73,0	10,2	295
3	59,8	92,2	21,6	1305
4	64,3	93,7	19,6	1670
5	61,6	93,7	21,4	1770
6	59,5	73,0	9,0	310
7	60,4	91,3	20,6	915
8	63,7	78,1	9,6	400
9	63,4	89,8	17,6	1895
10	60,4	91,0	20,4	1615
$\bar{x}$	61,1	86,1	16,6	1166
MIN	57,7	73,0	9,0	295
MAX	64,3	93,7	21,6	1895

## 4.2. KORELACIJSKE MATRICE REZULTATA ISPITIVANJA

**Tablica 7** Korelacijska matrica rezultata određivanja broja padanja (FN) i retencijske sposobnosti brašna (SRC) s različitim otapalima

	FN <sub>MK</sub>	FN <sub>Na2CO3</sub>	SRC <sub>H2O</sub>	SRC <sub>MK</sub>	SRC <sub>Na2CO3</sub>	SRC <sub>SAH</sub>	SRC <sub>GPI</sub>
FN <sub>H2O</sub>	0,305	0,332	0,113	0,209	-0,233	-0,087	0,272
FN <sub>MK</sub>	-	<b>0,658</b>	0,288	<b>0,851</b>	-0,084	0,197	<b>0,770</b>
FN <sub>Na2CO3</sub>	-	-	<b>0,713</b>	0,566	0,487	<b>0,751</b>	0,203
SRC <sub>H2O</sub>	-	-	-	0,253	<b>0,672</b>	<b>0,769</b>	-0,128
SRC <sub>MK</sub>	-	-	-	-	0,006	0,249	<b>0,875</b>
SRC <sub>Na2CO3</sub>	-	-	-	-	-	<b>0,892</b>	-0,458
SRC <sub>SAH</sub>	-	-	-	-	-	-	-0,247
SRC <sub>GPI</sub>	-	-	-	-	-	-	-

\*podebljani koeficijenti korelacije (*r*) su statistički značajni (*p*<0,05)

**Tablica 8** Korelacijska matrica rezultata određivanja broja padanja (FN), retencijske sposobnosti brašna (SRC) s različitim otapalima i udjela proteina i glutena

	Proteini (%)	Vlažni gluten (%)	Suhu gluten (%)
FN <sub>H2O</sub>	0,296	0,173	0,204
FN <sub>MK</sub>	<b>0,784</b>	<b>0,800</b>	<b>0,831</b>
FN <sub>Na2CO3</sub>	0,449	0,411	0,526
SRC <sub>H2O</sub>	0,359	0,298	0,381
SRC <sub>MK</sub>	<b>0,805</b>	<b>0,694</b>	<b>0,706</b>
SRC <sub>Na2CO3</sub>	-0,185	-0,228	-0,120
SRC <sub>SAH</sub>	0,124	0,091	0,220
SRC <sub>GPI</sub>	<b>0,768</b>	<b>0,684</b>	<b>0,634</b>

\*podebljani koeficijenti korelacije (*r*) su statistički značajni (*p*<0,05)

**Tablica 9** Korelacijska matrica rezultata određivanja broja padanja (FN), retencijske sposobnosti brašna (SRC) s različitim otapalima i farinografskih ispitivanja

	Upijanje vode (%)	Razvoj tijesta (min)	Stabilnost (min)	Rezistencija (min)	Stupanj omešanja (FJ)	Kvalitetni broj
FN <sub>H2O</sub>	0,162	0,361	0,606	0,613	-0,511	0,498
FN <sub>MK</sub>	0,505	0,593	0,625	<b>0,755</b>	<b>-0,757</b>	<b>0,708</b>
FN <sub>Na2CO3</sub>	0,598	0,505	0,493	0,617	-0,569	0,499
SRC <sub>H2O</sub>	<b>0,883</b>	0,529	-0,026	0,278	-0,246	0,147
SRC <sub>MK</sub>	0,448	0,569	0,477	<b>0,641</b>	<b>-0,668</b>	0,564
SRC <sub>Na2CO3</sub>	0,310	0,291	-0,395	-0,105	0,144	-0,253
SRC <sub>SAH</sub>	0,485	0,392	0,004	0,222	-0,187	0,063
SRC <sub>GPI</sub>	0,218	0,383	0,522	0,568	-0,611	0,569

\*podebljani koeficijenti korelacije (*r*) su statistički značajni (*p*<0,05)

**Tablica 10** Korelacijska matrica rezultata određivanja broja padanja (FN), retencijske sposobnosti brašna (SRC) s različitim otapalima i ekstenzografskih ispitivanja

	Energija (cm <sup>2</sup> )	Rastezljivost (mm)	Otpor (EJ)	Maksimalni otpor (EJ)	Omjer (EJ/mm)
FN <sub>H2O</sub>	0,340	0,111	0,393	0,375	0,258
FN <sub>MK</sub>	<b>0,831</b>	<b>0,756</b>	0,198	0,499	-0,182
FN <sub>Na2CO3</sub>	0,486	<b>0,635</b>	0,066	0,204	-0,192
SRC <sub>H2O</sub>	0,211	0,432	-0,106	0,025	-0,279
SRC <sub>MK</sub>	<b>0,879</b>	<b>0,751</b>	0,297	0,567	-0,102
SRC <sub>Na2CO3</sub>	-0,175	-0,006	-0,088	-0,153	-0,058
SRC <sub>SAH</sub>	0,040	0,377	-0,188	-0,152	-0,291
SRC <sub>GPI</sub>	<b>0,863</b>	0,594	0,365	0,625	0,009

\*podebljani koeficijenti korelacije (*r*) su statistički značajni (*p*<0,05)

**Tablica 11** Korelacijska matrica rezultata određivanja broja padanja (FN), retencijske sposobnosti brašna (SRC) s različitim otapalima i amilografskih ispitivanja

	Početak bubrenja (°C)	Temperatura maksimuma (°C)	Vrijeme tvorbe paste (min)	Maksimalna viskoznost (AJ)
FN <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	0,212	<b>0,953</b>	<b>0,976</b>	<b>0,808</b>
FN <sub>MK</sub>	-0,026	0,292	0,324	-0,037
FN <sub>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></sub>	0,446	0,441	0,356	0,269
SRC <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	0,316	0,127	0,051	0,075
SRC <sub>MK</sub>	-0,178	0,113	0,171	-0,107
SRC <sub>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></sub>	0,414	-0,168	-0,296	-0,030
SRC <sub>SAH</sub>	0,458	0,019	-0,105	0,142
SRC <sub>GPI</sub>	-0,396	0,130	0,250	-0,144

\*podebljani koeficijenti korelacije (*r*) su statistički značajni (*p*<0,05)

### 4.3. REZULTATI VIŠESTRUKE LINEARNE REGRESIJE

**Tablica 12** Regresijska analiza utjecaja rezultata određivanja broja padanja standardnom metodom (FN<sub>H<sub>2</sub>O</sub>) na predviđanje pojedinih svojstava brašna i tjestova

Zavisne varijable	<i>b</i> <sub>0</sub>	<i>b</i>	SEM	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>
Temperatura maksimuma (°C)	51,641	0,085	0,010	78,406	<b>&lt; 0,0001</b>	0,907
Vrijeme tvorbe paste (min)	-5,030	0,054	0,004	158,232	<b>&lt; 0,0001</b>	0,952
Maksimalna viskoznost (AJ)	-1052,452	5,494	1,419	14,994	<b>0,005</b>	0,652

<sup>a</sup> *b*<sub>0</sub>-odsječak, *b*-regresijski koeficijent, SEM-standardna pogreška

<sup>b</sup> podebljane vrijednosti su statistički značajne (*p*<0,05)

**Tablica 13** Regresijska analiza utjecaja rezultata određivanja broja padanja s otopinom mliječne kiseline ( $\text{FN}_{\text{MK}}$ ) na predviđanje pojedinih svojstava brašna i tjestera

Zavisne varijable	$b_0$	$b$	SEM	F	p	$R^2$
Proteini (%)	-15,935	0,103	0,029	12,743	<b>0,007</b>	0,614
Vlažni gluten (%)	-93,796	0,465	0,124	14,181	<b>0,005</b>	0,639
Suhu gluten (%)	-39,304	0,189	0,045	17,917	<b>0,003</b>	0,691
Farinografska stabilnost (min)	-3,654	0,023	0,007	10,633	<b>0,012</b>	0,571
Farinografski stupanj omekšanja (FJ)	656,664	-2,155	0,657	10,742	<b>0,011</b>	0,573
Farinografski kvalitetni broj	-145,955	0,740	0,261	8,031	<b>0,022</b>	0,501
Ekstenzografska energija ( $\text{cm}^2$ )	-416,164	1,968	0,465	17,892	<b>0,003</b>	0,691
Ekstenzografska rastezljivost (mm)	-404,777	2,297	0,703	10,670	<b>0,011</b>	0,572

<sup>a</sup>  $b_0$ -odsječak,  $b$ -regresijski koeficijent, SEM-standardna pogreška<sup>b</sup> podebljane vrijednosti su statistički značajne ( $p<0,05$ )

## **5. RASPRAVA**

Zadatak ovog rada bio je ispitati utjecaj primjene otopine natrijevog karbonata i mlijecne kiseline u određivanju broja padanja po Hagberg-Pertenu na uzorcima pšeničnog brašna te odrediti razlike u dobivenim rezultatima u odnosu na standardno određivanje s demineraliziranom vodom. Osim toga, kako bi se utvrdila eventualna međuvisnost, provedena je usporedba dobivenih rezultata broja padanja s udjelima proteina, vlažnog i suhog glutena te rezultatima određivanja SRC metodom i reološkim ispitivanjima na farinografu, ekstenzografu i amilografu.

Rezultati određivanja broja padanja (FN) prikazani su u **Tablici 1**. Broj padanja određen konvencionalnom standardnom metodom  $\text{FN}_{\text{H}_2\text{O}}$  kretao se u rasponu od 263,7 do 518,7 s, s prosječnom vrijednošću od 403,8 s. Tri uzorka imali su normalnu amilolitičku aktivnost (< 300 s), a sedam uzoraka nisku (> 300 s). Zamjenom deionizirane vode s otopinom mlijecne kiseline broj padanja  $\text{FN}_{\text{MK}}$  značajno se smanjio (prosjek 254,4 s), a i vrijednosti su se kretale u mnogo manjem rasponu (245,0 – 277,0 s). Ovo smanjenje može se pripisati hidrolizi škroba pod djelovanjem mlijecne kiseline. Slične rezultate u svom su istraživanju dobili i Haros i sur. (2014) pri mjerenu maksimalne viskoznosti škrobne paste kukuruznog škroba s dodatkom mlijecne kiseline pomoću *Rapid Visco Analyzer-a* (RVA). Oni su također pretpostavili da je uzrok smanjenju maksimalne viskoznosti upravo kiselinska hidroliza škroba. Također se može primijetiti da uzorci koji su s vodom imali najmanje vrijednosti broja padanja (najvišu amilolitičku aktivnost) dodatkom mlijecne kiseline više nemaju najmanje vrijednosti što ukazuje na inaktivaciju enzima uslijed smanjene pH vrijednosti. Najveću vrijednost  $\text{FN}_{\text{MK}}$  imao je Uzorak 7 (277,0 s), a najmanju Uzorak 10 (245,0 s). Za razliku od određivanja broja padanja s mlijecnom kiselinom, broj padanja uz dodatak natrijevog karbonata  $\text{FN}_{\text{Na}_2\text{CO}_3}$  je značajno rastao. Prosječna vrijednost  $\text{FN}_{\text{Na}_2\text{CO}_3}$  je iznosila 518,9 s. Povećanje viskoznosti škrobne paste u RVA analizi škroba žitarica s dodatkom otopine natrijevog karbonata dokazali su i Lai i sur. (2004). Navedeno povećanje viskoznosti, odnosno povećanje broja padanja, može se pripisati pojačanom bubrežnjem škrobnih granula u prisutnosti otopine natrijevog karbonata.

U **Tablici 2** prikazani su rezultati određivanja retencijske sposobnosti brašna (SRC). Prosječna vrijednost  $\text{SRC}_{\text{H}_2\text{O}}$  bila je 62,5%, a najveću vrijednost imao je Uzorak 5 (67,0%). Kao i kod  $\text{FN}_{\text{MK}}$  Uzorak 7 imao je najveću  $\text{SRC}_{\text{MK}}$  vrijednost (140,2%), a Uzorak 10 najmanju (94,9%).  $\text{SRC}_{\text{Na}_2\text{CO}_3}$  nije bio u velikom rasponu (61,6–75,2%) što se može objasniti time što su svi uzorci dobiveni mljevenjem pšenice pod istim uvjetima na istom mlinu, a uzimajući u obzir da je upravo ovaj

parametar povezan sa stupnjem oštećenosti škroba. Prosječna vrijednost za SRC<sub>SAH</sub> bila je 93,4%. Parametar koji se odnosi na kvalitetu glutena SRC<sub>GPI</sub> u prosjeku je iznosio 0,71, a najveću vrijednost i ovdje je pokazao Uzorak 7 (0,86).

Rezultati određivanja udjela proteina i glutena te reoloških ispitivanja (farinograf, ekstenzograf, amilograf) prikazani su u **Tablicama 3-6**. Udio proteina kretao se u rasponu od 8,6 do 12,7% s prosječnom vrijednošću 10,2%. Količina vlažnog glutena iznosila je u prosjeku 24,5%, a suhog 8,8%. Najveći udio proteina i glutena imao je Uzorak 7 što se podudara s rezultatima određivanja retencijske sposobnosti brašna i broja padanja s otopinom mlijecne kiseline. Uzorak 7 imao je i najbolje reološke pokazatelje (kvaliteni broj 64,8 i energiju 128 cm<sup>2</sup>).

U **Tablici 7** prikazana je korelacijska matrica Pearsonovih koeficijenata korelacije (*r*) između rezultata određivanja broja padanja (FN) i retencijske sposobnosti brašna (SRC) s različitim otapalima. Vidljivo da FN<sub>H2O</sub> nije statistički značajno korelirao s niti jednim parametrom FN ili SRC. To je i razumljivo s obzirom da na rezultat određivanja broja padanja s vodom u najvećoj mjeri utječe amilolitička aktivnost uzorka što kod drugih parametara nije slučaj. FN<sub>MK</sub> bio je u značajnoj korelaciji (*p*<0,05) s FN<sub>Na2CO3</sub> (*r*=0,658) te sa SRC<sub>MK</sub> (*r*=0,851) i SRC<sub>GPI</sub> (*r*=0,770). FN<sub>Na2CO3</sub> značajno je korelirao s SRC<sub>H2O</sub> (*r*=0,713) i SRC<sub>SAH</sub> (*r*=0,751).

Korelacijska matrica između rezultata određivanja broja padanja (FN) te retencijske sposobnosti brašna (SRC) s različitim otapalima i udjela proteina i glutena prikazana je u **Tablici 8**. Utvrđene su statistički značajne korelacije između FN<sub>MK</sub> i proteina (*r*=0,784), vlažnog (*r*=0,800) i suhog glutena (*r*=0,831). SRC<sub>MK</sub> i SRC<sub>GPI</sub> također su bili u značajnoj korelaciji s udjelom proteina i glutena.

Od svih parametara broja padanja s različitim otapalima jedino je FN<sub>MK</sub> značajno korelirao s pojedinim farinografskim pokazateljima (**Tablica 9**). Utvrđena je značajna korelacija sa rezistencijom (*r*=0,755), stupnjem omekšanja (*r*=-0,757) i kvalitetnim brojem (*r*=0,708). Slično tome SRC<sub>MK</sub> bio je u korelaciji sa rezistencijom (*r*=0,641) istupnjem omekšanja (*r*=-0,668). SRC<sub>H2O</sub> značajno je korelirao s farinografskom sposobnošću upijanja vode (*r*=0,883).

Energija rastezanja tijesta na ekstenzografu bila je u korelaciji s FN<sub>MK</sub> (*r*=0,831), SRC<sub>MK</sub> (*r*=0,879) i SRC<sub>GPI</sub> (*r*=0,863), a rastezljivost s FN<sub>MK</sub> (*r*=0,756), FN<sub>Na2CO3</sub> (*r*=0,635) i SRC<sub>MK</sub> (*r*=0,751) (**Tablica 10**).

Konvencionalni broj padanja  $\text{FN}_{\text{H}_2\text{O}}$  bio je u značajnoj korelaciji s amilografskom temperaturom maksimuma ( $r=0,953$ ), vremenom tvorbe paste ( $r=0,976$ ) i maksimalnom viskoznošću ( $r=0,808$ ) (**Tablica 11**). Taj rezultat je očekivan jer se amilograf, kao i broj padanja, prvenstveno koristi za indirektno određivanje amilolitičke aktivnosti u uzorcima brašna.

U **Tablicama 12 i 13** prikazani su rezultati višestruke postupne regresijske analize izrade modela predviđanja pojedinih fizikalno-kemijskih svojstava brašna upotrebom metode broja padanja s različitim otapalima. Nezavisne varijable u regresijskoj analizi bile su rezultati određivanja broja padanja s dekioniziranom vodom ( $\text{FN}_{\text{H}_2\text{O}}$ ), 5 %-tnom otopinom mliječne kiseline ( $\text{FN}_{\text{MK}}$ ) te 5 %-tnom otopinom  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ( $\text{FN}_{\text{Na}_2\text{CO}_3}$ ). Zavisne varijable bile su udjeli proteina, vlažnog i suhog glutena, farinografski, ekstenzografski i amilografski pokazatelji kvalitete brašna te SRC vrijednosti. U tablicama su prikazani statistički značajni modeli.

Vidljivo je da se  $\text{FN}_{\text{H}_2\text{O}}$  može koristiti za predviđanje samo amilografskih pokazatelja kvalitete brašna (**Tablica 12**).  $\text{FN}_{\text{MK}}$  pokazao se kao značajan prediktor velikog broja parametara kvalitete koji se uglavnom odnose na proteinsku komponentu brašna. To je i razumljivo kad se uzme u obzir da proteini pšenice bubre u razrijeđenim otopinama organskih kiselina, poglavito mliječne kiseline. Tako se ovaj parametar može koristiti u stvaranju prediktivnih modela za udjele proteina i glutena te farinografskih pokazatelja kao što stabilnost, stupanj omekšanja i kvalitetni broj, ali i za predviđanje ekstenzografskih parametara energije i rastezljivosti (**Tablica 13**).

## **6. ZAKLJUČI**

Na temelju provedenih ispitivanja može se zaključiti da se modifikacijom standardne metode za određivanje broja padanja, na način da se deionizirana voda zamijeni otopinom mlijecne kiseline, mogu dobiti vrlo korisne informacije o kvaliteti analiziranog pšeničnog brašna. Dodatkom mlijecne kiseline broj padanja se značajno smanjio uslijed kiselinske hidrolize škroba, a istovremeno su se inaktivirali amilolitički enzimi, što omogućava bolju procjenu kvalitete proteinske komponente brašna.

S obzirom na kratko vrijeme trajanja i jednostavnost analize, metoda određivanja broja padanja s otopinom mlijecne kiseline može se uspješno koristiti za predviđanje udjela proteina i glutena te pojedinih farinografskih i ekstenzografskih pokazatelja kvalitete brašna.

## **7. LITERATURA**

- AACC, 56-11.02: *Solvent Retention Capacity Profile*. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 10th ed. AACC, St. Paul, MN, 2009.
- Babić J: *Materijali s predavanja na kolegiju Tehnologija ugljikohidrata i konditorskih proizvoda*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2011.
- BeMiller JN, Whistler R: Carbohydrates. U *Food Chemistry*, str. 191-204. Marcel Dekker Inc., New York, 1996.
- Constantin GA, Ferdes M, Stefan EM, Voicu G: Falling number vs. Liquefaction number in alfaamylase activity estimation for bakery flour. *International symposium isb-inma teh 2015, agricultural and mechanical engineering*, str. 461-466. Politehnica University of Bucharest, Faculty of Biotechnical Systems Engineering, Bucharest, 2015.
- Đaković Lj: *Pšenično brašno, fizičko-hemijski osnovi određivanja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna*. Tehnološki fakultet, Zavod za izdavanje udžbenika Novi Sad, 1980.
- Gaines CS: Collaborative study of methods for solvent retention capacity profiles (AACC method 56-11). *Cereal Foods World* 45:303- 306, 2000
- Haros CM, Pérez O, Rosell C: Effect of Steeping Corn with Lactic Acid on Starch Properties. *Cereal Chemistry* 81(1):10-14, 2004.
- Hoover R: Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. *Carbohydrate Polymers* 45: 253–267, 2001.
- HNZ, Hrvatski zavod za norme: *Određivanje apsorpcije vode i reoloških svojstava farinografom*. HRN EN ISO 5530-1:2015.
- HNZ, Hrvatski zavod za norme: *Određivanje broja padanja prema Hagberg-Pertenu*. HRN EN ISO 3093:2010.
- HNZ, Hrvatski zavod za norme: *Određivanje reoloških svojstava ekstenzografom*. HRN EN ISO 5530-2:2015.
- HNZ, Hrvatski zavod za norme: *Određivanje viskoznosti brašna -- Metoda uporabe amilografa*. HRN EN ISO 7973:2016.
- Koceva Komlenić D., Jukić, M: *Tehnologija proizvodnje i prerađe brašna*. Interna skripta. Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2016.,
- Kweon M, Slade L, Levine H: Solvent retention capacity (SRC) of wheat flour: principles and value in predicting flour functionality in different wheat- based food procesess and in wheat breeding – a review. *Cereal Chemistry* 88(6):537-552, 2011.
- Lai L, Karim A, Hani N, Seow C: Effects of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and NaOH on Pasting Properties of Selected Native Cereal Starches. *Journal of Food Science* 69:249-256, 2004.
- Marić V: *Biotehnologija i sirovine*. Stručna i poslovna knjiga, Zagreb, 2000.

- Menjivar, JM: Fundamental Aspects of Dough Rheology. In *Dough rheology and Baked Product Texture*, Ed. Faridi H, Faubion JM, Van Nostrand Reinhold New York, 1-28, 1990.
- Pomeranz Y: *Wheat:Chemistry and Technology*. AACC International, 1988.
- Pospišil A: *Ratarstvo*. 1.dio, Zrinski d.d., Čakovec, 2010.
- Pyler EJ: *Baking Science & Technology*, Third Edition, Volume I, Sosland Publishing Company, Merriam, Kansas, 1988.