

# Amilografsko određivanje kvalitete pšeničnog brašna uz upotrebu otopine mliječne kiseline

---

Đaković, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2022

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:160517>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET SPLIT**

**AMILOGRAFSKO ODREĐIVANJE KVALITETE**  
**PŠENIČNOG BRAŠNA UZ UPOTREBU**  
**OTOPINE MLIJEČNE KISELINE**

**DIPLOMSKI RAD**

**LUCIJA ĐAKOVIĆ**

**Matični broj: 51**

**Split, studeni 2022.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET SPLIT**  
**DIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**

**AMILOGRAFSKO ODREĐIVANJE KVALITETE**  
**PŠENIČNOG BRAŠNA UZ UPOTREBU**  
**OTOPINE MLIJEČNE KISELINE**

**DIPLOMSKI RAD**

**LUCIJA ĐAKOVIĆ**

**Matični broj: 51**

**Split, studeni 2022.**

**UNIVERSITY OF SPLIT  
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY  
GRADUATE UNIVERSITY STUDY OF FOOD TECHNOLOGY**

**AMYLOGRAPHIC DETERMINATION OF THE  
QUALITY OF WHEAT FLOUR WITH  
A LACTIC ACID SOLUTION**

**DIPLOMA THESIS**

**LUCIJA ĐAKOVIĆ**

**Parent number: 51**

**Split, November 2022.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu  
Diplomski studij Prehrambena tehnologija

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Tema rada** je prihvaćena na 25. izvanrednoj sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta održanoj 18. ožujka 2022. godine.

**Mentor:** prof. dr. sc. Marko Jukić

### AMILOGRAFSKO ODREĐIVANJE KVALITETE PŠENIČNOG BRAŠNA UZ UPOTREBU OTOPINE MLIJEČNE KISELINE

Lucija Đaković, 51

**Sažetak:** Zadatak ovog rada bio je ispitati utjecaj primjene otopine mliječne kiseline u amilografskim ispitivanjima bez zagrijavanja suspenzije brašna i vode te odrediti razlike u viskoznosti suspenzije u odnosu na određivanje s vodom kao otapalom. Osim toga, kako bi se utvrdila eventualna međuovisnost, provedena je usporedba dobivenih rezultata amilografskog određivanja viskoznosti suspenzije brašna i otopine mliječne kiseline s udjelima proteina i glutena, s retencijskom sposobnosti brašna prema vodi i otopini mliječne kiseline, sedimentacijskom vrijednosti te s farinografskim i ekstenzografskim pokazateljima kvalitete pšeničnog brašna. Na temelju ispitivanja provedenih u ovom radu može se zaključiti da se amilografskim ispitivanjem brašna bez klasične primjene zagrijavanja suspenzije, odnosno bez želatinizacije škroba, mogu uspješno predvidjeti kvalitativna svojstva brašna koje ovise o proteinskoj komponenti. Prilikom korištenja mliječne kiseline, a uslijed bubrenja i agregacije proteina, viskoznost suspenzije je značajno veća nego prilikom korištenja vode kao otapala što daje veći raspon rezultata, a samim tim olakšano je i uočavanje razlika između uzoraka. Rezultati amilografskog ispitivanja uz otopinu mliječne kiseline i miješanje od 10 min najbolje koreliraju s udjelom proteina i glutena, kao i s rezultatima farinografskog i ekstenzografskog ispitivanja.

**Ključne riječi:** amilografsko ispitivanje, kvaliteta pšeničnog brašna, proteini pšenice

**Rad sadrži:** 27 stranica, 8 slika, 7 tablica, 29 literaturnih izvora

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Sastav Povjerenstva za obranu:**

1. doc. dr. sc. Danijela Skroza - predsjednik
2. doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović - član
3. prof. dr. sc. Marko Jukić - član-mentor

**Datum obrane:** 22. studenog 2022.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.**

## BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Technology Split**  
**Graduate study of Food Technology**

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food Technology

**Thesis subject** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, special session no.25, March 18,2022.

**Mentor:** Prof. Dr. Marko Jukić

### **AMYLOGRAPHIC DETERMINATION OF THE QUALITY OF WHEAT FLOUR WITH A LACTIC ACID SOLUTION**

Lucija Đaković, 51

**Summary:** The aim of this study was to investigate the influence of using lactic acid solution in amylographic test without heating the flour-water suspension, and to determine the differences in the viscosity of the suspension compared to the determination using water as solvent. Comparison of the results of amylographic determination of the viscosity of the suspension of flour and lactic acid solution with the proportions of protein and gluten, with the lactic acid and water solvent retention capacity, the sedimentation value and with farinographic and extensographic quality indicators of wheat flour was carried out in order to determine a possible correlations.

Based on the tests carried out in this research, it can be concluded that the qualitative properties of flour, which depend on the protein component, can be successfully predicted by the amylographic analysis of flour without the classical application of suspension heating, i.e. without gelatinization of starch. When lactic acid was used, the viscosity of the suspension was significantly higher than when water was used as a solvent, due to the swelling and aggregation of the proteins, which leads to a wider range of results and thus makes it easier to detect differences between samples. The results of the amylographic examination using lactic acid solution and a mixing time of 10 minutes correlated best with the protein and gluten content, as well as with the results of the farinographic and extensographic examination.

**Keywords:** amylographic determination, wheat flour quality, wheat proteins

**Thesis contains:** 27 pages, 8 figures, 7 tables, 29 references

**Original in:** Croatian

#### **Defence committee:**

1. Ph. D. Danijela Skroza, Assistant Professor - chair person
2. Ph. D. Zvonimir Marijanović, Assistant Professor - member
3. Ph. D. Marko Jukić, Full Professor - supervisor

**Defence date:** November 22, 2022.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

*Diplomski rad izrađen je u laboratoriju Katedre za tehnologije prerade žitarica Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek pod mentorstvom prof. dr. sc. Marka Jukića, u srpnju 2022. godine.*



## ZAHVALA

*Zahvaljujem se svom mentoru prof. dr. sc. Marku Jukiću na pomoći i strpljenju prilikom izrade ovog diplomskog rada. Također, dugujem mu veliku zahvalnost za gostoprimstvo i srdačnost na Prehrambeno – tehnološkom fakultetu u Osijeku.*

*Posebno hvala mojoj obitelji, osobito roditeljima, koji su mi bili podrška kroz studentske dane u svim trenucima.*

## **ZADATAK DIPLOMSKOG RADA**

Zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj primjene otopine mliječne kiseline u amilografskim ispitivanjima bez zagrijavanja suspenzije brašna i vode te odrediti razlike u viskoznosti suspenzije u odnosu na određivanje s vodom kao otapalom. Osim toga, kako bi se utvrdila eventualna međuovisnost, provedena je usporedba dobivenih rezultata amilografskog određivanja viskoznosti suspenzije brašna i otopine mliječne kiseline s udjelima proteina i glutena, s retencijskom sposobnosti brašna prema vodi i otopini mliječne kiseline, sedimentacijskom vrijednosti te s farinografskim i ekstenzografskim pokazateljima kvalitete pšeničnog brašna.

## SAŽETAK

Zadatak ovog rada bio je ispitati utjecaj primjene otopine mliječne kiseline u amilografskim ispitivanjima bez zagrijavanja suspenzije brašna i vode te odrediti razlike u viskoznosti suspenzije u odnosu na određivanje s vodom kao otapalom. Osim toga, kako bi se utvrdila eventualna međuovisnost, provedena je usporedba dobivenih rezultata amilografskog određivanja viskoznosti suspenzije brašna i otopine mliječne kiseline s udjelima proteina i glutena, s retencijskom sposobnosti brašna prema vodi i otopini mliječne kiseline, sedimentacijskom vrijednosti te s farinografskim i ekstenzografskim pokazateljima kvalitete pšeničnog brašna. Na temelju ispitivanja provedenih u ovom radu može se zaključiti da se amilografskim ispitivanjem brašna bez klasične primjene zagrijavanja suspenzije, odnosno bez želatinizacije škroba, mogu uspješno predvidjeti kvalitativna svojstva brašna koje ovise o proteinskoj komponenti. Prilikom korištenja mliječne kiseline, a uslijed bubrenja i agregacije proteina, viskoznost suspenzije je značajno veća nego prilikom korištenja vode kao otapala što daje veći raspon rezultata, a samim tim olakšano je i uočavanje razlika između uzoraka. Rezultati amilografskog ispitivanja uz otopinu mliječne kiseline i miješanje od 10 min najbolje koreliraju s udjelom proteina i glutena, kao i s rezultatima farinografskog i ekstenzografskog ispitivanja.

**Ključne riječi:** amilografsko ispitivanje, kvaliteta pšeničnog brašna, proteini pšenice

## **SUMMARY**

The aim of this study was to investigate the influence of using lactic acid solution in amylographic test without heating the flour-water suspension, and to determine the differences in the viscosity of the suspension compared to the determination using water as solvent. Comparison of the results of amylographic determination of the viscosity of the suspension of flour and lactic acid solution with the proportions of protein and gluten, with the lactic acid and water solvent retention capacity, the sedimentation value and with farinographic and extensographic quality indicators of wheat flour was carried out in order to determine a possible correlations. Based on the tests carried out in this research, it can be concluded that the qualitative properties of flour, which depend on the protein component, can be successfully predicted by the amylographic analysis of flour without the classical application of suspension heating, i.e. without gelatinization of starch. When lactic acid was used, the viscosity of the suspension was significantly higher than when water was used as a solvent, due to the swelling and aggregation of the proteins, which leads to a wider range of results and thus makes it easier to detect differences between samples. The results of the amylographic examination using lactic acid solution and a mixing time of 10 minutes correlated best with the protein and gluten content, as well as with the results of the farinographic and extensographic examination.

**Keywords:** amylographic determination, wheat flour quality, wheat proteins

# SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO.....	2
1.1. PŠENICA .....	2
1.1.1. GRAĐA ZRNA PŠENICE.....	3
1.1.2. KEMIJSKI SASTAV ZRNA I BRAŠNA PŠENICE.....	4
1.2. REOLOŠKA SVOJSTVA TIJESTA OD PŠENIČNOG BRAŠNA .....	9
1.3. UPOTREBA MLIJEČNE KISELINE U ODREĐIVANJU KVALITETE BRAŠNA .....	13
2. EKSPERIMENTALNI DIO .....	15
2.1. MATERIJALI.....	15
2.2. METODE .....	15
2.3. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA .....	16
3. REZULTATI .....	17
4. RASPRAVA.....	22
5. ZAKLJUČCI .....	25
6. LITERATURA.....	26

## UVOD

Ispitivanje kvalitete brašna neizostavan je korak u cijelom lancu opskrbe, od uzgoja na poljoprivrednim površinama pa sve do proizvodnje gotovih proizvoda na bazi brašna. Podaci o kvaliteti neophodni su poljoprivrednicima te mlinskoj i prerađivačkoj industriji kako bi se dobio uvid u kvalitetu različitih sorti pšenice u pogledu uzgoja, mljevenja i proizvodnje pekarskih proizvoda, ali i tjestenine i keksarskih proizvoda.

Uobičajeno se za ispitivanje odnosa kvalitete brašna i gotovog proizvoda koriste različite reološke metode ispitivanja tijesta (npr. farinografija, ekstenziografija i alveografija) kao i metode probnog pečenja. Farinografsko ispitivanje se koristi za dobivanje informacija o svojstvima tijesta tijekom zamjesa, sposobnosti upijanja vode pojedinog brašna te o potrebnom (optimalnom) vremenu miješanja tijesta, dok se ekstenzografom prati otpor tijesta koje ono pruža tijekom razvlačenja što daje korisne podatke o ponašanju tijesta tijekom manipulacije u proizvodnji različitih proizvoda. Osim toga, važni podaci o kvaliteti nekog brašna dobivaju se i određivanjem sadržaja proteina i glutena pšeničnog brašna.

Često se za određivanje kvalitete brašna koriste i različite tzv. „brze“ metode. Jedna od njih je metoda ispitivanja retencijske sposobnosti zadržavanja različitih otapala SRC (engl. *Solvent Retention Capacity*). SRC metoda kao jedno od otapala koristi otopinu mliječne kiseline jer se smatra da se sposobnost zadržavanja mliječne kiseline može povezati sa svojstvima glutenina. Druga metoda u kojoj se koristi otopina mliječne kiseline je određivanje sedimentacijske vrijednosti prema Zelenyiju, a zasniva se na sposobnosti proteina glutena da bubre u otopinama mliječne kiseline.

Ispitivanje brašna pomoću amilografa uobičajeno se koristi za praćenje tijeka želatinizacije škroba brašna i vrlo je korisno u procjeni amilolitičke aktivnosti uzoraka. Postojeće metode koje se primjenjuju na ovom uređaju ne mogu dati dublji uvid u kvalitetu brašna osim podataka koji su povezani sa škrobnom komponentom brašna i amilolitičkim enzimima.

S obzirom da je amilograf, pa tako i njegova inačica mikro visko-amilograf, po svojoj konstrukciji rotacijski viskozimetar, u ovom diplomskom radu pokušala se utvrditi eventualna mogućnost upotrebe ovog uređaja u određivanju šireg profila kvalitete pšeničnog brašna i to uz upotrebu vode i otopine mliječne kiseline, ali bez zagrijavanja uzorka, odnosno provođenja želatinizacije.

## 1. OPĆI DIO

### 1.1. PŠENICA

Pšenica se smatra najvažnijom i najraširenijom kulturom u ljudskoj prehrani. Osim u prehrani, koristi se i kao sirovina u različitim industrijama, poput mlinarsko – pekarske, pivarske i farmaceutske [1]. Svrstana je u porodicu Poaceae, potporodicu *Pooideae* i rod *Triticum* [2]. Pšenica prolazi kroz osam fenoloških faza tijekom životnog ciklusa. Fenološke faze možemo podijeliti na dva razdoblja, a to su vegetativno i reproduksijsko razdoblje. Vegetativno razdoblje se sastoji od faza klijanja, nicanja i busanja, dok se reproduksijsko razdoblje sastoji od faza vlatanja, klasanja, cvatnje i oplodnje, formiranja i nalijevanja zrna i sazrijevanja zrna. Razdoblje nalijevanja zrna je vrijeme između cvatnje i fiziološke zrelosti. Ako u tom razdoblju postoje nepovoljni agroekološki uvjeti kao što su visoke temperature, suše ili bolesti, razdoblje nalijevanja zrna će se skratiti što će se negativno odraziti na prinos i kvalitetu zrna [2].

Najčešća primjena pšenice je u obliku pšeničnog brašna koje se koristi u proizvodnji kruha, tjestenine i drugih pekarskih proizvoda. Kvaliteta brašna, a samim time i kvaliteta pekarskih proizvoda ovisit će o kemijskom sastavu zrna koji je uvjetovan sortom, klimatskim uvjetima i već spomenutim agrotehničkim uvjetima [3].



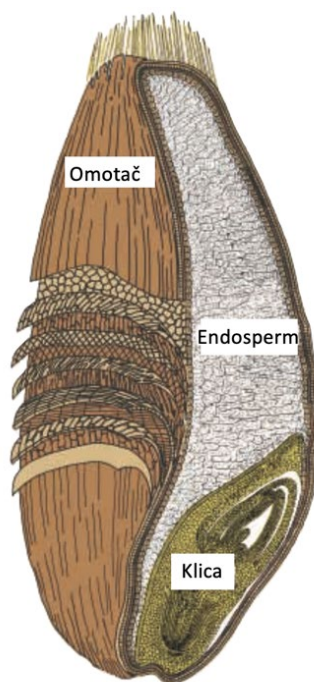
Slika 1. Pšenica [4]

### 1.1.1. GRAĐA ZRNA PŠENICE

Zrno pšenice se sastoji od ovojnice, endosperma i klice. Ovojnica je sastavljena od dva dijela – vanjskog sloja, perikarpa, tj. plodne ovojnice i unutarnjeg sloja, perisperma, tj. sjemene ovojnice. Ima zaštitnu ulogu klice i drugih unutarnjih dijelova, služi za upijanje vode tijekom klijanja i za bubrenje zrna. Zastupljenost ovojnice u masi pšenice je između 12 i 15% [5].

Endosperm čini najveći dio zrna i on se koristi pri proizvodnji brašna, za razliku od klice i ovojnice koje se izdvajaju. U masi pšenice zastupljenost mu se kreće od 80 do 90% i čini rezerve hranjivih tvari koje su potrebne za klijanje. Također je sastavljen od dva dijela – vanjskog (aleuronski sloj) i unutarnjeg sloja (jezgra endosperma). U aleuronskom sloju se nalaze aleuronska zrnca koja sadrže proteine, masti i enzim amilazu koji razgrađuje škrob. Unutarnji sloj je ispunjen škrobnim zrnima između kojih se nalaze rezerve proteina – glijadina i glutenina [5].

Klica se nalazi u središtu zrna, a njena zastupljenost u masi pšenice se kreće od 1,5 do 3%. Na donjem dijelu klice se nalazi radícula, tj. zametak klicnog korjenčića iz kojeg se razvija glavni korijen, dok se iznad radicule nalazi plumula (klicno stabalce) koja će postati nadzemni dio biljke [5].



Slika 2. Građa zrna pšenice (preuzeto i prilagođeno [6])



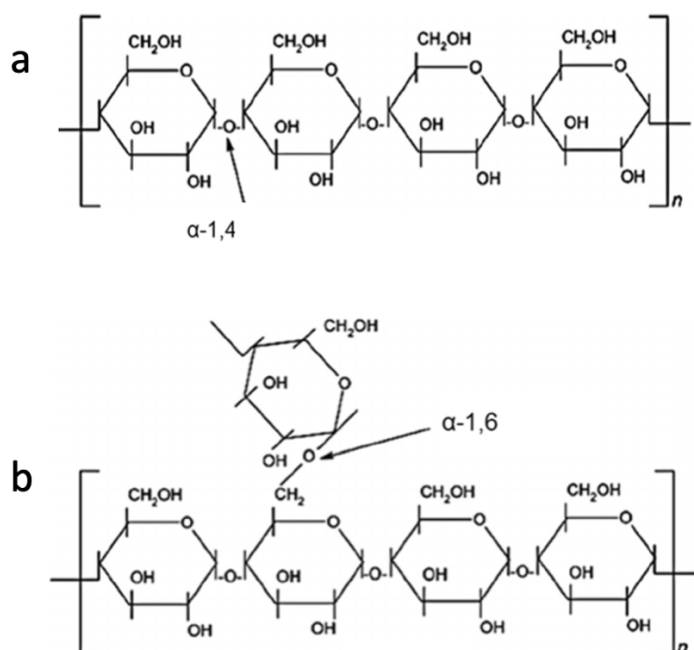
## 1.1.2. KEMIJSKI SASTAV ZRNA I BRAŠNA PŠENICE

### 1.1.2.1. UGLJIKOHIDRATI

Pšenica se smatra najvažnijim izvorom ugljikohidrata, čiji udio u zrnju može činiti i do 80% mase [2]. Najveći udio u sastavu ugljikohidrata čini škrob koji se nalazi u endospermu, dok ostatak čine arabinoksilani te topivi šećeri, saharoza i maltoza koji su najviše zastupljeni u klici.

### ŠKROB

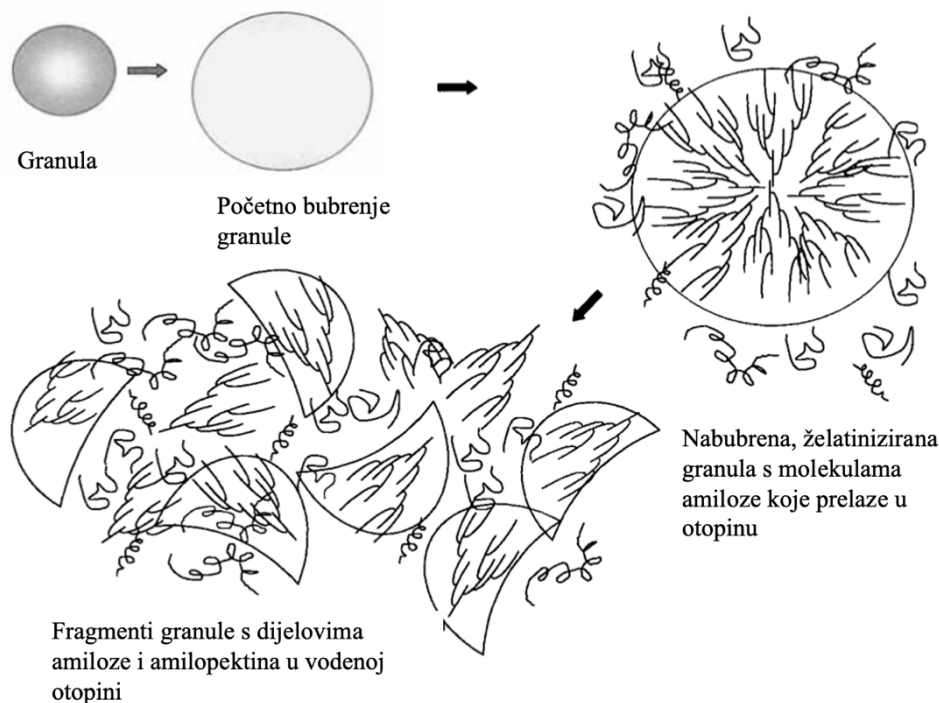
Škrob je polisaharid kojeg čine dva polimera glukoze, amiloza i amilopektin, koji stvaraju djelomično kristalne granule [1]. Ove dvije frakcije dijele sličnu osnovnu strukturu, a razlikuju se u duljini lanca i stupnju grananja [7]. Amiloza je molekula linearne organizacije u kojoj su molekule glukoze međusobno povezane  $\alpha$ -1,4 glikozidnim vezama [1]. Amilopektin je veća i razgranata molekula koja se sastoji od linearnih lanaca glukoze kao i amiloza, ali ima više ogranaka u kojima su molekule glukoze povezane  $\alpha$ -1,6 glikozidnim vezama [7]. Omjer amiloze prema amilopektinu uglavnom je između 25-28% naprema 72 - 75% [1].



Slika 3. a – amiloza, b – amilopektin (preuzeto i prilagođeno [7])

Povezivanje amiloze i amilopektina je organizirano na način da se nerazgranate regije izmjenjuju s regijama koje posjeduju visoku razinu grananja, tzv. amorfne regije. Amilopektin se nakuplja u klasterne, a lanci u strukturi klastera organiziraju dvostruke spirale i tako tvore kristalne regije. Upravo to čini amilopektin najzastupljenijom komponentom u žitaricama [7]. Oštećene škrobne granule nastaju tijekom procesa mljevenja zbog samih tehnika mljevenja, poput primjerice intenziteta i vremena mljevenja. Takav škrob postaje osjetljiviji na djelovanje enzima  $\alpha$ -amilaze jer sadrži manje čestice koje mogu vezati veće količine vode u usporedbi s neoštećenim granulama. U pšeničnom brašnu se nalazi s udjelom od oko 5 do 8%. Više je zastupljen u brašnima od tvrdog, staklastog zrna, nego u brašnu od mekog zrna [8].

Zbog međusobne povezanosti amiloze i amilopektina vodikovim vezama, smatra se da se pšenični škrob ne otapa u vodi. No, postoje istraživanja koja tvrde da škrob i voda stupaju u međusobnu interakciju i prije postizanja početne temperature želatinizacije. U toj fazi, prije same želatinizacije, voda se postepeno i reverzibilno apsorbira u molekulama škroba. Bez obzira što je ova faza reverzibilna, učestala izloženost škroba vodi utječe na promjene u granulama škroba.



Slika 4. Proces želatinizacije (preuzeto i prilagođeno [9])

Kad se suspenzija škrobnih granula i vode počne zagrijavati, vodikove veze polako slabe sve dok se ne postigne temperatura u kojoj škrobna zrnca mogu početi apsorbirati vodu. Ta temperatura se zove – početna temperatura želatinizacije, a javlja se pri približno 45 °C u suvišku vode [9, 10]. Škrobna zrna bubre i tako gube svoju organiziranu strukturu [9]. Želatinizacija započinje na mjestima gdje su vodikove veze najslabije. Kako temperatura nastavlja rasti tako i vodikove veze i dalje pucaju. Molekule vode se spajaju sa slobodnim hidroksilnim skupinama, a granule bubre. Oni dijelovi škroba koji su postali potpuno hidratizirani kreću difundirati u vodeni medij gdje se povećava viskoznost suspenzije škroba i vode. Konzistencija suspenzije nalikuje gelu koji se sastoji od nabubrenih škrobnih granula, fragmenata granula i raspršenih molekula škroba (Slika 4). Smatra se da je za stvaranje ovakvog gela prvenstveno odgovorna amiloza, i to na dva načina. Prvo, stvara mrežu gela koja služi za vezanje preostale neapsorbirane vode, a zatim služi kao vezivni materijal koji povezuje granule ili fragmente škroba [10]. Želatinizacija je pojava koja pozitivno utječe na promjene budućih proizvoda tijekom pečenja, odnosno procesom želatinizacije proizvodima se produžava svježina i rok trajanja. Kada se takav želatinizirani sustav krene hladiti, amiloza i amilopektin imaju sklonost ponovnog povezivanja vodikovim vezama i kristalizacije iz otopine. Taj proces se naziva retrogradacija i predstavlja netopljivi sustav s manjim sadržajem energije, tj. uređenijom strukturom, ali kao takav nije poželjan jer uvelike utječe na starenje pekarskih proizvoda. Treba napomenuti da se retrogradacija amilopektina odvija puno sporije u odnosu na retrogradaciju amiloze [7, 10].

## ARABINOKSILANI

Arabinoksilani su neškrobni polisaharidi koji su u zrnu pšenice zastupljeni u vrlo maloj količini (najviše u staničnoj stijenci 3–8%). Unatoč toj činjenici, zbog svojih svojstava hidratacije i viskoznosti, od velikog su značaja u prilikom upotrebe pšenice u proizvodnji različitih proizvoda. Sastoje se od dva pentozna šećera – ksiloze i arabinoze pa se zato još nazivaju pentozani. Arabinoksilani su izrazito hidrofilni i natječu se za vodu s ostalim komponentama pšenice [11]. Na sebe mogu vezati 10 puta veću količinu vode od njihove težine [8]. Prema topljivosti u vodi postoje oni koji se iz nje mogu ekstrahirati i oni koji to ne mogu. Odnos arabinoza i ksiloze najčešće je 0,5 – 0,6 [11]. Arabinoksilani su povezani s proteinima pšenice i kao takvi utječu na funkcionalna i reološka svojstva tijesta. Tijekom želatinizacije, arabinoksilani mogu utjecati na difuziju molekula škroba u vodeni medij iz škrobnih granula pa tako utječu i na bubrenje škrobnih granula i na viskoznost suspenzije brašna i vode. Zbog

svojih mogućnosti upijanja velike količine vode, oni imaju jako korisnu ulogu u proizvodnji kruha, dok u proizvodnji krepera (zahtijevaju korištenje brašna sa slabim upijanjem vode) imaju štetnu ulogu [12].

#### **1.1.2.2. PROTEINI**

Proteini se smatraju najvažnijom skupinom organskih tvari i izvorom esencijalnih aminokiselina [5]. Količina i sadržaj proteina u najvećoj mjeri u konačnici određuje kvalitetu pšenice [2]. Na sadržaj proteina u pšeničnom zrnu posebno utječu vremenski uvjeti, pa se tako količina i kvaliteta proteina povećava u sušnoj klimi [5]. Najveći udio u proteinima pšenice čini skladišni protein – gluten, koji se sastoji od glutenina (polimerni protein) i glijadina (monomerni protein) [13, 14]. Oni čine od 80 do 85% ukupnih proteina i nalaze se u endospermu zrna. Ostatak čine neglutenski proteini – albumini i globulini, a nalaze se u najvećoj mjeri u aleuronskom sloju i klici.

Pšenica se razlikuje od ostalih žitarica zbog približno jednakih količina glijadina i glutenina, čiji je omjer važan za reološka svojstva tijesta [5, 13]. Ova dva proteina uz vodu i mehaničko miješanje daju gluten, tj. gustu i elastičnu tvar koja će tijestu dati željena viskoelastična svojstva. Svojstva kvalitetnog glutena su da bubri, da je elastičan i postojan, odnosno da se ne kida lako. Glijadini su zaslužni za viskoznost i rastezljivost, a glutenini za čvrstoću i elastičnost tijesta [13].

#### **1.1.2.3. LIPIDI**

Lipidi su organski spojevi netopljivi u vodi. U zrnu pšenice su relativno malo zastupljeni, između 2 i 4% mase zrna i to najviše u klici. Tijekom skladištenja zrna pšenice, povećava se kiselost i udio slobodnih masnih kiselina, najvjerojatnije zbog razgradnje lipida pod utjecajem enzima lipaze. U istraživanjima se navodi da se u prvih 30 dana čuvanja uočava najveće povećanje slobodnih masnih kiselina. Upravo zbog toga su moguće pojave užglosti pa se klica prilikom meljave zrna pšenice odstranjuje [5, 15].

#### 1.1.2.4. ENZIMI

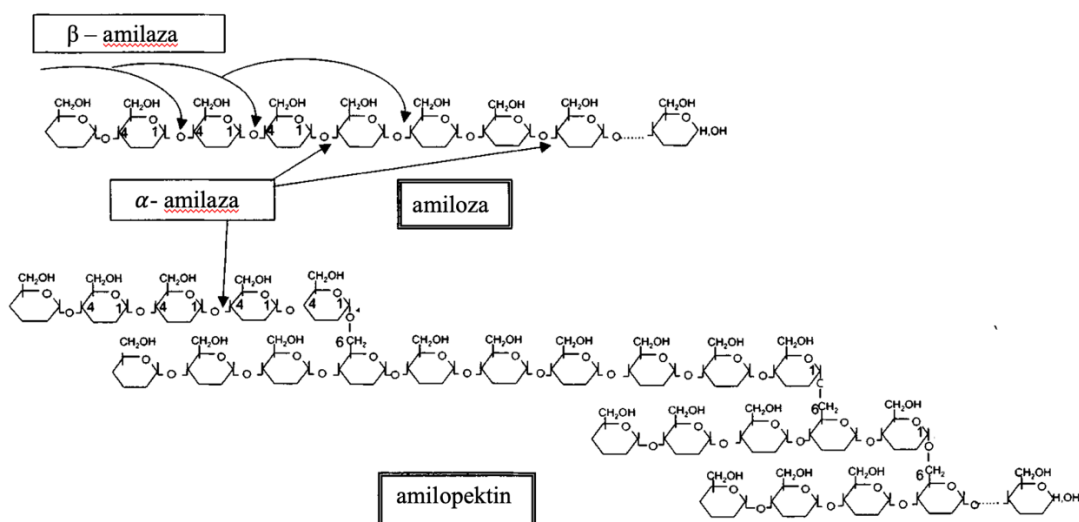
Enzimi su proteini čija katalitička aktivnost ovisi o parametrima poput temperature, pH vrijednostima, koncentraciji supstrata, kemikalijama, itd. [2]. Enzimi su specifični po tome što djeluju na samo određeni supstrat ili kataliziraju određenu vrstu reakcije. S obzirom na to da su enzimi proteini, mogu se denaturirati na visokim temperaturama, dok ih s druge strane niska temperatura neće uništiti, već će smanjiti njihovo katalitičko djelovanje [16]. Sadržaj enzima u brašnu daje uvid u kvalitetu krajnjih pekarskih proizvoda. Najvažnijim enzimima u brašnu se smatraju amilaze, čije je djelovanje usmjereno na molekule škroba te proteaze, koje djeluju na proteine i pretvaraju ih u jednostavnije spojeve. Osim njih, u pšeničnom brašnu možemo još pronaći i lipaze, fosfataze i oksidoreduktaze [17].

#### AMILAZE

Amilolitičke enzime koji hidroliziraju škrob na manje složene molekule, maltozu i dekstrine, možemo podijeliti u dvije skupine po mjestu djelovanja - endoenzime čije je mjesto djelovanja unutar polisaharidnog lanca i egzoenzime čije je mjesto djelovanja na krajnjim molekulama glavnog i bočnog lanca (Slika 5).  $\alpha$ -amilaza je primjer endoenzima, dok je  $\beta$ -amilaza primjer egzoenzima. Dakle,  $\beta$ -amilaza ima relativno jednostavno djelovanje jer cijepa samo  $\alpha$ -1,4-glikozidne veze s kraja lanca na jedinice maltoze, do mjesta grananja amilopektinskog lanca. Suprotno njoj,  $\alpha$ -amilaza cijepa  $\alpha$ -1,4-glikozidne veze amiloze i amilopektina unutar samih polisaharidnih lanaca. Zbog toga je razgradnja škroba na šećere pod utjecajem  $\alpha$ -amilaze znatno brža [16]. Šećeri koji nastanu pod utjecajem ovog enzima su bitni kvascima koji ih koriste prilikom fermentacije. Optimalna aktivnost  $\alpha$ -amilaze je pri vrijednostima pH 4,5 i temperature od 70 °C. Može se inaktivirati pri nižim pH vrijednostima od 3,3 do 4,0.

Škrob koji se nalazi u želatiniziranom stanju osjetljiviji je na djelovanje  $\alpha$ -amilaza u odnosu na škrob u granulama, ali je enzim manje aktivan pri temperaturi želatinizacije. Također, granule škroba koje sadrže pore na svojoj površini i kanale u unutrašnjosti su podložnije djelovanju enzima zbog slobodnog prolaza kroz otvore. Stoga, na hidrolizu granula utječu veličina i oblik zrna te prisustvo pora i kanala u zrnu, kao i stupanj oštećenosti škroba [8].

Djelovanje amilaze na škrob očituje se smanjenjem viskoznosti, gubitkom sposobnosti da zajedno s jodom daje plavu boju te stvaranjem maltoze i dekstrina [16].



Slika 5. Mjesta djelovanja alfa i beta amilaza (preuzeto i prilagođeno [9])

## PROTEOLITIČKI ENZIMI

Gluten se smatra jednom od najvažnijih komponenti pšeničnog brašna. Zbog toga će sve što je povezano ili što utječe na gluten i njegove sastavnice imati jednako važan utjecaj na konačan pekarski proizvod. Na razgradnju proteina glutena mogu utjecati proteolitički enzimi [18]. Oni razgrađuju složene proteine na jednostavnije. Dijele se na proteaze i peptidaze. Proteaze razgrađuju proteine na polipeptide i peptide, a zatim peptidaze njih hidroliziraju do aminokiselina [16]. Imaju brojne funkcionalne uloge u pekarstvu, od kojih su neke: skraćivanje vremena miješanja, poboljšanje obradivost tijesta i dulje zadržavanje plinova u njemu, povećanje sposobnosti upijanja vode i poboljšanje boje i okusa [18]. Količina proteolitičkih enzima znatno se povećava tijekom klijanja. Ukoliko dođe do infekcije proklijale pšenice, može doći do degradacije proteina što dovodi do smanjene konzistencije tijesta i smanjenog volumena samog konačnog proizvoda. U pravilu, prisustvo proteolitičkih enzima u brašnu nije poželjno, a ako je njihovo prisustvo ipak potrebno, tada se osigurava dodatkom različitih aditiva [16, 18].

## 1.2. REOLOŠKA SVOJSTVA TIJESTA OD PŠENIČNOG BRAŠNA

Deformacije i tečenje krutih i tekućih materijala pod utjecajem sile, proučava grana fizike koja se naziva reologija. Reološka svojstva su od izrazite važnosti za tehnološke procese u prehrambenoj industriji jer se njihovim praćenjem optimiziraju tehnološki parametri pri proizvodnji i uz pomoć njih je moguće odrediti optimalnu kvalitetu brašna. Kruti materijali

imaju svojstva elastičnosti i plastičnosti, a tekući pokazuju svojstvo viskoznosti. Kaže se da je materijal idealno elastičan ako mu se deformacija pojavi pod utjecajem sile, ali i nestane kada sila prestane djelovati. Plastičan materijal je onaj materijal kojemu deformacija ostane trajna nakon djelovanja sile [19].

Tijesto predstavlja viskoelastični sustav koje pokazuje i elastična i viskozna svojstva. To znači da mu je potrebna energija kako bi krenulo teći i energija da se dogodi deformacija te da se nakon prestanka djelovanja sile tijelo vrati u početni položaj. Uglavnom se smatra da je za ovakva svojstva odgovorna proteinska komponenta, odnosno gluten, ali veliku ulogu igraju i škrobna zrnca koja su okružena proteinima. Škrob zajedno s glutenom ima veliki značaj za samu teksturu i kvalitetu gotovog proizvoda. Osim spomenutih, za kvalitetu gotovog proizvoda su važni i amilolitički enzimi i pentozani. Naime, amilolitički enzimi hidroliziraju škrob na jednostavne, fermentabilne šećere koji postaju dostupni kvascima tijekom fermentacije, a gluten ima sposobnost zadržavanja nastalih plinova, što pridonosi konačnoj kvaliteti gotovog proizvoda [19, 20].

Postoje različiti uređaji koji su namijenjeni praćenju pojedinih svojstava i ponašanja tijesta u različitim fazama proizvodnje. Svojstva brašna, odnosno tijesta prilikom miješanja ispituju se pomoću farinografa i miksografa, a ekstenzograf i alveograf se koriste za ispitivanje reoloških svojstava tijesta u procesu oblikovanja, dok za praćenje tijeka želatinizacije i/ili za indirektno određivanje aktivnosti  $\alpha$ -amilaze se upotrebljavaju amilograf i uređaj za određivanje broja padanja [19].

### 1.2.1. ODREĐIVANJE REOLOŠKIH SVOJTAVA

#### FARINOGRAF

Farinograf (Brabender, Duisburg, Njemačka) je uređaj za određivanje jakosti (snage) tijesta pri miješanju u mjesilici uređaja. Princip rada se zasniva na mjerenju otpora koje tijesto pruža pri miješanju od trenutka dodatka brašna i vode u mjesilicu uređaja, tijekom razvoja tijesta koji završava postizanjem maksimalnog otpora (konzistencije), ali i tijekom daljnjeg miješanja sve do zaustavljanja miješalice. Ovim uređajem se precizno može odrediti sposobnost upijanja vode (%) uzorka brašna odnosno količinu vode koju je potrebno dodati brašnu kako bi se zamijesilo tijesto optimalne konzistencije. Osim toga, parametri koji se mogu očitati iz farinografske krivulje (farinograma) su razvoj tijesta (min), stabilnost tijesta (min), otpornost ili rezistencija tijesta (min) na miješanje te stupanj omekšanja tijesta (BU- engl. *Brabender Units*). Također se

iz farinograma mogu odrediti kvalitetni broj (0-100) i kvalitetne skupine brašna A1, A2, B1, B2, C1 i C2 [19, 21].

## **EKSTENZOGRAF**

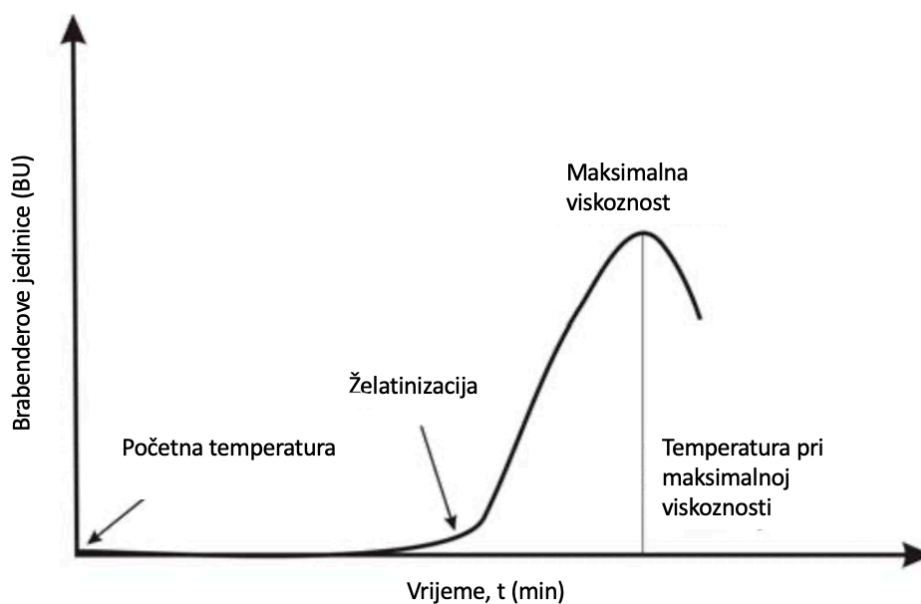
Ekstenzografom (Brabender, Duisburg, Njemačka) se mjeri otpor koji tijesto pruža rastezanju pri konstantnoj sili do trenutka pucanja. Prilikom rastezanja tijesta bilježe se podaci o otporu koje pruža tijesto pri čemu nastaje ekstenzografska krivulja (ekstenzogram). Parametri koji se očitavaju iz ekstenzograma su rastezljivost (mm), otpor tijesta na rastezanje (BU) koji predstavlja silu potrebnu da se tijesto istegne na duljinu od 50 mm, maksimalni otpor (BU) te energija (cm<sup>2</sup>) koja je predstavljena površinom ispod krivulje. Iz omjera otpora i rastezljivosti dobije se podatak o jakosti brašna koji bi za potrebe pekarske proizvodnje trebao iznositi između 1,5 i 2,5 [21, 22].

## **AMILOGRAF**

Amilograf (Brabender, Duisburg, Njemačka) je rotacijski viskozimetar koji prati tijek želatinizacije škroba iz suspenzije brašna i vode. Kao takav koristi se za indirektno praćenje aktivnosti enzima  $\alpha$ -amilaze. Mjerenje se provodi na način da se suspenzija brašna i vode stavlja u posudu u koju se zatim stavlja i miješalo koje se okreće konstantom brzinom. Od početne temperature (30 °C) suspenzija se zagrijava brzinom od 1,5 °C/min sve dok se ne postigne konačna temperatura od 95°C. Kada se suspenzija krene zagrijavati, kreću bubriti i granule škroba te nastaje viskozna smjesa. Amilograf mjeri otpor koji miješalica pruža nastanku gela stvarajući amilografsku krivulju (amilogram) (Slika 6). S amilograma se očitavaju temperatura želatinizacije (°C), maksimalna viskoznost (BU) i temperatura pri maksimalnoj viskoznosti (°C) [19]. Što je veći otpor miješalice na nastali gel, veća je maksimalna viskoznost. Zbog obrnuto proporcionalne ovisnosti maksimalne viskoznosti i amilolitičke aktivnosti, veća maksimalna viskoznost označava manju amilolitičku aktivnost. Proizvod koji ima malu amilolitičku aktivnost ima pore neujednačene veličine i mrvlji se. Suprotno tome, niska maksimalna viskoznost označava visoku amilolitičku aktivnost koja pridonosi nedovoljno pečenom proizvodu vlažne sredine. Kao što je već spomenuto u radu, oštećene škrobne granule nastale tijekom mljevenja mogu apsorbirati veću količinu vode pa su podložnije amilolitičkim enzimima i zapravo daju nižu maksimalnu viskoznost. Također je dokazano i da proteini koji su povezani sa škrobnim zrcima smanjuju viskoznost suspenzije pa se tako maksimalna



viskoznost suspenzije povećava nakon uklanjanja proteina pomoću alkalne otopine što se može objasniti na način da je uslijed uklanjanja proteina olakšan izlazak amiloze iz škrobnih granula i njihovim olakšanim bubrenjem [8]. Optimalne vrijednosti maksimalne viskoznosti za potrebe pekarske proizvodnje kreću se između 400 i 600 BU. Nedostatak upotrebe klasičnog amilografa je relativno velika količina uzorka brašna (80 g) i dugo vrijeme analize od cca 45 min.



Slika 6. Amilografska krivulja (preuzeto i prilagođeno [19])



Slika 7. Mikro visko-amilograf korišten u laboratoriju

Mikro visko-amilograf (Slika 7) je modificirana i unaprijeđena inačica klasičnog Brabenderovog Amilografa. Isto kao i klasični amilograf mjeri viskoznost suspenzije brašna i daje uvid u aktivnost  $\alpha$ -amilaze. Poboljšane karakteristike ovog uređaja su to što koristi manje količine uzoraka (5 – 15g) i što je moguće prilagođavati temperaturni režim zagrijavanja, ali i hlađenja škrobne paste što nije moguće provoditi na amilografu. Mikro visko-amilografom se mjeri početna temperatura želatinizacije, maksimalna viskoznost i temperatura pri kojoj je ostvarena maksimalna viskoznost te viskoznost suspenzije nakon hlađenja. Sustav automatski u programu izrađuje amilografsku krivulju mjerenja.

Ukoliko se amilografskom analizom želi ispitati isključivo utjecaj škroba na tijek želatinizacije, a bez utjecaja amilolitičkih enzima, enzimi se moraju prvo inaktivirati. To se najčešće provodi upotrebom otopine srebrovog nitrata te se u tom slučaju u pravilu uvijek dobiju veće vrijednosti maksimalne viskoznosti u odnosu na analizu provedenu s destiliranom vodom [23].

### 1.3. UPOTREBA MLIJEČNE KISELINE U ODREĐIVANJU KVALITETE BRAŠNA

S obzirom da je poznato da proteini brašna, a pogotovo proteini glutena, bubre u otopinama organskih kiselina, mliječna kiselina se upotrebljava u nekoliko standardiziranih metoda za određivanje kvalitete pšeničnog brašna. Najčešće se primjenjuju metoda određivanja sposobnosti zadržavanja otapala (SRC-engl. *Solvent retention capacity*) i sedimentacijski testovi.

Sposobnost zadržavanja otapala (SRC) predstavlja količinu otapala koju je brašno zadržalo nakon centrifugiranja suspenzije brašna i jednog od 4 korištena otapala. Otapala koja se koriste su destilirana voda, 50%-tna otopina saharoze, 5%-tna otopina mliječne kiseline i 5%-ni natrijev karbonat. Kada se radi SRC test s mliječnom kiselinom, u pravilu se ispituju karakteristike glutenina, SRC test s natrijevim karbonatom se koristi za ispitivanje količine oštećenog škroba, a test s otopinom saharoze nam služi za ispitivanje svojstava pentozana. S destiliranom vodom ispituju se ukupna retencijska svojstva, ali treba napomenuti da su svi pojedinačni SRC testovi s različitim otapalom međusobno povezani jer su sva navedena otapala na bazi vode. SRC nam daje korisne informacije o kvaliteti brašna, kao i o doprinosu pojedinačnih komponenti brašna namijenjenog proizvodnji pekarskih proizvoda, koje će samim time dati uvid u kvalitetu i svojstva krajnjeg proizvoda [12].

Zelenyjev sedimentacijski test koristi otopinu mliječne kiseline i izopropanola, a naknadno je test unaprijeđen i korištenjem natrijevog dodecil sulfata (SDS) kako bi test bio primjenjiv na

veći raspon rezultata. Ovaj test nam daje uvid u svojstva brašna na fizikalno – kemijskoj razini i pokazuje sposobnost brašna za agregacijom proteina. Rezultati sedimentacijskog testa su vjerodostojni kada se koriste uz ostale testove kvalitete pšenice. Također, utvrđeno je da su rezultati testa u korelaciji s dva kriterija kvalitete brašna, a to su količina proteina i brzina razvoja tijesta. Sedimentacijski test radi na principu mjerenja volumena taloga nastalog nakon sedimentacije suspenzije pšeničnog brašna u koju je dodana mliječna kiselina. Talog koji nastaje prilikom ovog testa je posljedica bubrenja proteina, odnosno glutena u slučaju pšenice, u razrijeđenoj mliječnoj kiselini. Razrijeđena mliječna kiselina djeluje tako što razlaže, odnosno razara stanice endosperma brašna pri čemu se olakšava hidratacija čestica. Kada se doda SDS u otopinu, on se veže na proteine koji se nalaze u uzorku i stvara se koloidni kompleks koji ima negativan naboj. Kako se međusobni negativni naboji odbijaju, u otopinu se dodaje mliječna kiselina koja djeluje tako što neutralizira negativne naboje i omogućava koloidnim česticama da formiraju veće nakupine koje će se taložiti kao sediment. Test se izvodi na način da se u cilindar s vodom doda određena količina brašna, zatim se izmiješa i pusti da odstoji. U međuvremenu se doda otopina 3%-tnog SDS-a i 2% mliječne kiseline. U otopinu se može dodati i bojilo, najčešće toluidin plavo, koja će olakšati očitavanje razine sedimentacije. Nakon toga cilindar se par puta preokrene i ostavi da miruje te se očita razina sedimentacije odnosno visina nastalog taloga u cilindru. Upravo zbog različite sposobnosti glutena da upija vodu možemo kvalitativno razlikovati brašna. Smatra se da samo jedna frakcija glutena, glutenin, može bubriti, dok se glijadin potpuno otapa. Bubrenje proteina je bitno u proizvodnji pekarskih proizvoda zato što olakšava stvaranje tijesta. Nedostatak ovog testa je da je validan samo pri testiranju pšenice s udjelom proteina do 13%. U slučaju povećanog udjela proteina on je neučinkovit i tako ne prikazuje stvarnu kvalitetu jakih zrna pšenice koje imaju visok udio proteina [24].

## **2. EKSPERIMENTALNI DIO**

### **2.1. MATERIJALI**

U istraživanju je korišteno deset uzoraka pšeničnog brašna T-550 koji su u prethodnim istraživanjima okarakterizirani kao uzorci jakog (4 uzorka), srednje jakog (4 uzorka) i slabog brašna (2 uzorka) prema kvalitetnim grupama određenim pomoću farinografa. Za određivanje viskoznosti suspenzije na amilografu, osim vode, kao otapalo je korištena 5%-tna otopina mliječne kiseline (w/w).

### **2.2. METODE**

#### **2.2.1. Ispitivanje kvalitete brašna standardnim metodama**

U prethodno provedenim istraživanjima na uzorcima brašna su određeni udjeli proteina (prema standardnoj metodi HRN EN ISO 5983-2:2010), te vlažnog i suhog glutena (prema metodi HRN EN ISO 21415-2:2015). Osim toga provedena su farinografska (standardna metoda HRN EN ISO 5530-1:2015) i ekstenzografska ispitivanja (metoda HRN EN ISO 5530-2:2015.) [25].

#### **2.2.2. Određivanje retencijske sposobnosti brašna prema vodi i otopini mliječne kiseline**

Određivanje retencijske sposobnosti brašna (SRC) provedeno je prema AACC standardnoj metodi 56-11.02. Uzorci brašna se važu (5 g) u polipropilenske kivete s konusnim dnom nakon čega se dodaje 25 g odgovarajućeg otapala (deionizirana voda ili 5%-tna otopina mliječne kiseline). Kivete se zatvaraju i snažno miješaju da bi se homogenizirala suspenzija. Miješanje se provodi svakih 5 min tijekom 20 minuta. Nakon toga se provodi centrifugiranje 15 min pri 1000 x g. Supernatant se odlije, a kivete se obrnu i cijede 10 minuta kako bi se osušile. Nakon sušenja kivete se važu te se računaju vrijednosti SRC i izražavaju se u postocima [26].

#### **2.2.3. Određivanje sedimentacijske vrijednosti po Zelenyju**

Sedimentacijska vrijednost određena je metodom HRN ISO 5529:2002. Usitnjena pšenica se suspendira u otopini mliječne kiseline određeno vrijeme pri čemu dolazi do taloženja suspenzije te se očitava volumen taloga tj. sedimentacijska vrijednost u cm<sup>3</sup> [25].

#### 2.2.4. Amilografsko određivanje viskoznosti

U radu je korišten uređaj Mikro visko-amilograf (Brabender OGH, Duisburg, Njemačka). U Erlenmeyerovoj tikvici su pripremane suspenzije od 40 g brašna i 80 g otapala (deionizirana voda ili 5%-tna otopina mliječne kiseline). Uzorci su pripremani tako da su se prvo na osnovi određenog udjela vode u brašnu računale korigirane mase uzoraka brašna i potrebnog dodatka vode (korekcija na 14%-tni udio vode). Nakon što je dobivena homogena suspenzija, iz tikvice se suspenzija prebacila u mjernu posudu uređaja te u ležište Mikro visko-amilografa. Ispitivanje je provedeno prema sljedećim parametrima:

- broj okretaja:  $250 \text{ min}^{-1}$
- mjerno područje: 300 cmg
- temperatura ispitivanja:  $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Brabender Visco-Graph softver bilježio je sve promjene viskoznosti te je iz dobivenih podataka dobivena krivulja promjene viskoznosti. Iz dobivene krivulje očitani su viskoznost nakon 1 min i viskoznost nakon 10 min miješanja (BU).

#### 2.3. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA

Statistička analiza provedena je upotrebom programa XLSTAT software (Addinsoft, New York, NY, USA). Međusobna ovisnost promatranih parametara analizirana je upotrebom Pearsonove korelacijske analize i predstavljena koeficijentom korelacije  $r$  ( $p < 0,05$ ).

### 3. REZULTATI

Tablica 1. Rezultati farinografskih ispitivanja

Oznaka uzorka	Upijanje vode (%)	Razvoj tijesta (min)	Stabilnost (min)	Rezistencija (min)	Stupanj omekšanja (FJ)	Kvalitetni broj	Kvalitetna grupa
1_A1	65,2	8,2	1,0	9,2	15	86,9	A1
2_A2	62,7	3,9	2,8	6,7	40	80,4	A2
3_A2	65,3	2,6	0,9	3,5	25	78,0	A2
4_A2	63,2	1,9	0,6	2,5	20	70,5	A2
5_B1	60,2	1,6	0,5	2,1	70	59,2	B1
6_B2	60,6	1,6	0,6	2,2	95	50,6	B2
7_B2	62,7	2,1	0,5	2,6	85	49,4	B2
8_B2	58,7	1,8	0,5	2,3	90	45,8	B2
9_C1	57,8	1,7	0,7	2,4	125	42,2	C1
10_C1	56,5	1,8	0,4	2,2	120	40,6	C1
$\bar{x}$	61,3	2,7	0,9	3,6	68,5	60,4	
MIN	56,5	1,6	0,4	2,1	15,0	40,6	
MAX	65,3	8,2	2,8	9,2	125,0	86,9	

\*A1, A2 – jako brašno; B1, B2 – srednje jako brašno; C1, C2 – slabo brašno

Tablica 2. Rezultati ekstenzografskih ispitivanja

Oznaka uzorka	Energija (cm <sup>2</sup> )	Rastezljivost (mm)	Otpor (EJ)	Maksimalni otpor (EJ)	Omjer (EJ/mm)
1_A1	145	195	365	615	1,87
2_A2	110	155	380	555	2,45
3_A2	118	165	380	580	2,30
4_A2	113	155	405	585	2,61
5_B1	120	158	395	575	2,50
6_B2	104	173	310	485	1,79
7_B2	95	156	330	480	2,12
8_B2	75	152	260	380	1,71
9_C1	71	173	235	305	1,36
10_C1	71	145	285	370	1,97
$\bar{x}$	102,2	162,7	334,5	493,0	2,1
MIN	71,0	145,0	235,0	305,0	1,4
MAX	145,0	195,0	405,0	615,0	2,6

\*A1, A2 – jako brašno; B1, B2 – srednje jako brašno; C1, C2 – slabo brašno

Tablica 3. Udio proteina i glutena

Oznaka uzorka	Proteini (%)	Vlažni gluten (%)	Suhi gluten (%)
1_A1	13,4	31,0	11,1
2_A2	13,4	37,5	11,9
3_A2	12,1	28,3	10,7
4_A2	10,6	24,8	8,5
5_B1	12,3	27,4	9,7
6_B2	9,4	20,1	6,9
7_B2	10,2	22,8	8,0
8_B2	9,9	19,5	6,5
9_C1	9,5	19,3	6,5
10_C1	9,4	19,7	7,5
$\bar{x}$	11,0	25,0	8,7
MIN	9,4	19,3	6,5
MAX	13,4	37,5	11,9

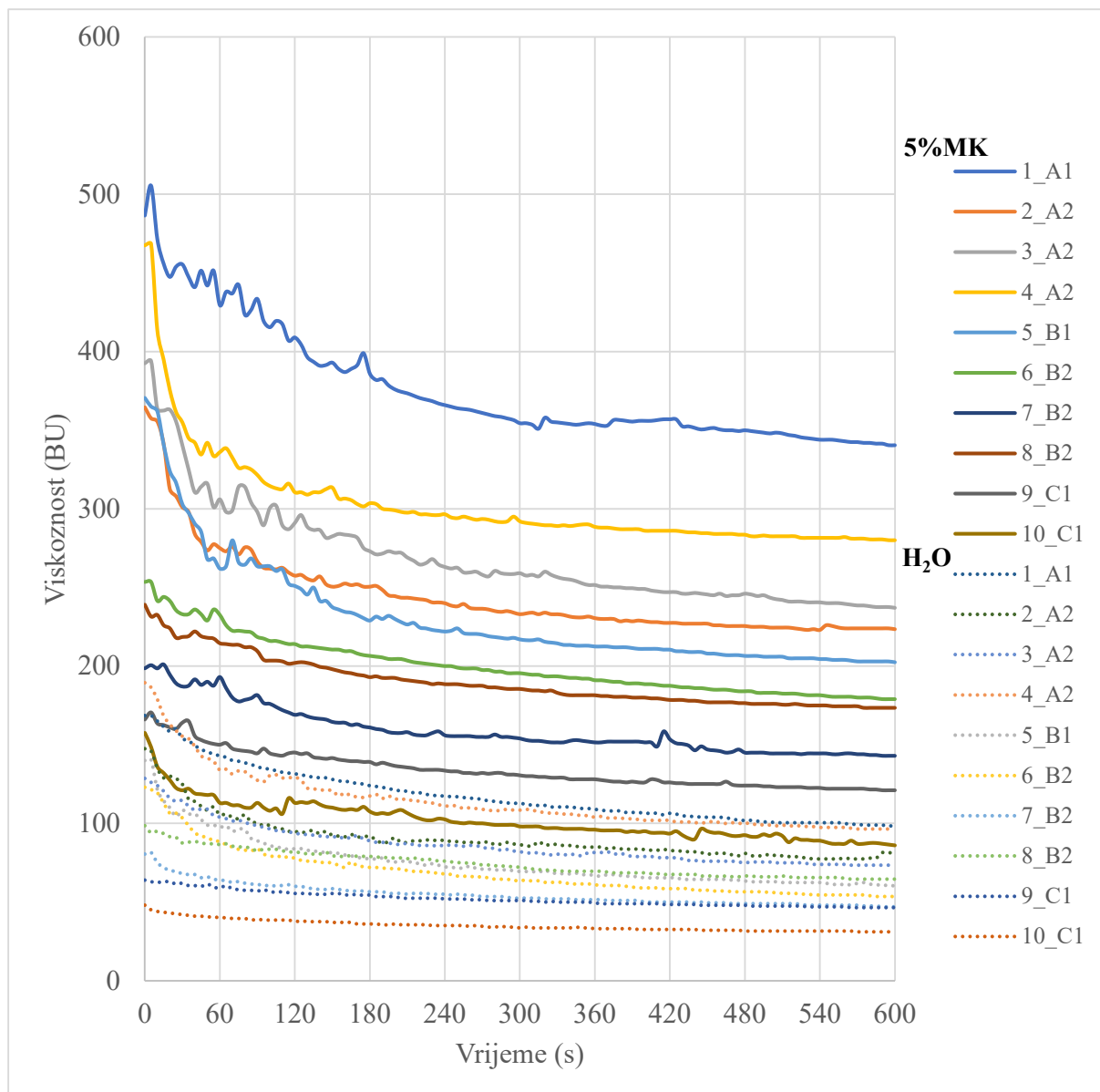
\*A1, A2 – jako brašno; B1, B2 – srednje jako brašno;  
C1, C2 – slabo brašno

Tablica 4. Retencijska sposobnost brašna SRC prema vodi i otopini mliječne kiseline (MK) i sedimentacijska vrijednost

Oznaka uzorka	SRC <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (%)	SRC <sub>5%MK</sub> (%)	Sedimentacijska vrijednost (cm <sup>3</sup> )
1_A1	69,5 ± 0,2	139,3 ± 0,1	37,0 ± 0,8
2_A2	71,2 ± 0,4	137,4 ± 0,2	37,8 ± 0,3
3_A2	73,4 ± 0,3	134,0 ± 0,4	33,1 ± 2,0
4_A2	61,4 ± 0,1	111,2 ± 0,2	28,8 ± 1,3
5_B1	66,2 ± 0,4	108,5 ± 0,8	29,8 ± 0,3
6_B2	64,5 ± 0,0	119,3 ± 1,5	27,8 ± 0,8
7_B2	68,9 ± 0,1	124,2 ± 1,4	24,5 ± 0,0
8_B2	60,2 ± 0,6	100,1 ± 0,0	24,3 ± 0,3
9_C1	58,6 ± 0,2	102,6 ± 0,2	24,3 ± 0,5
10_C1	51,6 ± 0,2	100,3 ± 0,1	19,3 ± 0,3
$\bar{x}$	64,6	117,7	28,6
MIN	51,6	100,1	19,3
MAX	73,4	139,3	37,8

\*prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija

\*\*A1, A2 – jako brašno; B1, B2 – srednje jako brašno; C1, C2 – slabo brašno



\*A1, A2 – jako brašno; B1, B2 – srednje jako brašno; C1, C2 – slabo brašno

Slika 8. Prikaz krivulja viskoznosti



Tablica 5. Viskoznost suspenzije određena amilografom

Oznaka uzorka	Viskoznost (1 min) <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (BU)	Viskoznost (10 min) <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (BU)	Viskoznost (1 min) <sub>5%MK</sub> (BU)	Viskoznost (10 min) <sub>5%MK</sub> (BU)
1_A1	143,0 ± 2,5	98,5 ± 1,5	429,5 ± 4,5	340,5 ± 1,5
2_A2	105,5 ± 1,0	81,0 ± 1,5	265,0 ± 1,0	223,5 ± 1,0
3_A2	104,0 ± 5,0	73,5 ± 1,5	306,0 ± 11,5	237,0 ± 6,5
4_A2	134,0 ± 9,0	96,5 ± 0,0	336,0 ± 1,0	270,0 ± 0,0
5_B1	97,5 ± 3,0	60,5 ± 0,0	262,0 ± 5,0	202,5 ± 0,0
6_B2	88,5 ± 2,5	53,5 ± 2,0	232,5 ± 16,0	179,0 ± 3,5
7_B2	64,0 ± 2,0	47,0 ± 0,5	193,0 ± 7,0	143,0 ± 2,0
8_B2	86,5 ± 7,5	64,5 ± 1,5	214,5 ± 11,0	173,5 ± 2,0
9_C1	59,0 ± 1,5	46,5 ± 0,5	150,0 ± 6,0	121,0 ± 0,5
10_C1	40,0 ± 0,5	31,0 ± 0,5	113,0 ± 8,5	86,0 ± 0,0
$\bar{x}$	92,2 ± 2,5	65,3 ± 1,5	250,2 ± 4,5	197,6 ±
MIN	40,0 ± 1,0	31,0 ± 1,5	113,0 ± 1,0	86,0 ±
MAX	143,0 ± 5,0	98,5 ± 1,5	429,5 ± 11,5	340,5 ±

\* prikazani podaci su srednja vrijednost ± standardna devijacija

\*\*A1, A2 – jako brašno; B1, B2 – srednje jako brašno; C1, C2 – slabo brašno

Tablica 6. Korelacije između viskoznost suspenzije i udjela proteina i glutena te retencijske sposobnosti brašna prema otapalima i sedimentacijske vrijednosti

	Proteini (%)	Vlažni gluten (%)	Suhi gluten (%)	SRC <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (%)	SRC <sub>5%MK</sub> (%)	SV (cm <sup>3</sup> )
Viskoznost (1 min) <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (BU)	<b>0,693</b>	0,622	0,625	0,567	0,573	<b>0,705</b>
Viskoznost (1 min) <sub>5%MK</sub> (BU)	<b>0,700</b>	<b>0,660</b>	<b>0,640</b>	<b>0,638</b>	0,574	<b>0,800</b>
Viskoznost (10 min) <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (BU)	<b>0,736</b>	0,629	<b>0,679</b>	<b>0,633</b>	<b>0,668</b>	<b>0,817</b>
Viskoznost (10 min) <sub>5%MK</sub> (BU)	<b>0,754</b>	<b>0,695</b>	<b>0,692</b>	<b>0,720</b>	<b>0,664</b>	<b>0,838</b>

\* istaknute vrijednosti Pearsonovog koeficijenta korelacije  $r$  su statistički značajne ( $p < 0,05$ )

Tablica 7. Korelacije između viskoznosti suspenzije i rezultata farinografskih ispitivanja

	Upijanje vode (%)	Razvoj tijesta (min)	Stabilnost (min)	Rezi-stencija (min)	Stupanj omekšavanja (FJ)	Kvalitetni broj
Viskoznost (1 min) <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (BU)	<b>0,777</b>	0,608	0,306	0,606	<b>-0,913</b>	<b>0,862</b>
Viskoznost (1 min) <sub>5%MK</sub> (BU)	<b>0,779</b>	0,625	0,408	<b>0,650</b>	<b>-0,923</b>	<b>0,876</b>
Viskoznost (10 min) <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (BU)	<b>0,846</b>	<b>0,721</b>	0,248	<b>0,684</b>	<b>-0,922</b>	<b>0,891</b>
Viskoznost (10 min) <sub>5%MK</sub> (BU)	<b>0,829</b>	<b>0,728</b>	0,310	<b>0,709</b>	<b>-0,927</b>	<b>0,904</b>

\* istaknute vrijednosti Pearsonovog koeficijenta korelacije  $r$  su statistički značajne ( $p < 0,05$ )

Tablica 8. Korelacije između viskoznosti suspenzije i rezultata ekstenzografskih ispitivanja

	Energija (cm <sup>2</sup> )	Rastezljivost (mm)	Otpor (EJ)	Maksimalni otpor (EJ)	Omjer (EJ/mm)
Viskoznost (1 min) <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (BU)	<b>0,855</b>	0,481	<b>0,720</b>	<b>0,831</b>	0,461
Viskoznost (1 min) <sub>5%MK</sub> (BU)	<b>0,766</b>	0,409	<b>0,671</b>	<b>0,761</b>	0,449
Viskoznost (10 min) <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (BU)	<b>0,919</b>	0,590	<b>0,715</b>	<b>0,860</b>	0,407
Viskoznost (10 min) <sub>5%MK</sub> (BU)	<b>0,900</b>	0,572	<b>0,706</b>	<b>0,844</b>	0,408

\* istaknute vrijednosti Pearsonovog koeficijenta korelacije  $r$  su statistički značajne ( $p < 0,05$ )

## 4. RASPRAVA

Budući da je amilograf u osnovi rotacijski viskozimetar, cilj ovog rada bio je ispitati mogućnost upotrebe njegove novije inačice mikro visko-amilografa u svrhu ispitivanja viskoznosti suspenzija pšeničnog brašna s vodom ili s otopinom mliječne kiseline. Ispitivanje je provedeno bez zagrijavanja suspenzije na način da se uređaj koristio kao obični viskozimetar za mjerenje viskoznosti suspenzije tijekom 10 min miješanja, a dobiveni rezultati su uspoređeni s ostalim pokazateljima kvalitete brašna poput udjela proteina i glutena, retencijske sposobnosti brašna prema vodi i otopini mliječne kiseline, sedimentacijske vrijednosti te farinografskih i ekstenzografskih parametara.

Uzorci brašna izabrani su na osnovi prethodno provedenih farinografskih analiza pri čemu se nastojalo izabrati što širi raspon kvalitete brašna te je tako odbrano deset uzoraka, od čega su četiri uzorka, s obzirom na podjelu u farinografske grupe kvalitete, okarakterizirana kao jako brašno (grupe A1 i A2), četiri kao srednje jako (B1 i B2) i dva uzorka kao slabo brašno (C1) (Tablica 1). Sposobnost upijanja vode kretala se od 56,5% za uzorak 10\_C1 do maksimalnih 65% za uzorak 1\_A1. Ova dva uzorka su ujedno i uzorci s najmanjim (40,6) i najvećim (86,9) kvalitetnim brojem što je bilo i očekivano jer je poznato da jača brašna upijaju više vode pri zamjesu tijesta optimalne konzistencije [27]. Iz Tablice 1 vidljivo je da su svi uzorci koji su svrstani u skupinu jakih brašna imala visoku sposobnost upijanja vode. Ovi uzorci su imali najduže vrijeme razvoja i stabilnosti tijesta te najmanji stupanj omekšanja, što ukazuje na njihovu vrlo visoku kvalitetu. Brašna sa stupnjem omekšanja ispod 75 BU smatraju se vrlo kvalitetnim, brašna sa stupnjem omekšanja u rasponu od 75 do 125 BU srednje kvalitete, a brašna sa stupnjem omekšanja preko 125 BU loše kvalitete za potrebe pekarske industrije [21].

Brašna koja su se pokazala kvalitetnim na farinografskoj analizi imali su i najbolje ekstenzografske pokazatelje, odnosno visok otpor i rastezljivost što je rezultiralo i s najvećim vrijednostima za energiju potrebnu za rastezanje tijesta (Tablica 2).

Udjeli proteina te vlažnog i suhog glutena također su bili najveći u uzorcima jakog brašna. Udio proteina kretao se od 9,4% za uzorak 10\_C1 do 13,4% za uzorak 1\_A1.

U Tablici 4 prikazani su rezultati određivanja sedimentacijske vrijednosti i retencijske sposobnosti brašna (SRC) prema vodi i otopini mliječne kiseline. Prosječna vrijednost SRC<sub>H2O</sub> uzorka iznosila je 64,6%, najveću vrijednost imao je uzorak 3\_A2 (73,4%), a najmanju uzorak 10\_C1 (51,6%) koji je ujedno imao i najmanje vrijednosti SRC<sub>MK</sub> (100,3%) i sedimentacije (19,3%) što ukazuje da se radilo o vrlo slabom brašnu s nekvalitetnim proteinima. Najbolju

kvalitetu s obzirom na SRC<sub>MK</sub> imao je uzorak 1\_A1 (139,3%), a s obzirom na sedimentacijsku vrijednost uzorak 2\_A2 (37,8 cm<sup>3</sup>). To je bilo i očekivano budući da su ova dva uzorka imala najveći udio proteina.

Na Slici 8 prikazane su krivulje viskoznosti dobivene ispitivanjem suspenzija brašna i 5%-tne otopine mliječne kiseline ili vode na mikro visko-amilografu bez zagrijavanja suspenzije. Budući da se suspenzija nije zagrijavala tijekom analize, nije moglo doći do želatinizacije škroba pa se pretpostavlja da je najveći utjecaj na viskoznost imala proteinska komponenta brašna, a ne škrobna. Nadalje, isključen je i utjecaj amilolitičkih enzima jer oni ne mogu hidrolizirati škrob koji nije želatiniziran, odnosno ne mogu djelovati pri niskim temperaturama (30 °C) na kojima se provodilo amilografsko ispitivanje. Vidljivo je da je prilikom korištenja mliječne kiseline kao otapala viskoznost suspenzije bila značajno veća nego prilikom korištenja vode. To se, kao i kod određivanja sedimentacijske vrijednosti, može pripisati bubrenju proteina u prisutnosti otopine mliječne kiseline [27]. Iz slike je vidljivo da se tijekom miješanja viskoznost suspenzije smanjuje što je uzrokovano mehaničkom razgradnjom proteinskih agregata. Viskoznost suspenzija se očitavala nakon 1 i 10 min miješanja. Početna viskoznost (0 min) nije uzimana u obzir jer je potrebno određeno vrijeme da se vrijednosti viskoznosti ustale. To je vidljivo iz podataka standardnih devijacija između dvije probe ispitivanja gdje su standardne devijacije prosječno veće nakon 1 min miješanja u odnosu na rezultate dobivene nakon 10 min (Tablica 5). Uzorci jačih brašna imali su značajno veću viskoznost tijekom miješanja u odnosu na uzorke slabih brašna, bilo da se radi o suspenziji brašna s vodom ili s otopinom mliječne kiseline. Također se može primijetiti da su međusobne razlike u viskoznosti suspenzija bile mnogo veće u slučaju korištenja otopine mliječne kiseline nego kad se koristila voda kao otapalo. Zbog toga se može pretpostaviti da se korištenjem mliječne kiseline mogu mnogo lakše međusobno razlikovati uzorci različite jakosti i kvalitete i sadržaja proteina.

Utvrđena je statistički značajna korelacija ( $p < 0,05$ ) između većine izmjerenih viskoznosti suspenzija i rezultata za udio proteina i glutena te rezultata ispitivanja retencijske sposobnosti brašna prema otapalima i sedimentacijske vrijednosti (Tablica 6). Može se primijetiti da su koeficijenti korelacije bili veći prilikom upotrebe mliječne kiseline kao otapala što se i očekivalo s obzirom na mnogo veće vrijednosti izmjerenih viskoznosti i veći raspon rezultata što je omogućilo lakše uočavanje razlika između uzoraka. Viskoznost izmjerena nakon 10 min u suspenziji brašna i otopine mliječne kiseline pokazala se kao najbolji prediktor prethodno navedenih parametara kvalitete pšeničnog brašna, a najveći koeficijent korelacije utvrđen je između viskoznosti (10 min) 5%MK i sedimentacijske vrijednosti ( $r = 0,838$ ).

Upotreba mliječne kiseline pokazala se poželjnom i kada se uspoređuju rezultati određivanja viskoznosti s farinografskim pokazateljima kvalitete (Tablica 7). Ove vrijednosti značajno su korelirale sa svim parametrima farinografskog ispitivanja osim sa stabilnosti tijesta. Najbolja korelacija utvrđena je između viskoznosti nakon 10 min miješanja s 5%-tnom otopinom mliječne kiseline i stupnja omekšanja tijesta ( $r = -0,927$ ) kao i kvalitetnog broja ( $r = 0,904$ ). Treba spomenuti da viskoznost korelirala s većinom farinografskih parametara i u slučaju kada je korištena voda kao otapalo, ali su koeficijenti korelacije ipak bili nešto niži nego prilikom korištenja mliječne kiseline. Ovi rezultati su u skladu s istraživanjem koje su proveli Saleh i sur. (2016) koji su također utvrdili statistički značajne korelacije između rezultata amilografskog ispitivanja suspenzije brašna i vode i farinografskih parametara [28], ali za razliku od naših istraživanja, oni su provodili zagrijavanje, odnosno želatinizaciju suspenzije. To je vjerojatno i uzrok što su u njihovom slučaju koeficijenti korelacije ipak bili niži nego u našem istraživanju jer se uz provođenje želatinizacije ne može izbjeći utjecaj amilolitičkih enzima koji su irelevantni pri farinografskoj analizi. Usporedbu rezultata amilografskog ispitivanja suspenzije brašna i vode s rezultatima farinografske i ekstenzografske analize proveli su i Hammed i sur. (2016) [29]. Oni su također provodili zagrijavanje suspenzije i utvrdili su statistički značajnu korelaciju između farinografske stabilnosti i pojedinih amilografskih pokazatelja (konačne viskoznosti i opadanja viskoznosti), kao i između farinografskog kvalitetnog broja i amilografskog opadanja viskoznosti. Osim toga, pronašli su i značajnu korelaciju između ekstenzografske rastezljivosti i amilografskog opadanja viskoznosti. Međutim, kao i u prethodnom slučaju, nisu u obzir uzeli aktivnost amilolitičkih enzima koji svojim djelovanjem mogu smanjiti preciznost predviđanja farinografskih i ekstenzografskih pokazatelja kvalitete. U našem istraživanju utvrđene su statistički značajne korelacije između viskoznosti i ekstenzografskih parametara energije, otpora i maksimalnog otpora, bez obzira na vrstu korištenog otapala i vrijeme miješanja (Tablica 8).

## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju ispitivanja provedenih u ovom radu može se zaključiti da se amilografskim ispitivanjem brašna bez klasične primjene zagrijavanja suspenzije, odnosno bez želatinizacije škroba, mogu uspješno predvidjeti kvalitativna svojstva brašna koje ovise o proteinskoj komponenti. Prilikom korištenja mliječne kiseline, a uslijed bubrenja i agregacije proteina, viskoznost suspenzije je značajno veća nego prilikom korištenja vode kao otapala što daje veći raspon rezultata, a samim tim olakšano je i uočavanje razlika između uzoraka. Rezultati amilografskog ispitivanja uz otopinu mliječne kiseline i miješanje od 10 min najbolje koreliraju s udjelom proteina i glutena, kao i s rezultatima farinografskog i ekstenzografskog ispitivanja.

## 6. LITERATURA

1. Weg Krstičević N, Petrović S, Rebekić A, Ačkar, Guberac S, Marić S. Varijabilnost amiloze i amilopektina ozime pšenice i selekcija za posebne namjene. *Poljoprivreda*. 2015;21:22–7.
2. Brlek T. Prosesi Tijekom Nalijevanja Zrna I Njihov Utjecaj Na Kakvoću Zrna Pšenice Namijenjenog Za Mlinsko-Pekarsku Industriju the Processes During Grain-Filling and Their Impact on Quality of Wheat Grain Intended for Mill and Bakery Industry. *Agron Glas*. 2018;173–86.
3. Branković G, Poštić D. The Influence of Year and Locality on Yield of Grain and Some Characteristics of Winter Wheat Brand. *Agron Glas*. 2019;291–304.
4. <https://www.vrtlarica.hr/wp-content/uploads/2019/09/uzgoj-psenice.jpg> (preuzeto 3. 9. 2022.).
5. Kovačević V, Rastija M. Žitarice. Žitarice. Osijek: Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet; 2014. 15–16 p.
6. Causgrove P, Shelton D. Wheat and Flour Testing Methods: A Guide to Understanding Wheat and Flour Quality [Internet]. Vol. 1, Wheat Marketing Center, Inc. Portland, Oregon: Wheat Marketing Center, Inc.; 2004. 1–73 p.
7. Balet S, Guelpa A, Fox G, Manley M. Rapid Visco Analyser (RVA) as a Tool for Measuring Starch-Related Physiochemical Properties in Cereals: a Review. *Food Anal Methods*. 2019;12:2344–60.
8. He Y, Lin Y, Chen C, Tsai M, Lin AH. Impacts of Starch and the Interactions Between Starch and Other Macromolecules on Wheat Falling Number. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2019;18:641–54.
9. Tester RF, Karkalas J, Qi X. Starch structure and digestibility Enzyme-Substrate relationship. *Worlds Poult Sci J*. 2004;60:186-195+248+250.
10. Olkku J, Rha CK. Gelatinisation of starch and wheat flour starch-A review. *Food Chem*. 1978;3:293–317.
11. Saulnier L, Sado PE, Branlard G, Charmet G, Guillon F. Wheat arabinoxylans: Exploiting variation in amount and composition to develop enhanced varieties. *J Cereal Sci*. 2007;46:261–81.
12. Kweon M, Slade L, Levine H. Solvent Retention Capacity (SRC) Testing of Wheat Flour: Principles and Value in Predicting Flour Functionality in Different Wheat-Based Food Processes and in Wheat Breeding—A Review. *Cereal Chem J*. 2011;88:537–52.
13. M. Victorio VC, O. Alves T, M. F. Souza GH, Gutkoski LC, Cameron LC, S. L. Ferreira M. NanoUPLC-MSE reveals differential abundance of gluten proteins in wheat flours of different technological qualities. *J Proteomics*. 2021;239:104181.

14. Hadnađev TD, Torbica A, Hadnađev M. Rheological properties of wheat flour substitutes/alternative crops assessed by Mixolab. *Procedia Food Sci.* 2011;1:328–34.
15. Kurtović K, Matković A, Jukić Ž, Jukić K. Promjene u kemijskom sastavu i reološkim svojstvima pšenice tijekom skladištenja. *Agron Glas.* 2019;80:385–402.
16. Jelača S. Hemija i tehnologija pšenice (priručnik za tehnologe i hemičare). Novi Sad: Jugoslovenski institut za prehrambenu industriju, Zavod za tehnologiju žita i brašna; 1972.
17. Stefan E. Falling Number Vs . Liquefaction Number in Alfa-Amylase Activity Estimation for Bakery Flour / Indicele De Cădere Vs . Indicele De Lichefiere În Estimarea Activității Alfa-Amilazice ... Falling Number Vs . Liquefaction Number in Alfa-Amylase Activity. 2015;
18. Whitehurst RJ, van Oort M. *Enzymes in Food Technology: Second Edition.* Enzymes in Food Technology: Second Edition. 2009. 1–368 p.
19. Dapčević T, Pojić M, Hadnađev M, Torbica A. The Role of Empirical Rheology in Flour Quality Control. In: *Wide Spectra of Quality Control.* InTech; 2011. p. 335–55.
20. Perten H. Application of the falling number method for evaluating alpha-amylase activity. *Cereal Chem.* 1964;41:127–40.
21. Đaković L. Pšenično brašno : fizičko-hemijski osnovi određivanja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna. Novi Sad: Tehnološki fakultet : Zavod za izdavanje udžbenika; 1980.
22. Milan Žeželj. Tehnologija žita i brašna I. Novi Sad: Tehnološki fakultet; 1995.
23. Mariotti M, Zardi M, Lucisano M, Pagani MA. Influence of the heating rate on the pasting properties of various flours. *Starch/Staerke.* 2005;57:564–72.
24. Williams P, Lindhauer MG, Poms RE, Wehling RL, Bergthaller W, Gaines CS. The joint AACC International - ICC methods harmonization project. *Cereal Foods World.* 2008;53:99–102.
25. *Iso Standard Methods.* Geneve, Switzerland: International Organization for Standardization (ISO); 2015.
26. *AACC Approved Methods of Analysis.* 11th ed. ST. Paul: AACC International; 2010.
27. Sapirstein H, Wu Y, Koksel F, Graf R. A study of factors influencing the water absorption capacity of Canadian hard red winter wheat flour. *J Cereal Sci.* 2018;81:52–9.
28. Saleh M, Amr A, Mehayar G, Ondier G. Predicting farinograph parameters by rapid visco analyser pasting profile using partial least square regression. *Qual Assur Saf Crop Foods.* 2016;8:41–9.
29. Hammed AM, Ozsisli B, Simsek S. Utilization of Microvisco-Amylograph to Study Flour, Dough, and Bread Qualities of Hydrocolloid/Flour Blends. *Int J Food Prop.* 2016;19:591–604.