

# Određivanje kvalitete pšeničnog brašna pomoću metode broja padanja po Hagberg-Pertenu uz upotrebu otopine mliječne kiseline

---

Debeljak, Matea

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:850783>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**

Repository / Repozitorij:

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



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

**ODREĐIVANJE KVALITETE PŠENIČNOG BRAŠNA  
POMOĆU METODE BROJA PADANJA PO  
HAGBERG-PERTENU UZ UPOTREBU OTOPINE  
MLIJEČNE KISELINE**

**DIPLOMSKI RAD**

**MATEA DEBELJAK**

**Matični broj:49**

**Split, prosinac 2022.**



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

**ODREĐIVANJE KVALITETE PŠENIČNOG BRAŠNA  
POMOĆU METODE BROJA PADANJA PO  
HAGBERG-PERTENU UZ UPOTREBU OTOPINE  
MLIJEČNE KISELINE**

**DIPLOMSKI RAD**

**MATEA DEBELJAK**

**Matični broj: 49**

**Split, prosinac 2022.**

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

**DETERMINATION OF THE QUALITY OF WHEAT  
FLOUR BY THE HAGBERG-PERTEN FALLING  
NUMBER METHOD USING A LACTIC ACID  
SOLUTION**

**DIPLOMA THESIS**

**MATEA DEBELJAK**

**Parent number: 49**

**Split, December 2022.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijско-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 Kemijско-tehnološkog fakulteta održanoj 18. ožujka 2022. godine.

**Mentor:** prof. dr. sc. Marko Jukić

### ODREĐIVANJE KVALITETE PŠENIČNOG BRAŠNA POMOĆU METODE BROJA PADANJA PO HAGBERG-PERTENU UZ UPOTREBU OTOPINE MLIJEČNE KISELINE

Matea Debeljak, 49

**Sažetak:** Zadatak ovog rada bio je ispitati utjecaj otopine mliječne kiseline u određivanju broja padanja po Hagberg-Pertenu u odnosu na standardno određivanje s vodom kao otapalom u uzorcima pšeničnog brašna. Osim toga, ispitan je i utjecaj upotrebe otopine srebrovog nitrata kao sredstva za inaktivaciju amilolitičkih enzima. U radu je korišteno deset uzoraka pšeničnog brašna različite tehnološke kvalitete (četiri jaka, četiri srednje jaka i dva slaba brašna). Provedena je i usporedba dobivenih rezultata određivanja broja padanja s farinografskim i ekstenzografskim pokazateljima kvalitete pšeničnog brašna, kao i s udjelima proteina i glutena te s retencijskom sposobnosti brašna prema vodi i otopini mliječne kiseline i sa sedimentacijskom vrijednosti. Na temelju ispitivanja provedenih u ovom radu može se zaključiti da se upotrebom metode određivanja broja padanja uz korištenje otopina mliječne kiseline i srebrovog nitrata uspješno mogu predvidjeti kvalitativna svojstva brašna ovisna o proteinskoj komponenti. Prilikom korištenja navedenih otopina dolazi do djelomične ili potpune inaktivacije amilolitičkih enzima tako da oni više ne utječu na viskoznost škrobne paste pa se doprinos proteinske komponente brašna viskoznosti suspenzije može bolje uočiti. Iz provedene korelacijske analize može se također zaključiti da se kvalitativna svojstva brašna bolje mogu predvidjeti korištenjem otopine srebrovog nitrata nego li korištenjem otopine mliječne kiseline jer rezultati broja padanja uz upotrebu srebrovog nitrata koreliraju s više pokazatelja kvalitete brašna, a korelaciju su značajnije.

**Ključne riječi:** broj padanja, mliječna kiselina, srebrov nitrat, kvaliteta pšeničnog brašna, proteini pšenice

**Rad sadrži:** 28 stranica, 11 slika, 3 tablice, 34 literaturna 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:** 15. prosinca 2022.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijско-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

### DETERMINATION OF THE QUALITY OF WHEAT FLOUR BY THE HAGBERG-PERTEN FALLING NUMBER METHOD USING A LACTIC ACID SOLUTION

Matea Debeljak, 49

**Summary:** The aim of this study was to investigate the influence of the lactic acid solution in the determination of the Hagberg-Perten falling number in comparison with the standard determination using water as solvent in wheat flour samples. In addition, the influence of using silver nitrate solution as an agent to inactivate amylolytic enzymes was also investigated. Ten samples of wheat flour of different technological quality were (four strong, four medium and two weak flours). A comparison of the obtained results for the determination of the falling number with farinographic and extensographic quality indicators of wheat flour, as well as with the protein and gluten content, with the water and lactic acid retention capacity of the flour and sedimentation value was also carried out.

Based on the obtained results, it can be concluded that the qualitative properties of flour depending on the protein component can be successfully predicted by the falling number method using lactic acid and silver nitrate solutions. When the above solutions are used, the amylolytic enzymes are partially or completely inactivated so that they no longer affect the viscosity of the starch paste, so that the contribution of the protein component of the flour to the viscosity of the suspension can be better identified. From the correlation analysis performed, it can also be concluded that the qualitative properties of the flour can be better predicted with a silver nitrate solution than with a lactic acid solution, since the falling number results correlate with more flour quality indicators when silver nitrate is used and the correlations are more significant.

**Keywords:** falling number, lactic acid, silver nitrate, wheat flour quality, wheat proteins

**Thesis contains:** 28 pages, 11 figures, 3 tables, 34 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:** December 15, 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 vodstvu tijekom izrade ovog diplomskog rada. Veliko hvala za susretljivost i srdačnost ukazanu na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu u Osijeku.*

*Posebnu zahvalnost želim iskazati svojim roditeljima koji su uvijek bili moja najveća podrška.*

## **ZADATAK DIPLOMSKOG RADA**

Zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj otopine mliječne kiseline, kao i otopine srebrovog nitrata, u određivanju broja padanja po Hagberg-Pertenu u odnosu na standardno određivanje s vodom kao otapalom u uzorcima pšeničnog brašna različite tehnološke kvalitete. Osim toga, korelacijskom analizom pokušala se utvrditi eventualna međuovisnost dobivenih rezultata određivanja broja padanja s farinografskim i ekstenzografskim pokazateljima kvalitete pšeničnog brašna, kao i s udjelima proteina i glutena te s retencijskom sposobnosti brašna prema vodi i otopini mliječne kiseline i sa sedimentacijskom vrijednosti.

## SAŽETAK

Zadatak ovog rada bio je ispitati utjecaj otopine mliječne kiseline u određivanju broja padanja po Hagberg-Pertenu u odnosu na standardno određivanje s vodom kao otapalom u uzorcima pšeničnog brašna. Osim toga, ispitan je i utjecaj upotrebe otopine srebrovog nitrata kao sredstva za inaktivaciju amilolitičkih enzima. U radu je korišteno deset uzoraka pšeničnog brašna različite tehnološke kvalitete (četiri jaka, četiri srednje jaka i dva slaba brašna). Provedena je i usporedba dobivenih rezultata određivanja broja padanja s farinografskim i ekstenzografskim pokazateljima kvalitete pšeničnog brašna, kao i s udjelima proteina i glutena te s retencijskom sposobnosti brašna prema vodi i otopini mliječne kiseline i sa sedimentacijskom vrijednosti.

Na temelju ispitivanja provedenih u ovom radu može se zaključiti da se upotrebom metode određivanja broja padanja uz korištenje otopina mliječne kiseline i srebrovog nitrata uspješno mogu predvidjeti kvalitativna svojstva brašna ovisna o proteinskoj komponenti. Prilikom korištenja navedenih otopina dolazi do djelomične ili potpune inaktivacije amilolitičkih enzima tako da oni više ne utječu na viskoznost škrobne paste pa se doprinos proteinske komponente brašna viskoznosti suspenzije može bolje uočiti. Iz provedene korelacijske analize može se također zaključiti da se kvalitativna svojstva brašna bolje mogu predvidjeti korištenjem otopine srebrovog nitrata nego li korištenjem otopine mliječne kiseline jer rezultati broja padanja uz upotrebu srebrovog nitrata koreliraju s više pokazatelja kvalitete brašna, a korelaciju su značajnije.

**Ključne riječi:** broj padanja, mliječna kiselina, srebrov nitrat, kvaliteta pšeničnog brašna, proteini pšenice

## **SUMMARY**

The aim of this study was to investigate the influence of the lactic acid solution in the determination of the Hagberg-Perten falling number in comparison with the standard determination using water as solvent in wheat flour samples. In addition, the influence of using silver nitrate solution as an agent to inactivate amyolytic enzymes was also investigated. Ten samples of wheat flour of different technological quality were (four strong, four medium and two weak flours). A comparison of the obtained results for the determination of the falling number with farinographic and extensographic quality indicators of wheat flour, as well as with the protein and gluten content, with the water and lactic acid retention capacity of the flour and sedimentation value was also carried out.

Based on the obtained results, it can be concluded that the qualitative properties of flour depending on the protein component can be successfully predicted by the falling number method using lactic acid and silver nitrate solutions. When the above solutions are used, the amyolytic enzymes are partially or completely inactivated so that they no longer affect the viscosity of the starch paste, so that the contribution of the protein component of the flour to the viscosity of the suspension can be better identified. From the correlation analysis performed, it can also be concluded that the qualitative properties of the flour can be better predicted with a silver nitrate solution than with a lactic acid solution, since the falling number results correlate with more flour quality indicators when silver nitrate is used and the correlations are more significant.

**Keywords:** falling number, lactic acid, silver nitrate, wheat flour quality, wheat proteins

## Sadržaj

UVOD .....	1
1. OPĆI DIO.....	2
1.1. PŠENICA.....	2
1.1.2. KEMIJSKI SASTAV ZRNA I BRAŠNA PŠENICE .....	4
1.2. REOLOŠKA SVOJSTVA TIJESTA OD PŠENIČNOG BRAŠNA.....	8
1.3. UPOTREBA MLIJEČNE KISELINE U ODREĐIVANJU KVALITETE BRAŠNA ...	12
2. EKSPERIMENTALNI DIO.....	14
2.1. MATERIJALI .....	14
2.2. METODE.....	14
2.3. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA.....	15
3. REZULTATI.....	16
4. RASPRAVA.....	22
5. ZAKLJUČCI.....	25
6. LITERATURA.....	26

## UVOD

Kako bi se proizveo kvalitetan pekarski proizvod, jako je važno poznavati tehnološku kvalitetu i svojstva brašna, ponašanje tijesta tijekom zamjesa, fermentacije i pečenja. Kvalitetu brašna određuju jakost brašna i sposobnost razvoja plinova. Na jakost brašna utječe proteinski kompleks brašna (količina i kvaliteta proteina glutena, proteolitičkih enzima te aktivatora i inhibitora proteolize), udio škroba i granulacija brašna, udio pentozana, masti i enzima. Uobičajeno se za ispitivanje kvalitete brašna i predviđanja gotovog proizvoda na bazi brašna koriste različite analitičke metode poput određivanja udjela proteina i glutena, kao i različiti reološki uređaji za ispitivanje tijesta. Za praćenje svojstava tijesta tijekom zamjesa često se koristi farinograf pri čemu se dobivaju podaci o sposobnosti upijanja vode brašna te o optimalnom vremenu miješanja tijesta, dok se za procjenu rastezljivosti i elastičnosti tijesta koristi ekstenzograf.

Osim toga, koristi se i čitav niz različitih tzv. „brzih“ metoda koje su zasnovane na sposobnosti bubrenja pojedinih komponenti brašna u različitim otopinama kojima se na relativno jednostavan i brz način mogu dobiti korisne informacije o kvaliteti pšeničnog brašna. Tako se na osnovi rezultata određivanja sedimentacijske vrijednosti prema Zelenyiju i određivanja retencijske sposobnosti zadržavanja otopine mliječne kiseline dobivaju informacije o kvaliteti proteina.

Ispitivanje brašna pomoću metode određivanja broja padanja po Hagberg-Pertenu se koristi za indirektnu procjenu amilolitičke aktivnosti uzoraka brašna nakon njihove brze želatinizacije. Ovom metodom ne mogu se dobiti informacije o kvaliteti proteinske komponente brašna jer rezultat ispitivanja (broj padanja), odnosno viskoznost suspenzije nakon želatinizacije, u najvećoj mjeri ovisi o aktivnosti amilolitičkih enzima brašna pri čemu nije vidljiv utjecaj proteinske komponente. Upravo zbog toga zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj otopine mliječne kiseline, kao i otopine srebrovog nitrata, u određivanju broja padanja po Hagberg-Pertenu u odnosu na standardno određivanje s vodom kao otapalom u uzorcima pšeničnog brašna različite tehnološke kvalitete kako bi se utvrdilo da li postoji eventualna međuovisnost između rezultata dobivenih modificiranom metodom određivanja broja padanja i rezultata farinografskih i ekstenzografskih ispitivanja kao i udjela proteina i glutena te retencijske sposobnosti brašna prema vodi i otopini mliječne kiseline i sedimentacijske vrijednosti.

## 1. OPĆI DIO

### 1.1. PŠENICA

Pšenica (*Triticum species*) je žitarica koja pripada porodici trava (*Poaceae*), odnosno rodu *Triticum*. To je jednogodišnja biljka koja se još od davnina koristi u ljudskoj i životinjskoj prehrani. Poznato je preko 20 vrsta, a nove sorte se identificiraju svake godine. Prema botaničkim i tehnološkim svojstvima to je pravo, krušno žito s cvatom u obliku klasa iz kojeg se mljevenjem dobiva brašno. Pšenica se uzgaja svugdje u svijetu te je danas jedan od najzastupljenijih usjeva na ratarskim površinama. Najveći proizvođači pšenice su Kina, SAD, Rusija, Indija, Kanada i Francuska. U Hrvatskoj se pšenica uzgaja na prosječno 180 000 ha. Njezinoj rasprostranjenosti doprinijeli su dobra adaptabilnost na različite klimatske uvjete i visoki prinosi. Velika važnost i prednost pšenice u odnosu na druge žitarice leži u karakteristikama koje posjeduje zrno, a samim tim i pšenično brašno. Pšenica se može nazvati jedinstvenom žitaricom zbog svojih svojstava [1].

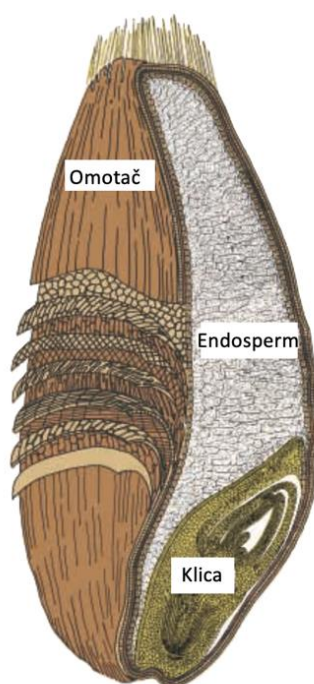


Slika 1. Pšenica [2]

Pšenica je osnovna sirovina u mlinarstvu i ima širok raspon primjene. Stoga se pšenično brašno sortira prema kvaliteti i namjeni. Najviše se ističu vrste *Triticum aestivum*, *Triticum durum* i *Triticum compactum*. *Triticum aestivum* je najznačajnija u proizvodnji kruha, *Triticum durum* u proizvodnji pšenice, dok je *Triticum compactum* najpogodnija za preradu u fine pekarske proizvode. Kvalitetu pšenice i njenih prerađevina određuju mnoga svojstva poput: sortnih osobina zrna, fizikalnih i kemijskih svojstava, udjela vode, itd. [1,3,4].

### 1.1.1. GRAĐA ZRNA PŠENICE

Plod pšenice je zrno koje se razlikuje po veličini i obliku od vrste do vrste. Glavni dijelovi zrna su: ovojnica (omotač), endosperm i klica. Omotač se sastoji od vanjskog dijela (plodna ovojnica) i unutarnjeg dijela (sjemena ovojnica) te je žilav i elastičan. Zauzima 12-15% od ukupne mase zrna, a uloga mu je zaštita klice i omogućuje upijanje vode koja je potrebna za klijanje i bubrenje zrna. Zauzimajući preko 80% zrna, endosperm čini najveći dio i ima najvažniju ulogu. Sastoji se od aleuronskog sloja i jezgre endosperma. Aleuronski sloj je biološki najaktivniji dio zrna pšenice jer sadrži enzime. Endosperm je bogat škrobom (glavna komponenta zrna) i proteinima (odgovorni za reološka svojstva brašna). Iz endosperma se u procesu mljevenja izdvajaju posije te se nakon toga melje u brašno. Klica je začetnik nove biljke i njen udio u zrnu je oko 1,5-3%. U procesu prerade žitarica klica je sirovina za proizvodnju ulja i koncentrata vitamina [5].



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



## **1.1.2. KEMIJSKI SASTAV ZRNA I BRAŠNA PŠENICE**

### **1.1.2.1. PROTEINI**

Proteina ima u svim dijelovima pšeničnog zrna, odgovorni su i zaslužni za tehnološku kvalitetu brašna i proizvode koji će nastati od brašna. Sadržaj proteina i prinos pšenice su u većini slučajeva u negativnoj korelaciji. Zbog ponešto niže razine esencijalnih aminokiselina triptofana i lizina, biološka vrijednost proteina pšenice je niska. Na količinu proteina u zrnu utječe nekoliko faktora, a najznačajniji su genotip, uvjeti uzgoja, tj. tlo i klima. Udio proteina u pšenici, odnosno brašnu kreće se od 6 do 20% ovisno o vrsti pšenice. Imaju nutritivna i jako bitna funkcionalna svojstva - elastičnost i plastičnost. Aleuronski sloj je najbogatiji proteinima, a zatim slijede klica, omotač i endosperm [7].

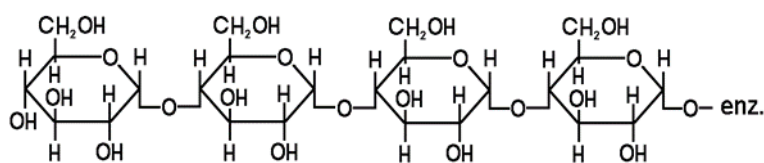
Proteini pšeničnog brašna dijele se na topljive u vodi i razrijeđenim otopinama soli i na netopljive. Topljivi proteini se još nazivaju i neglutenski njima pripadaju albumin i globulin. Koncentrirani su većinom u aleuronskom sloju. Netopljivi su glutenski glijadin i glutenin, a to su skladišni proteini pohranjeni najvećim dijelom u endospermu. Odgovorni su za tehnološka svojstva brašna. Glijadin pridonosi viskoznosti i rastezljivosti tijesta, a glutenin je odgovoran za čvrstoću i elastičnost. U vodi glijadin i glutenin zajedno formiraju gluten, odnosno ljepak. Gluten pšenice važi za najkvalitetniji protein zbog svojstava i omjera glijadina i glutenina koji u konačnici daju porozan i voluminozan proizvod. Struktura i svojstva glutena određeni su u velikoj mjeri i disulfidnim vezama kojima su povezani proteini glutena. Stabilizacija prostorne strukture proteina uvjetovana je unutarlančanim vezama, dok su međulančane veze zaslužne za stvaranje velikih polimera glutenina [1,8].

### **1.1.2.2. UGLJIKOHIDRATI**

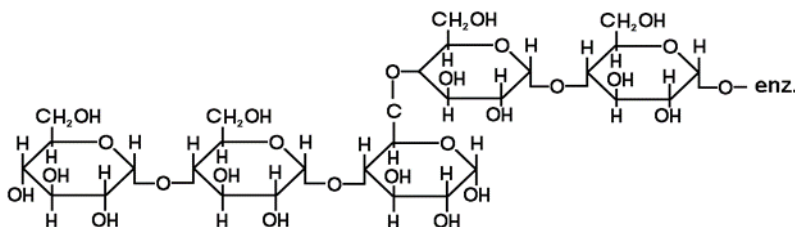
O važnosti ugljikohidrata u zrnu i brašnu najviše govori podatak da njihov udio može dosegnuti 80% ukupne težine zrna. Ugljikohidrati koji su prisutni dijele se na monosaharide (glukoza, fruktoza), disaharide (saharoza, maltoza) i polisaharide (škrob, celuloza, pentozani, neškrobni polisaharidi). Udio ugljikohidrata uvelike ovisi o sorti, dobi sjetve, uvjetima razvoja biljke, vlažnosti, enzimskoj aktivnosti, uvjetima skladištenja, itd. [9].

## ŠKROB

Škrob je glavni izvor ugljikohidrata za čovjeka, osim toga ima široku primjenu i u raznim drugim industrijama. U pšeničnom zrnu škrob je sastavni dio endosperma i glavna komponenta. To je polisaharid koji se pojavljuje u obliku malih ili velikih granula. Škrob je polimer koji je izrađen od međusobno povezanih jedinica D-glukoze povezanih  $\alpha$ -1,4-glikozidnom vezom. Sastoji se od dva ugljikohidrata, a to su amiloza (25%) i amilopektin (75%). U hladnoj vodi, eteru i alkoholu je netopljiv, a u vrućoj vodi je djelomično topljiv i tvori škrobno ljepilo, odnosno gustu koloidnu otopinu [9,10].



Slika 3. Struktura amiloze (preuzeto i prilagođeno [11])



Slika 4. Struktura amilopektina (preuzeto i prilagođeno [12])

Amiloza je linearna molekula građena od 1500 do 6000 glukoza jedinica koje su većinom povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnom vezama, a jako mali dio je povezan i  $\alpha$ -1,6-glikozidnom vezom. Sadržaj amiloze i strukture molekula škroba značajno utječu na fizikalna svojstva i brzinu probave škroba, što može imati značajan utjecaj na teksturu, stabilnost skladištenja i hranjivu vrijednost proizvoda od žitarica. Za razliku od amiloze, amilopektin je razgranata i puno veća molekula koja može sadržavati oko 100 000 glukoza jedinica.  $\alpha$ -1,6-glikozidna veza u amilopektinu dolazi nakon svakih 20-30 glukoza jedinica povezanih  $\alpha$ -1,4-glikozidnom vezom. Amiloza i amilopektin u škrobu su povezani vodikovim vezama i oblikuju guste micelle. Udio amilopektina u molekuli škroba je veći od amiloze. Granule škroba imaju radijalnu

organizaciju i kristalastu građu [7]. Amorfna područja granula čine amiloza i područja grananja amilopektina, a kristalaste slojeve čine vanjski linearni lanci amilopektina. Tijekom formiranja tijesta, škrobne granule prolaze kroz dvije važne faze: želatinizacija i retrogradacija. Te promjene kroz koje škrob prolazi određuju kvalitetu i prihvatljivost pekarskih proizvoda. Proces želatinizacije kreće kada se granule zagrijavaju na 45 °C uz dovoljno vode i počinju bubriti. Prvo bubre amorfni slojevi, dio amiloze se odvaja iz cjelovitih granula u vodu. Škrobnoj suspenziji zbog toga se povećava viskoznost i stvara gel dok granule ne postignu svoj najveći volumen (na 60-66 °C) [13]. Otapanje amiloze u vodi i povećanje viskoznosti se u praksi naziva i „ispiranje amiloze“ i u toj fazi se odvajaju amiloza i amilopektin. Povećanjem temperature granule pucaju i stvorena suspenzija dostiže svoju konačnu viskoznost. Želatinizacija škroba je bitna promjena tijekom pečenja zbog toga što se time poboljšava struktura pekarskih proizvoda, zadržava vlažnost, povećava volumen i produžava rok trajanja. Od velike važnosti je i to kada se želatinizacija događa. Ako se odvije prerano, proizvodu se neće povećati volumen, s druge strane ako zakasni, tijesto se nakon što se podiglo brzo i smanji. Procesom želatinizacije škrob postaje izrazito podložan aktivnosti enzima amilaze [5,12]. Retrogradacija označava proces u kojem se molekule škroba nakon hlađenja povezuju vodikovim vezama te prelaze u uređenije, netopljivo stanje s manje energije. Molekule amiloze ponovno se udružuju u dvostruke zavojnice, stvara se gel odnosno kristalna struktura koja se ponovnim zagrijavanjem ne može otopiti. Tada započinje i retrogradacija amilopektina koja može trajati i danima. Dakle iz otopljenog i amornog stanja škrob „seli“ u netopljivo, kristalnu i termodinamički povoljniju strukturu. Za razliku od želatinizacije, retrogradacija škroba nije poželjna, jer je taj proces najodgovorniji za starenje pekarskih proizvoda, naročito retrogradacija amilopektina koja se odvija puno sporije nego retrogradacija amiloze. Na retrogradaciju škroba utječu pH i interakcije s ostalim šećerima i lipidima [14].

## NEŠKROBNI POLISAHARIDI

Arabinoksilani i  $\beta$ -glukani pripadaju neškrobnim polisaharidima zrna pšenice. Koncentrirani su u staničnim stjenkama endosperma i aleuronskog sloja.  $\beta$ -glukani su po svom sastavu slični škrobu, jer su građeni isključivo od glukoze, ali su povezani  $\beta$ -1,3 i  $\beta$ -1,4 glikozidnim vezama i u zrnu su prisutni nešto manje od 2%. Arabinoksilani su pentoze sastavljene od lanaca šećera arabinoze i ksiloze povezanih  $\alpha$ -1,4 glikozidnim vezama. Pšenično zrno sadržava do 2% arabinoksilana [14,15]. U nekim slučajevima, iako prisutni u malim količinama, mogu utjecati na kvalitetu brašna jer upijaju značajne količine vode pri zamjesu tijesta [16]. Arabinoksilani

moгу utjecati na difuziju molekula škroba u vodu tijekom želatinizacije pa na taj način utječu na bubrenje škrobnih granula, odnosno na viskoznost suspenzije brašna i vode [17].

### **1.1.2.3. LIPIDI**

Lipidi su organski spojevi netopljivi u vodi i topljivi u nepolarnim organskim otapalima, a dijele se na polarne i nepolarne pri čemu prevladavaju nepolarni (70%). Njihov udio u pšenici je 2-3%, a najviše ih ima u klici. Prevladavaju linolna oleinska i palmitinska kiselina. Prisutnost lipida u brašnu može dovesti do pojave užeglosti što otežava sigurno skladištenje. Iz tog razloga se klica odstranjuje prilikom mljevenja [5, 18].

### **1.1.2.4. MINERALNE TVARI I VITAMINI**

Zastupljenost mineralnih tvari u pšeničnom zrnu iznosi oko 1,4-2,0% i većina je sadržana u aleuronskom sloju, dok ih u klici gotovo i nema. Mineralne tvari kojih ima najviše su kalij, magnezij, kalcij, fosfor, natrij, cink i željezo. Nakon spaljivanja brašna na oko 900 °C do konstantne mase, određuje se količina, sadržaj i sastav pepela preko kojeg se tipizira brašno.

Pšenično zrno izrazito je kvalitetan izvor vitamina B-kompleksa, vitamina A i tokoferola. Najviše vitamina ima klica i aleuronski sloj, a najmanje endosperm. Stoga, mljevenjem pšenice iz brašna se ukloni većina vitamina, pa se zbog toga preporuča konzumiranje cjelovitih žitarica koji sadrže veću količinu vitamina [3,19].

### **1.1.2.5. ENZIMI**

Enzimi su biokatalizatori koji ubrzavaju biokemijske reakcije najmanje milijun puta. Imaju velik značaj i u pekarstvu. Svojstva enzima određuje njihova struktura s obzirom da su svi enzimi po kemijskom sastavu proteini. Shodno tome na aktivnost enzima najveći utjecaj imaju temperatura, pH, koncentracija enzima, koncentracija supstrata i prisutnost aktivatora ili inhibitora. Brašno sadržava amilolitičke i proteolitičke enzime, lipoksigenaze, lipaze i fitaze [5,9].

U pogledu proizvodnje pekarskih proizvoda najvažnijima se smatraju amilolitički enzimi. Amilolitički enzimi hidroliziraju škrobne granule do jednostavnih šećera. Pšenično zrno ima dva tipa amilaze:  $\alpha$ - i  $\beta$ -amilaza.  $\alpha$ -amilaza je endogeni enzim, hidrolizira glukozidne veze

unutar molekula polisaharida, dok je  $\beta$ -amilaza egzogeni enzim koji djeluje na krajevima lanca. Razgrađuju škrob do šećera maltoza i dekstrina koje kvasac može iskoristiti kod fermentacije tijesta tako što kataliziraju hidrolizu  $\alpha$ -1,4 glikozidne veze. Amilaze hidroliziraju samo želatinizirani ili oštećeni škrob [9].

$\alpha$ -amilaza je metaloenzim, a njen najčešći kofaktor je kalciji. Na amilazama se nalazi strukturno mjesto za vezanje kalcija, a u prisutnosti  $\text{Ca}^{2+}$  iona dolazi do povećanja aktivnosti  $\alpha$ -amilaze uslijed njegove sposobnosti da reagira s negativno nabijenim aminokiselinama kao što su asparadinska i glutaminska kiselina. Osim toga, kalcij ima ulogu i u vezanju enzima za supstrat [20]. S druge strane, teški metali poput  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$  inaktiviraju enzime mehanizmom nekompetitivne inhibicije [21].

Proteolitički enzimi razgrađuju proteine i pripadaju proteinskom kompleksu brašna koji je najodgovorniji za jakost brašna. Proteolitički enzimi utječu na gluten i karakteristike tijesta tijekom proizvodnog procesa. Lipoksigenaze kataliziraju oksidaciju nezasićenih masnih kiselina, a lipaze hidroliziraju trigliceride. Fitaze su zaslužne za razgradnju fitinske kiseline [22].

## 1.2. REOLOŠKA SVOJSTVA TIJESTA OD PŠENIČNOG BRAŠNA

Tijesto je tipični predstavnik viskoelastičnih sustava koji istovremeno pokazuju svojstva elastičnog i viskoznog materijala za što je odgovoran gluten, ali određenu ulogu ima i škrobna komponenta brašna jer su škrobne granule u tijestu uklopljene u glutensku rešetku.

Za ispitivanje reoloških svojstava tijesta koriste se različiti uređaji poput farinografa, ekstenzografa i alveografa kojima se dobivaju informacije o kvaliteti brašna s obzirom na proteinsku komponentu dok se amilograf i uređaj za određivanje broja padanja koriste za ispitivanje reoloških svojstava suspenzija brašna i vode tijekom želatinizacije, a služe za indirektno određivanje amilolitičke aktivnosti uzoraka brašna [23].

## 1.2.1. ODREĐIVANJE REOLOŠKIH SVOJSTAVA

### FARINOGRAF

Jedan od najraširenijih uređaja za određivanje jakosti (snage) tijesta pri miješanju u mjesilici uređaja je farinograf (Brabender, Duisburg, Njemačka) koji radi na principu mjerenja otpora koje tijesto pruža pri miješanju. Pomoću ovog uređaja se vrlo točno može objektivno odrediti sposobnost upijanja vode (%) pojedinog uzorka brašna odnosno potrebnu količinu vode koju treba dodati nekom brašnu kako bi se zamijesilo tijesto optimalne konzistencije. Osim toga, farinografom se određuju i razvoj (min), stabilnost (min) i otpornost ili rezistencija tijesta (min) na miješanje, kao i stupanj omekšanja tijesta (FJ – farinografske jedinice). Na osnovi rezultata farinografskog ispitivanja te očitano g kvaliteno g broja s farinografske krivulje (farinograma) moguće je brašna podijeliti u kvalitetne skupine pri čemu grupe A1 i A2 označavaju jaka, B1 i B2 srednje jaka, a C1 i C2 slaba brašna [23,24].

### EKSTENZOGRAF

Mjerenje otpora koji tijesto pruža pri rastezanju do trenutka pucanja provodi se ekstenzografom (Brabender, Duisburg, Njemačka), a parametri koji se očitavaju s ekstenzografske krivulje (ekstenzograma) su površina ispod krivulje (cm<sup>2</sup>) koja predstavlja potrebnu energiju za rastezanje, zatim rastezljivost tijesta (mm), otpor tijesta (EJ – ekstenzografske jedinice) koji predstavlja silu potrebnu da se tijesto istegne na duljinu od 50 mm i maksimalni otpor (EJ). Važan parametar je i omjer otpora i rastezljivosti koji nam daje uvid u kvalitetu brašna namijenjenog proizvodnji pekarskih proizvoda, a njegove optimalne vrijednosti se kreću u rasponu od 1,5 do 2,5 [24,25].

### AMILOGRAF

Praćenje tijeka želatinizacije škroba iz suspenzije brašna i vode omogućava nam amilograf (Brabender, Duisburg, Njemačka), a on ujedno služi i za indirektno praćenje aktivnosti enzima  $\alpha$ -amilaze. Amilograf je u osnovi rotacijski viskozimetar, a mjerenje se provodi na način da se suspenzija brašna i vode zagrijava brzinom od 1,5 °C/min do konačne temperature od 95 °C. Amilograf registrira promjenu viskoznosti tijekom želatinizacije, a s amilografske krivulje (amilograma) se očitavaju početna temperatura želatinizacije (°C), maksimalna viskoznost (AJ – amilografske jedinice) te temperatura pri maksimalnoj viskoznosti (°C). Amilolitička

aktivnost i maksimalna viskoznost su obrnuto proporcionalni, a optimalne vrijednosti maksimalne viskoznosti kreću se između 400 i 600 AJ za potrebe pekarske proizvodnje [23].

### **BROJ PADANJA PO HAGBERG-PERTENU**

Određivanje broja padanja (engl. *Falling number* – FN) provodi se na uređaju (Slika 5) kojeg su osmislili Hagberg i Perten. Određivanje broja padanja je indirektna metoda određivanja  $\alpha$ -amilaze. To je brza i jednostavna metoda najčešće korištena pri trgovanju pšenicom da bi se otkrila eventualna prokljalost, a koristi se i u optimizaciji aktivnosti  $\alpha$ -amilaze u brašnu namijenjenom proizvodnji pekarskih proizvoda [23].



Slika 5. Uređaj za određivanje broja padanja

Ispitivanje aktivnosti  $\alpha$ -amilaze temelji se na brzom želatizaciji suspenzije brašna ili krupice u vrućoj vodenoj kupelji te na mjerenju likvefacije škroba pomoću  $\alpha$ -amilaze. Cijeli postupak se odvija u uvjetima sličnim onima u kojima se tijesto nalazi tijekom pečenja. Broj padanja i amilolitička aktivnost u uzorku su obrnuto proporcionalni, a ovaj odnos je poznat i pod pojmom Pertenova likvefacijska jednadžba. Broj padanja se definira kao ukupno vrijeme od ulaganja kivete sa suspenzijom u vodenu kupelj pa sve do kraja penetracije miješalice viskozimetra kroz škrobni gel. Izražava se u sekundama [26].

Uređaj sadržava vodenu kupelj u koju se umeće staklena kiveta sa suspenzijom uzorka brašna i vode, držač za kivetu, standardiziranu miješalicu viskozimetra te kondenzator koji sprječava isparavanje vode. Brašno se prenosi u kivetu te se potom pipetom dodaje destilirana voda. Nakon toga suspenzija se homogenizira, miješalica unosi u kivetu, a kiveta u proključalu kupelj. Intenzivnim miješanjem miješalica prodire kroz škrobni gel koji je u fazi likvefacije, a za to cijelo vrijeme potrebno je mjeriti vrijeme trajanja. Na kraju uređaj očitava broj sekundi koji označava zbroj vremena potrebnog za miješanje i kretanje miješalice kroz gel od vrha do dna kivete [26].

Optimalni broj padanja pšeničnog brašna je između 200 i 300. Broj padanja manji od 150 sekundi ukazuje na prokljalost pšenice i previsoku aktivnost enzima. Kada je broj veći od 300 sekundi, aktivnost  $\alpha$ -amilaze je malena. Broj padanja u određenoj mjeri predviđa kvalitetu proizvoda. Prevelika aktivnost enzima rezultira ljepljivom sredinom tijesta i lošom konzistencijom finalnog proizvoda. S druge strane visok broj padanja ukazuje na manjak enzimske aktivnosti, a tijesto od takvog brašna ne bi razvilo željeni volumen, a uz to bi proizvod nakon pečenja imao suhu i mrvljivu sredinu. Brašno kojem se odredi velik broj padanja može se dodatno obogatiti dodatkom enzima, za razliku od brašna sa preniskim brojem padanja koje je gotovo neiskoristivo. S obzirom da je želatinizirani škrob podložniji djelovanju enzima, mjerenje treba obavljati u razdoblju iznad temperature želatinizacije. Optimalna temperatura za djelovanje  $\alpha$ -amilaze je 60-66 °C [27].

Svake godine kvaliteta brašna varira u vrijednosti broja padanja jer na amilolitičku aktivnost utječu uvjeti uzgoja pšenice, klima, tlo i nadmorska visina, količina dušika i gnojidba. Pšenica koja je bila izložena visokim temperaturama biti će siromašna enzimima, dok obrnuto, zrna izložena vlažnijoj klimi će imati povećanu amilolitičku aktivnost.

Budući da broj padanja i aktivnost  $\alpha$ -amilaze nisu u linearnom odnosu, odnos broja padanja i aktivnosti  $\alpha$ -amilaze može se iskazati kao linearna funkcija prevođenjem vrijednosti broja padanja (FN) u likvefakcijski broj (engl. *Liquefaction number* – LN) prema formuli [28]:

$$LN = 6000 / (FN - 50)$$

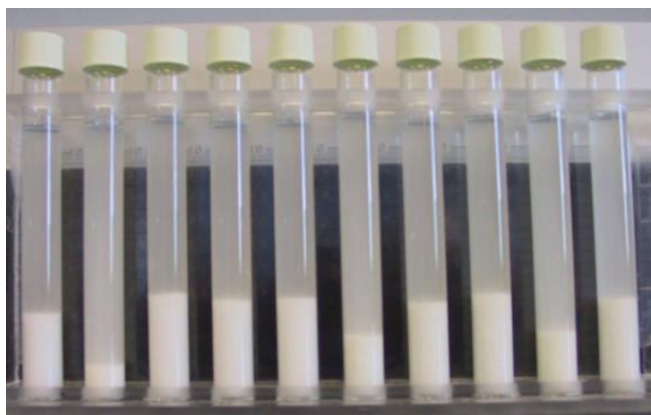
Prevođenje broja padanja u likvefakcijski broj posebno je važno kada se pripremaju smjese od dva ili više brašna različite amilolitičke aktivnosti jer linearizacija rezultata olakšava izračunavanje potrebnih količina brašna kako bi se dobila smjesa optimalne amilolitičke aktivnosti [28].



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

S obzirom da proteini glutena bubre u otopinama organskih kiselina, mliječna kiselina se upotrebljava u nekoliko metoda kojima se određuje kvaliteta pšeničnog brašna. Najčešće se koriste Zelenyjev sedimentacijski test te metoda određivanja retencijske sposobnosti brašna prema različitim otapalima (SRC-engl. *Solvent retention capacity*) koja između ostalog koristi i otopinu mliječne kiseline.

Određivanje sedimentacijske vrijednosti je jednostavna i jeftina metoda, a osmislio ju je L. Zeleny i jedna je od najčešće korištenih tehnika za ispitivanje jačine glutena i kvalitete brašna. Rezultati istraživanja pokazuju pozitivnu korelaciju između sedimentacijske vrijednosti i volumena pekraskih proizvoda. Sedimentacijski test zasniva se na sposobnosti bubrenja glutenskih kompleksa različitih tipova brašna u otopini mliječne kiseline. Uloga mliječne kiseline je razbijanje stanica endosperma, a potom njihovo hidratiziranje što omogućava bubrenje i flokulaciju proteina brašna. Dodatkom mliječne kiseline, negativni naboji se neutraliziraju i koloidne čestice brašna se udružuju u veće flokule koje tvore sediment. Nakon određenog vremena miješanja brašna u otopini mliječne kiseline i određenog vremena sedimentacije, mjeri se volumen nastalog taloga koji predstavlja sedimentacijsku vrijednost. Na temelju ove metode, prema količini proteina i sedimentacijskoj vrijednosti može se izvršiti i klasifikacija pšenice i brašna u 4 kvalitativne kategorije [29].



Slika 6. Primjer sedimentacijskih volumena u različitim uzorcima pšeničnog brašna [30]

Retencijska sposobnost brašna prema različitim otapalima (SRC-engl. *Solvent retention capacity*) je metoda koja je razvijena kako bi se zasebno analizirao doprinos različitih komponenti brašna (proteina, oštećenog škroba i pentozana) na kvalitetu brašna i proizvoda na

bazi brašna. To je solvatacijski test koji se temelji na intenzivnom bubrenju mreža polimera nastalih u otapalima. Kao otapala se koriste destilirana voda, 5%-tna otopina mliječne kiseline, 5%-tni natrijev karbonat i 50%-tna otopina saharoze. Navedena otapala definiraju koja je komponenta iz brašna uzrokovala bubrenje. S obzirom da destilirana voda otapa i proteine, škrob i pentozane, sposobnost zadržavanja vode služi za određivanje karakteristika svih funkcionalnih komponenti brašna, te se može nazvati i referentnom otopinom. Važno je naglasiti da ostala 3 otapala također sadržavaju vodu, tako da kada se razina mreže polimera brašna poveća, bubrenje se očito povećava u svim otapalima na bazi vode. Svrha otapala mliječne kiseline, otopine saharoze i natrijevog karbonata je odrediti doprinos jedne funkcionalne komponente brašna, u usporedbi s doprinosom bubrenja u vodi. Sposobnost zadržavanja otopine mliječne kiseline koristi se za ispitivanje glutenina, zadržavanje otopine natrijevog karbonata povezana je s količinom oštećenog škroba, a otopina saharoze služi za određivanje karakteristika pentozana. Analiza retencijske sposobnosti brašna ispočetka se koristila samo za meku pšenicu, ali se u zadnje vrijeme također pokazala primjenjivom i za tvrde ozime pšenice [17,30].

## **2. EKSPERIMENTALNI DIO**

### **2.1. MATERIJALI**

U ovom radu je ispitano deset različitih uzoraka pšeničnog brašna T-550 od kojih je, prema prethodnim farinografskim ispitivanjima, 4 uzorka okarakterizirano kao jako (kvalitetne grupe A1 i A2), 4 uzorka kao srednje jako (B1 i B2) te 2 uzorka kao slabo brašno (C1).

Za određivanje broja padanja po Hagberg-Pertenu, osim vode, kao otapalo su korišteni i 5%-tna otopina mliječne kiseline (w/w) i 2 mM otopina srebrovog nitrata.

### **2.2. METODE**

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

U prethodno provedenim istraživanjima na uzorcima brašna provedena su farinografska i ekstenzografska ispitivanja (standarde metode HRN EN ISO 5530-1:2015 i HRN EN ISO 5530-2:2015) te su određeni udjeli proteina (HRN EN ISO 5983-2:2010), te udjeli vlažnog i suhog glutena (HRN EN ISO 21415-2:2015) [31].

#### **2.2.2. Određivanje retencijske sposobnosti brašna i sedimentacijske vrijednosti**

Za određivanje retencijske sposobnosti brašna (SRC) korištena je AACC standardna metoda 56-11.02. Uzorak brašna (5 g) se vagao u polipropilenske kivete s konusnim dnom nakon čega se dodavalo 25 mL deionizirane voda ili 25 g 5%-tne otopina mliječne kiseline. Zatvorene kivete su se snažno protresle rukom kako bi se suspenzija homogenizirala, a isto je ponavljano svakih 5 min tijekom 20 minuta hidratizacije uzoraka. Nakon toga se provodilo 15 minutno centrifugiranje pri 1000 x g. Nakon dekantiranja supernatanta kivete su se obrtale i cijedile na filter papiru 10 minuta. Nakon cijedenja kivete su se vagale te se računala SRC vrijednost [32].

Sedimentacijska vrijednost po Zelenyju određena je metodom HRN ISO 5529:2002 [31].

### **2.2.3. Određivanje broja padanja prema Hagberg-Pertenu**

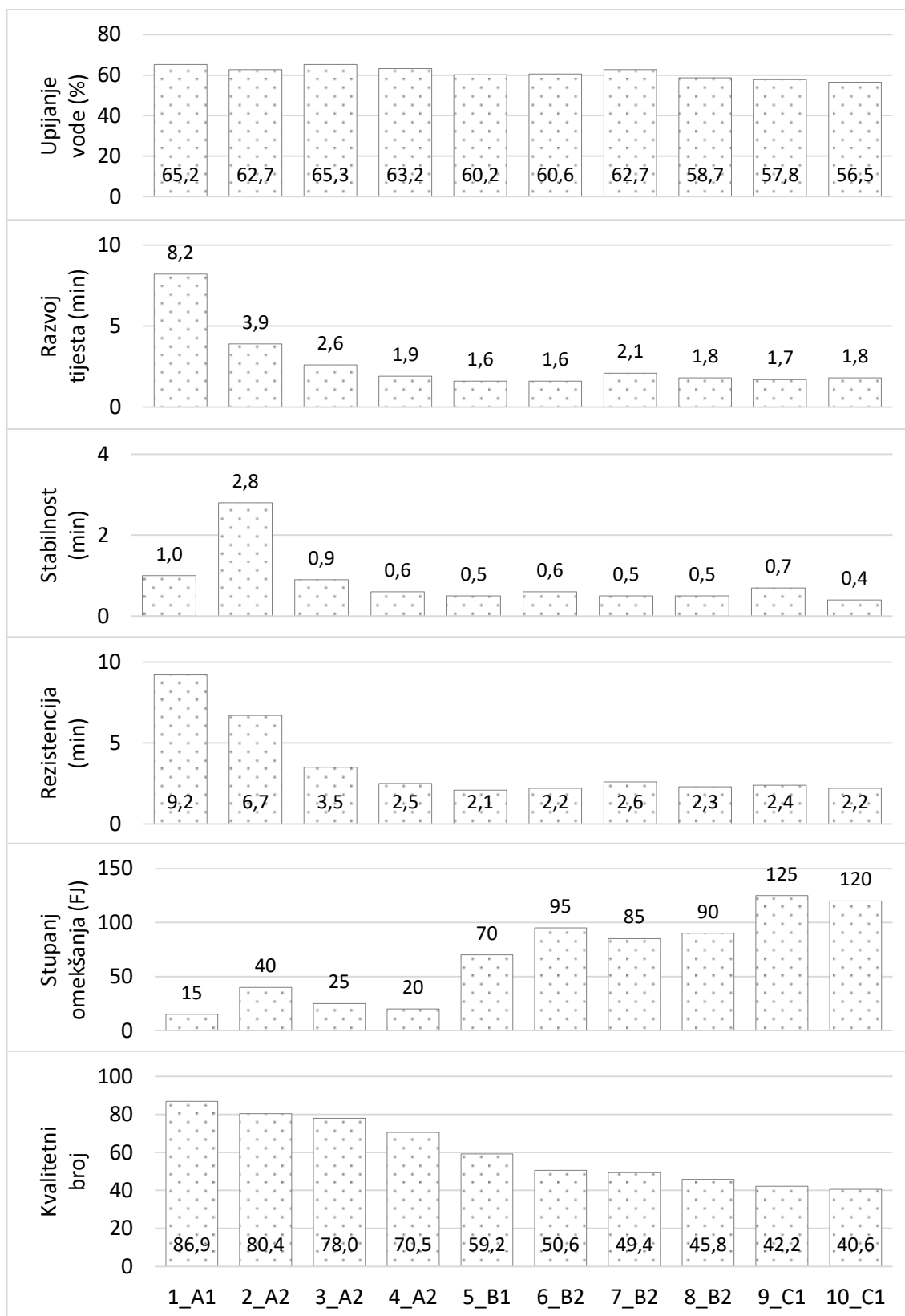
U radu je korišten uređaj za određivanje broja padanja prema Hagbergu (Pertenu Instruments, Švedska). Ispitivanje je provedeno prema standardnoj metodi HRN EN ISO 3093:2010 [31].

U kivetu se dodavalo odvagano brašno (7 g preračunato na vlagu 14%) 25 cm<sup>3</sup> deionizirane vode, 5%-tne otopine mliječne kiseline ili 2 mM otopine AgNO<sub>3</sub> nakon čega se kiveta zatvarala gumenim čepom i mućkala kako bi se suspenzija homogenizirala. Nakon toga se u kivetu, zajedno s umetnutom miješalicom, stavljala u vruću vodenu kupelj uređaja. Pokretanjem analize uređaj je tijekom 60 s intenzivno miješao sadržaj kivete, nakon čega se miješalica otpuštala iz nosača kako bi slobodnim padom prodirala kroz nastali škrobni gel. Vrijeme potrebno da miješalica propadne do dna kivete kroz nastali gel predstavljala je broj padanja (s).

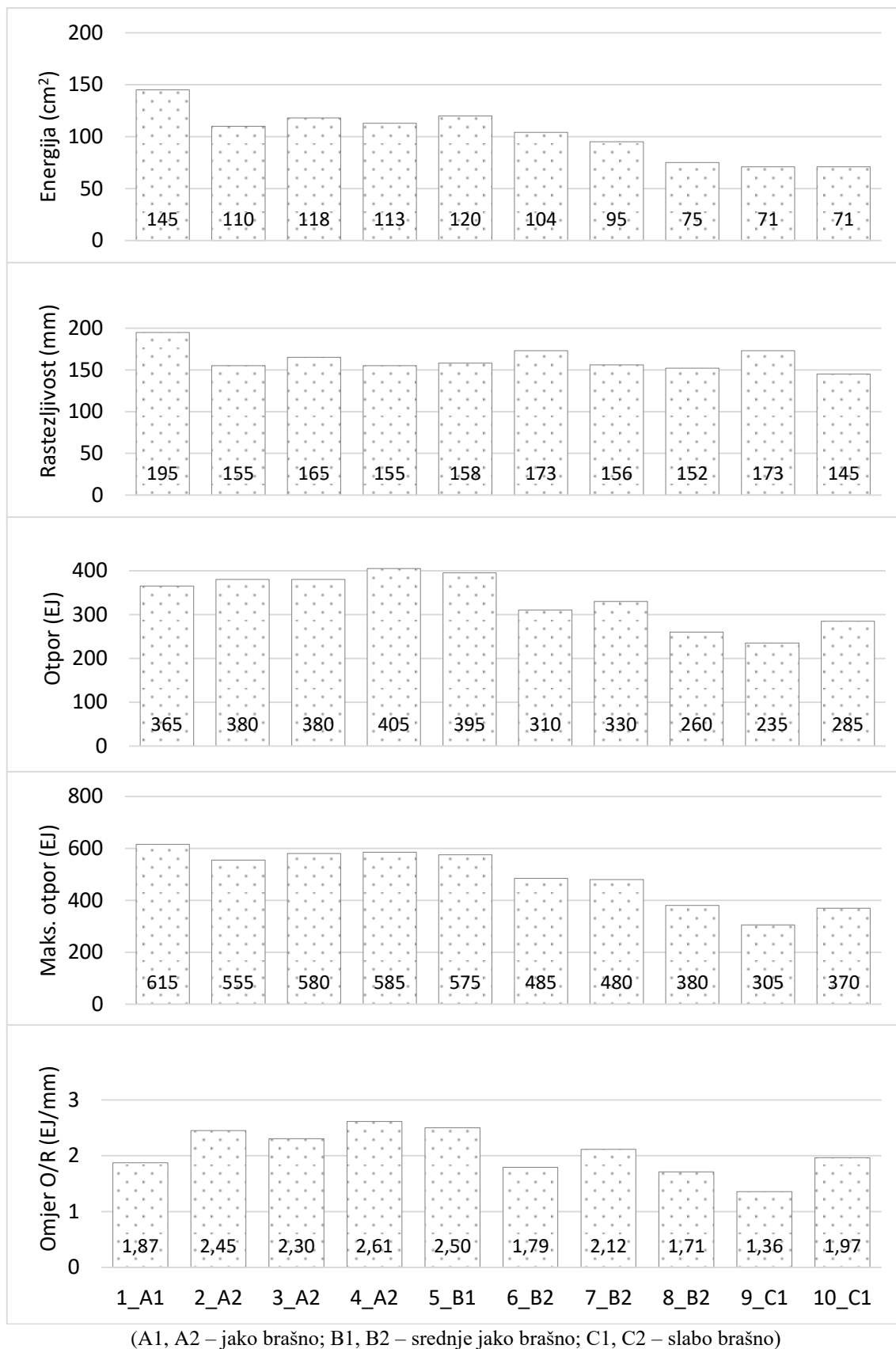
### **2.3. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA**

Za provedbu statističke analize korišten je programa XLSTAT software (Addinsoft, New York, NY, USA). Međuovisnost promatranih parametara ispitana je upotrebom Pearsonove korelacijske analize i predstavljena je koeficijentom korelacije  $r$  ( $p < 0,05$ ).

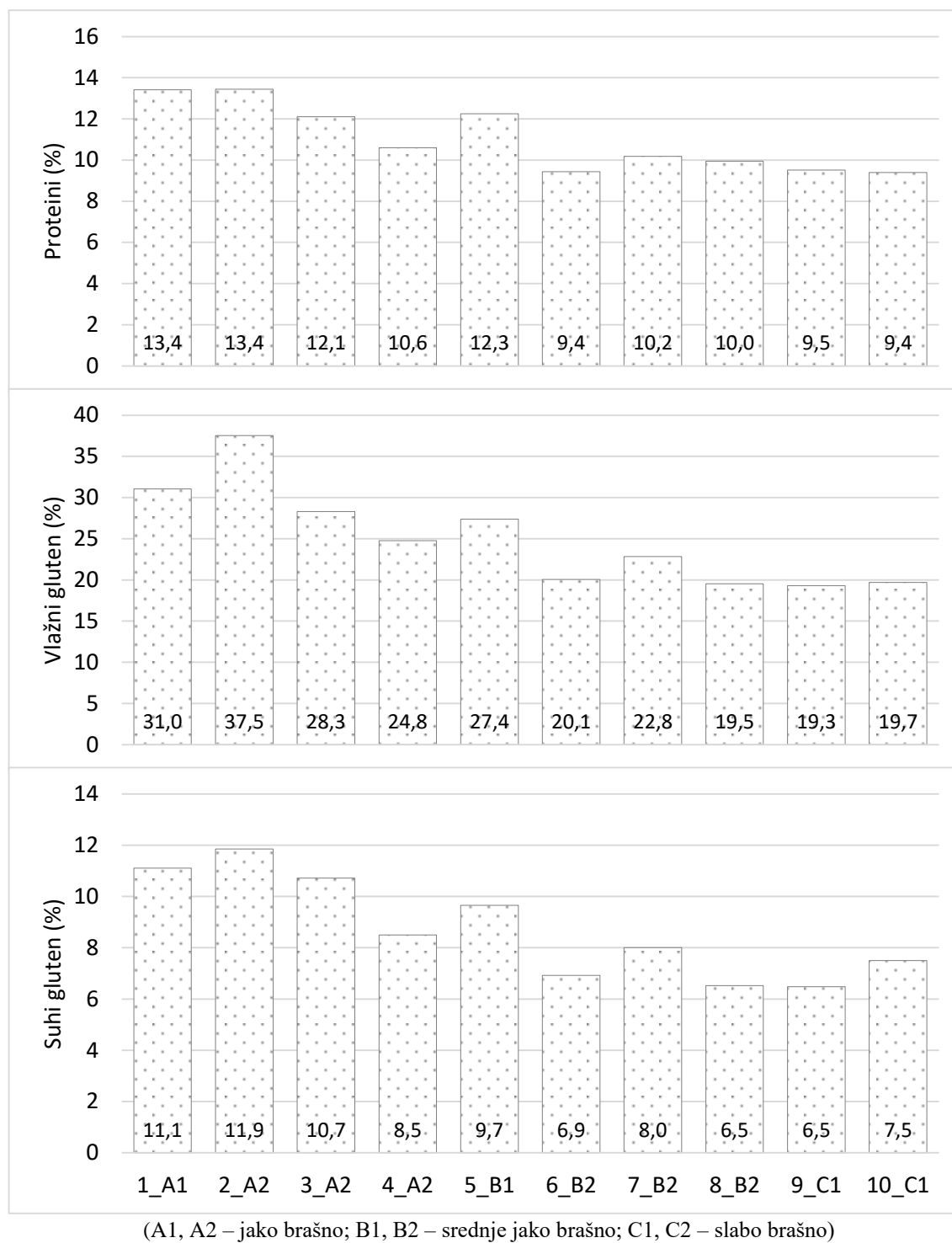
## 3. REZULTATI



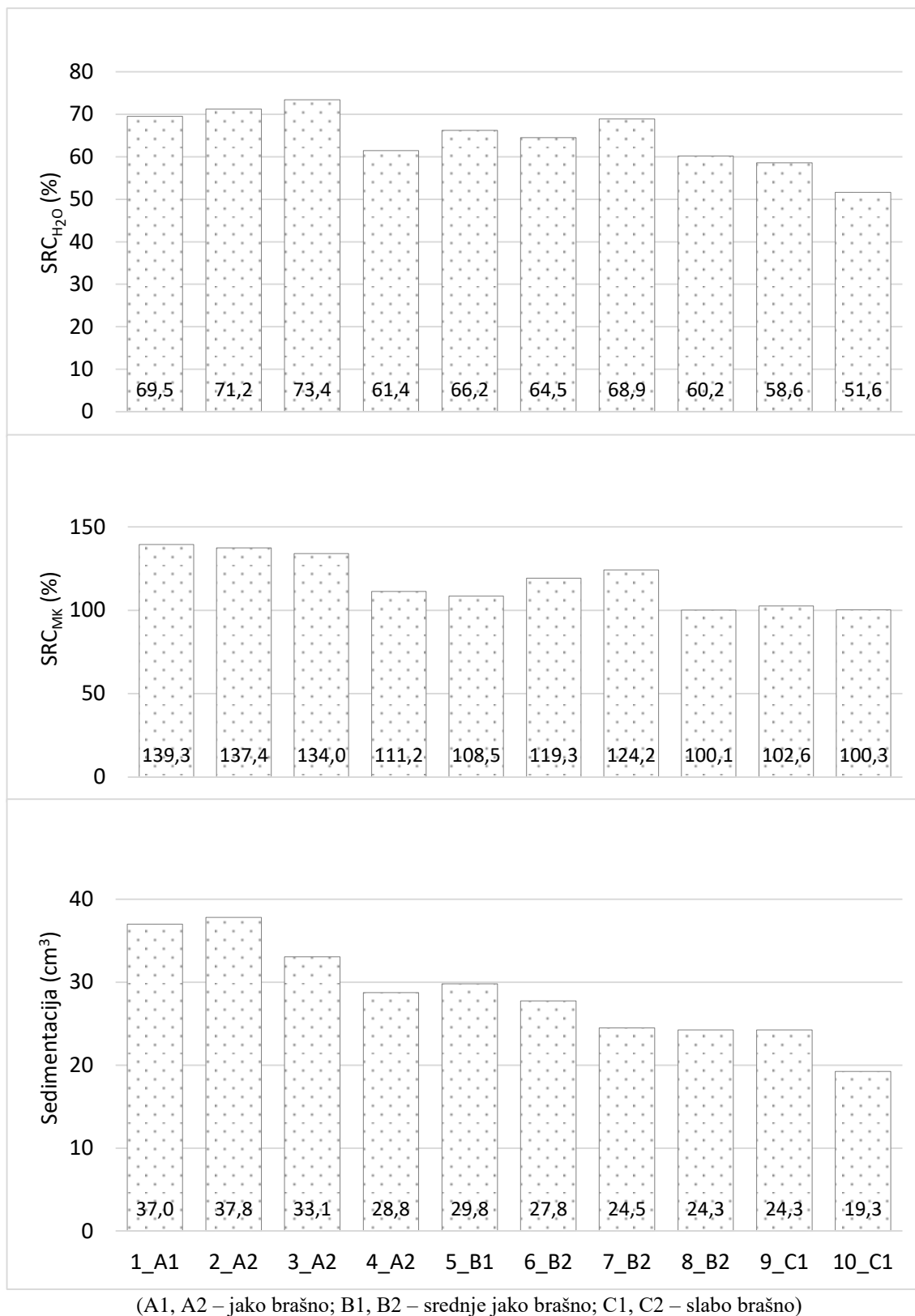
Slika 7. Rezultati farinografskih ispitivanja  
 (A1, A2 – jako brašno; B1, B2 – srednje jako brašno; C1, C2 – slabo brašno)



Slika 8. Rezultati ekstenzografskih ispitivanja

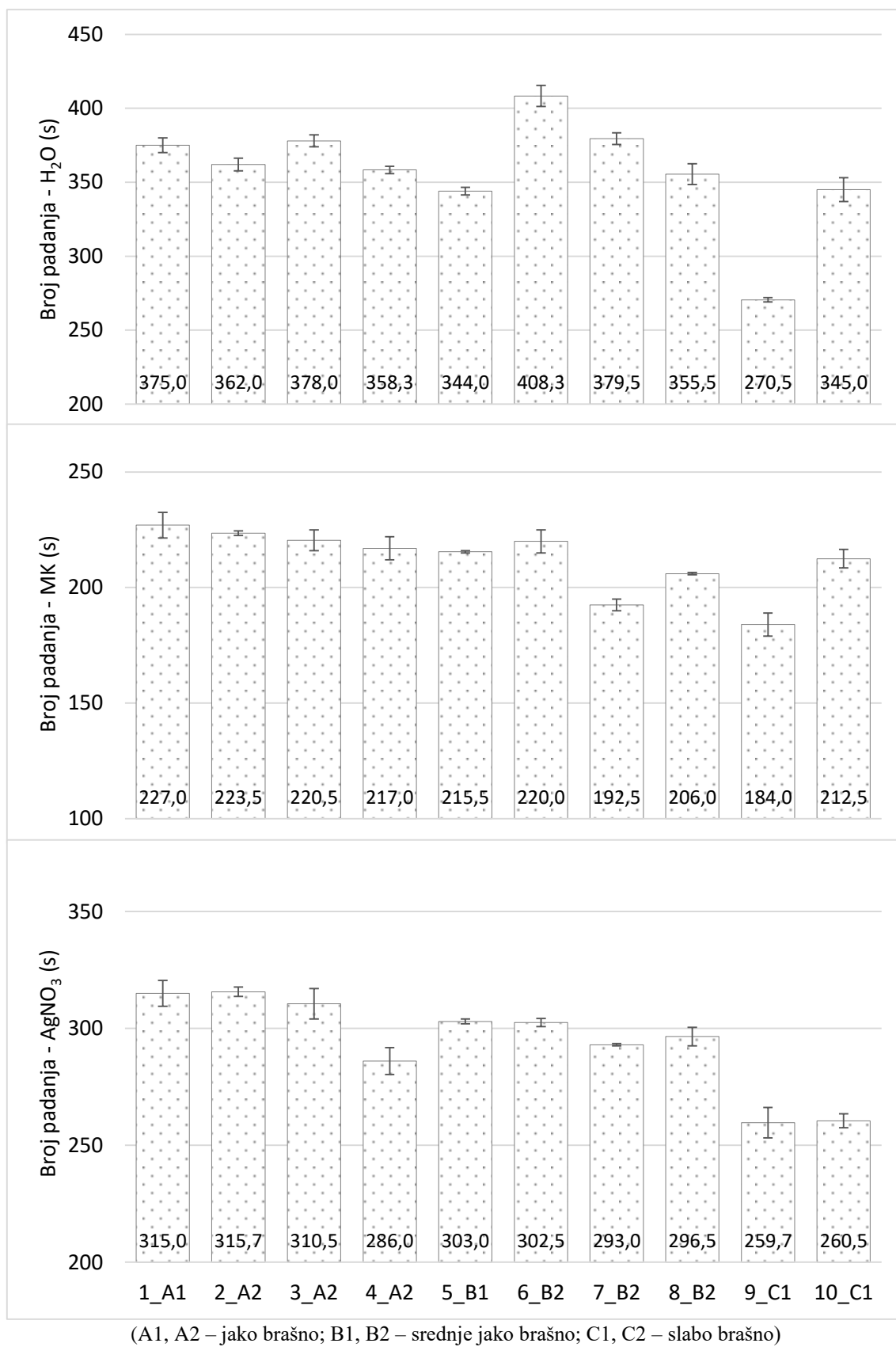


Slika 9. Rezultati ispitivanja udjela proteina i glutena



Slika 10. Rezultati ispitivanja retencijske sposobnosti brašna (SRC) prema vodi i otopini mliječne kiseline (MK) i sedimentacijske vrijednosti





Slika 11. Rezultati određivanja broja padanja s vodom i otopinama mliječne kiseline (MK) i srebrovog nitrata

Tablica 1. Korelacije između rezultata određivanja broja padanja i rezultata farinografskih ispitivanja

	Upijanje vode (%)	Razvoj tijesta (min)	Stabilnost (min)	Rezi-stencija (min)	Stupanj omekšavanja (FJ)	Kvalitetni broj
Broj padanja – H <sub>2</sub> O (s)	0,547	0,218	0,069	0,205	-0,443	0,368
Broj padanja – MK (s)	0,510	0,483	0,378	0,521	<b>-0,689</b>	<b>0,720</b>
Broj padanja – AgNO <sub>3</sub> (s)	<b>0,760</b>	0,507	0,483	0,572	<b>-0,727</b>	<b>0,753</b>

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

Tablica 2. Korelacije između rezultata određivanja broja padanja i rezultata ekstenzografskih ispitivanja

	Energija (cm <sup>2</sup> )	Rastezljivost (mm)	Otpor (EJ)	Maksimalni otpor (EJ)	Omjer (EJ/mm)
Broj padanja – H <sub>2</sub> O (s)	0,503	0,076	0,463	0,587	0,372
Broj padanja – MK (s)	<b>0,711</b>	0,189	<b>0,674</b>	<b>0,749</b>	0,531
Broj padanja – AgNO <sub>3</sub> (s)	<b>0,782</b>	0,332	<b>0,644</b>	<b>0,790</b>	0,439

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

Tablica 3. Korelacije između rezultata određivanja broja padanja i rezultata određivanja udjela proteina i glutena te retencijske sposobnosti brašna (SRC) prema vodi i otopini mliječne kiseline (MK) i sedimentacijske vrijednosti (SV)

	Proteini (%)	Vlažni gluten (%)	Suhi gluten (%)	SRC <sub>H<sub>2</sub>O</sub> (%)	SRC <sub>5%MK</sub> (%)	SV (cm <sup>3</sup> )
Broj padanja – H <sub>2</sub> O (s)	0,215	0,240	0,297	0,486	0,542	0,328
Broj padanja – MK (s)	0,626	0,612	<b>0,670</b>	0,382	0,536	<b>0,661</b>
Broj padanja – AgNO <sub>3</sub> (s)	<b>0,763</b>	<b>0,720</b>	<b>0,714</b>	<b>0,867</b>	<b>0,776</b>	<b>0,834</b>

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

## 4. RASPRAVA

Ispitivanje brašna pomoću metode određivanja broja padanja po Hagberg-Pertenu se uobičajeno koristi za indirektnu procjenu amilolitičke aktivnosti uzoraka brašna. Ovom metodom inače se ne mogu se dobiti informacije o kvaliteti proteinske komponente brašna jer rezultat ispitivanja (broj padanja) u najvećoj mjeri ovisi o aktivnosti amilolitičkih enzima brašna. Sama viskoznost nastale škrobne paste tijekom provođenja ove metode rezultat je gotovo isključivo utjecaja amilolitičkih enzima u uzorku te proteinska komponenta, odnosno jakost brašna nema utjecaj na dobivene rezultate. Upravo zbog toga je namjera ovog istraživanja bila ispitati da li se zamjenom vode s otopinama mliječne kiseline i srebrovog nitrata pri određivanju broja padanja može umanjiti (ili potpuno ukloniti) utjecaj amilolitičkih enzima na viskoznost nastale škrobne paste kako bi se utvrdilo da li se na takav način može dobiti više informacija o kvaliteti brašna povezanoj s proteinskom komponentom.

Na osnovi prethodno provedenih farinografskih analiza izabrano je deset uzoraka brašna pri čemu se vodilo računa da se pokrije što širi kvalitativni raspon. Na taj način odabrana su četiri uzorka jakog brašna (farinografske grupe kvalitete A1 i A2), četiri srednje jaka (B1 i B2) i dva uzorka slabih brašna (C1) (Slika 7). Sposobnost upijanja vode kretala se od maksimalnih 65% za uzorak 1\_A1 do minimalnih 56,5% za uzorak 10\_C1. Ova dva uzorka bila su ujedno i uzorci s najvećim (86,9) i najmanjim (40,6) kvalitetnim brojem. To se može objasniti činjenicom da da pri zamjesu tijesta optimalne konzistencije jača brašna upijaju više vode [33]. Uzorci koji su svrstani u A1 i A2 kvalitetnu grupu imali su i najveće vrijednosti za razvoj i stabilnosti tijesta. Ovi uzorci imali su i najmanji stupanj omekšanja što ih čini vrlo kvalitetnim brašnima. Naime, vrlo kvalitetnim se smatraju brašna sa stupnjem omekšanja ispod 75 BU, dok su brašna slabe kvalitete za potrebe pekarske industrije brašna sa stupnjem omekšanja preko 125 FJ [24].

Na Slici 8 prikazani su rezultati ekstenzografskih ispitivanja koji su potvrdili da su uzorci A1, A2 i B1 kvalitetnih grupa bili najbolje kvalitete. Ovi uzorci imali su i najveće vrijednosti energije potrebne za rastezanje tijesta, kao i najveće vrijednosti otpora na rastezanje. Tako je uzorak 1\_A1 imao energiju od 145 cm<sup>2</sup> i maksimalni otpor 615 EJ.

Uzorci jakog brašna imali su najveće udjele proteina te vlažnog i suhog glutena. Najveći udio proteina imali su uzorci 1\_A1 i 2\_A1 (13,4%), a najmanji uzorak 10\_C1 (9,4%). Najveći udio vlažnog glutena određen je u uzorku 2\_A1 (37,5%), a najmanji u uzorku 9\_C1 (19,3%).

Na Slici 10 prikazani su rezultati određivanja retencijske sposobnosti brašna (SRC) prema vodi i otopini mliječne kiseline i rezultati određivanja sedimentacijske vrijednosti prema Zelenyju.

Najveću vrijednost SRCH<sub>2</sub>O imao je uzorak 3\_A2 (73,4%), uzorak 1\_A1 imao je najveću vrijednost SRCMK (139,3%), a najveću sedimentacijsku vrijednost uzorak 2\_A1 (37,8 cm<sup>3</sup>). Ovi rezultati su potvrdili da se radi o vrlo kvalitetnim brašnima. Uzorak 10\_C1 imao je najmanje vrijednosti za SRCH<sub>2</sub>O (51,6%), SRCMK (19,3%) i sedimentaciju (19,3%) što potvrđuje da se radilo o vrlo nekvalitetnom i slabom brašnu.

Rezultati određivanja broja padanja uz korištenje vode te otopina mliječne kiseline i srebrovog nitrata kao otapala prikazani su na Slici 11. Pri standardnom određivanju s vodom najveći broj padanja utvrđen je kod uzorka 6\_B2 (408,3 s) što ukazuje na vrlo nisku amilolitičku aktivnost u ovom uzorku, dok je najmanji broj padanja izmjeren za uzorak 9\_C1 (270,5 s) što ga, s obzirom na amilolitičku aktivnost, čini uzorkom optimalnim za potrebe pekarske proizvodnje. Upotrebom mliječne kiseline kao otapala rezultati broja padanja su se značajno promijenili pa je najveći broj padanja imao uzorak 1\_A1 (227,0 s), a najmanji broj padanja je i dalje imao uzorak 9\_C1 (184,0 s). Može se primijetiti da su rezultati broja padanja uz korištenje mliječne kiseline kao otapala bili značajno manji nego uz korištenje vode. To se može objasniti činjenicom da je došlo do kiselinske hidrolize škroba tijekom analize te je takav škrob izgubio sposobnost stvaranja čvrstog konzistentnog gela tijekom želatinizacije. Slične rezultate su u svom istraživanju utjecaja octene i mliječne kiseline na viskoznost škrobnih gelova dobili Majzoobi i Beparva (2014.) koji su također utvrdili smanjenje viskoznosti uslijed smanjenja pH. Pri upotrebi srebrovog nitrata najveća izmjerena vrijednost broja padanja bila je za uzorak 2\_A1 (315,7 s), a najmanja za uzorak 9\_C1 (258,7 s). Otopina srebrovog nitrata uobičajeno se koristi kao sredstvo za inaktivaciju amilolitičkih enzima [34]. Njenim korištenjem anuliran je utjecaj amilolitičkih enzima pa se može pretpostaviti da na rezultate broja padanja dobivenih na ovaj način određeni utjecaj ima i proteinska komponenta brašna. Korištenjem srebrovog nitrata umjesto vode također su, kao i pri korištenju mliječne kiseline, u određenoj mjeri smanjene vrijednosti broja padanja. To se može objasniti na način da se u zasićenim otopinama soli slabih baza i jakih kiselina smanjuje pH pa je to imalo utjecaj na prosječno smanjenje broja padanja pri korištenju otopine srebrovog nitrata.

Pri standardnom određivanju broja padanja s vodom nije bilo statistički značajna korelacija ( $p < 0,05$ ) niti s nijednim promatranim parametrom kvalitete brašna (Tablice 1-3). Pri upotrebi otopine mliječne kiseline utvrđena je statistički značajna korelacija između broja padanja i farinografskog stupnja omekšanja ( $r = -0,689$ ) i kvalitetnog broja ( $r = 0,720$ ), kao i između broja padanja te ekstenzografskih pokazatelja energije ( $r = 0,711$ ), otpora ( $r = 0,674$ ) i maksimalnog otpora ( $r = 0,749$ ). Broj padanja (MK) značajno je korelirao i s udjelom suhog glutena ( $r =$

0,670) i sedimentacijskom vrijednosti ( $r = 0,661$ ). Ovo povećanje korelacija u odnosu na metodu s vodom može se objasniti određenom inaktivacijom amilolitičkih enzima uslijed smanjenja pH pri korištenju otopine mliječne kiseline kao otapala.

Pri korištenju srebrovog nitrata kao otapala vrijednosti korelacija bile su još veće pa je tako broj padanja bio u statistički značajnoj korelaciji s farinografskim upijanjem vode ( $r = 0,760$ ) stupnjem omekšanja ( $r = -0,727$ ) i kvalitetnog broja ( $r = 0,753$ ), kao i s ekstenzografskom energijom ( $r = 0,782$ ), otporom ( $r = 0,644$ ) i maksimalnim otporom ( $r = 0,790$ ). Osim toga, utvrđene su i statističke značajne korelacije s rezultatima određivanja udjela proteina ( $r = 0,763$ ), vlažnog ( $r = 0,720$ ) i suhog glutena ( $r = 0,714$ ), s retencijskom sposobnosti brašna (SRC) prema vodi ( $r = 0,867$ ) i otopini mliječne kiseline ( $r = 0,776$ ), kao i s rezultatima ispitivanja sedimentacijske vrijednosti ( $r = 0,834$ ). Iz ovoga se može zaključiti da je otopina srebrovog nitrata u potpunosti inaktivirala amilolitičke enzime brašna što je omogućilo da oni više ne utječu na viskoznost škrobne paste pa je doprinos proteinske komponente brašna viskoznosti suspenzije bio značajno uočljiviji.

## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju ispitivanja provedenih u ovom radu može se zaključiti da se upotrebom metode određivanja broja padanja uz korištenje otopina mliječne kiseline i srebrovog nitrata uspješno mogu predvidjeti kvalitativna svojstva brašna ovisna o proteinskoj komponenti. Prilikom korištenja navedenih otopina dolazi do djelomične ili potpune inaktivacije amilolitičkih enzima tako da oni više ne utječu na viskoznost škrobne paste pa se doprinos proteinske komponente brašna viskoznosti suspenzije može bolje uočiti. Iz provedene korelacijske analize može se također zaključiti da se kvalitativna svojstva brašna bolje mogu predvidjeti korištenjem otopine srebrovog nitrata nego li korištenjem otopine mliječne kiseline jer rezultati broja padanja uz upotrebu srebrovog nitrata koreliraju s više pokazatelja kvalitete brašna, a korelaciju su značajnije.

## 6. LITERATURA

1. Kovačević V, Rastija M. Žitarice. Žitarice. Osijek: Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet; 2014. 15–16 p.
2. <https://www.tportal.hr/biznis/clanak/dramaticne-promjene-na-globalnom-trzistu-pšenice-zbog-problema-sa-zetvom-u-australiji-mlinari-se-hvataju-za-glavu-cijene-lete-u-nebo-20211204> (preuzeto 17. 9. 2022.).
3. Shewry PR. Wheat. *J Exp Bot.* 2009;60:1537–53.
4. Wrigley CW. Wheat and Other Cereal Grains. In: Kirk-Othmer, editor. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.* Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2007.
5. Atwell WA. *Wheat Flour.* Elsevier; 2016.
6. Causgrove P, Shelton D. *Wheat and Flour Testing Methods: A Guide to Understanding Wheat and Flour Quality.* Vol. 1, Wheat Marketing Center, Inc. Portland, Oregon: Wheat Marketing Center, Inc.; 2004. 1–73 p.
7. 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.
8. 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.
9. Brlek T. The Processes During Grain-Filling and Their Impact on Quality of Wheat Grain Intended for Mill and Bakery Industry. *Agron Glas.* 2018;173–86.
10. 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.
11. <https://mvmvm.weebly.com/amiloza.html> (preuzeto 17. 9. 2022.).
12. <https://hr.wikipedia.org/wiki/%C5%A0krob#/media/Datoteka:Amylose.png> (preuzeto 17. 9. 2022.).
13. Tester RF, Karkalas J, Qi X. Starch structure and digestibility Enzyme-Substrate relationship. *Worlds Poult Sci J.* 2004;60:186-195+248+250.
14. Wang S, Li C, Copeland L, Niu Q, Wang S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2015;14:568–85.
15. 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.

16. 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.
17. 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.
18. Kurtović K, Matković A, Jukić Ž, Jukić K. Promjene u kemijskom sastavu i reološkim svojstvima pšenice tijekom skladištenja. *Agron Glas.* 2019;80:385–402.
19. Anglani C. Wheat minerals - A review. *Plant Foods Hum Nutr.* 1998;52:177–86.
20. Stephano. TT, Mathilde. KJ, Cyrille. NHS, Boungo T, Gires., Arantes. KFH et al. Characterisation of amylase crude extracts of germinated corn (Kassaï and Atp varieties) and sweet potato flours (Local and 1112 varieties). *Int J Adv Res Biol Sci.* 2018;5:230–40.
21. Singh K, Kayastha AM.  $\alpha$ -Amylase from wheat (*Triticum aestivum*) seeds: Its purification, biochemical attributes and active site studies. *Food Chem.* 2014;162:1–9.
22. Koehler P, Wieser H. Chemistry of cereal grains. In: Gobbetti M, Gänzle M, editors. *Handbook on Sourdough Biotechnology.* Boston, MA: Springer US; 2013. p. 11–45.
23. Dapčević T, Pojić M, Hadndaev M, Torbica A. The Role of Empirical Rheology in Flour Quality Control. In: *Wide Spectra of Quality Control.* InTech; 2011. p. 335–55.
24. Đaković L. Pšenično brašno : fizičko-hemijski osnovi određivanja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna. Novi Sad: Tehnološki fakultet : Zavod za izdavanje udžbenika; 1980.
25. Milan Žeželj. Tehnologija žita i brašna I. Novi Sad: Tehnološki fakultet; 1995.
26. Perten H. Application of the falling number method for evaluating alpha-amylase activity. *Cereal Chem.* 1964;41:127–40.
27. He Y, Lin YL, Chen C, Tsai MH, Lin AHM. 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.
28. Constantin GA, Ferdes M. Falling Number Vs . Liquefaction Number in Alfa-Amylase Activity Estimation for Bakery Flour. In: *Proceedings of International Symposium of ISB-INMA TEH Agricultural and Mechanical Engineering.* Bucharest, Rumunjska: INMA Bucharest; 2017.
29. 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.
30. Atwell WA. CHAPTER 4: Wheat and Flour Testing. In: *Wheat Flour.* 3340 Pilot Knob Road, St.



- Paul, Minnesota 55121-2097, USA: American Association of Cereal Chemists; 2001. p. 47–65.
31. Iso Standard Methods. Geneve, Switzerland: International Organization for Standardization (ISO); 2015.
  32. AACC Approved Methods of Analysis. 11th ed. ST. Paul: AACC International; 2010.
  33. Sapirstein H, Wu Y, Koxsel 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.
  34. Majzoobi M, Beparva P. Effects of acetic acid and lactic acid on physicochemical characteristics of native and cross-linked wheat starches. *Food Chem.* 2014;147:312–7.