



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET



# **Karakterizacija albumina i biohemijski aspekti kvaliteta pšenice (*Triticum aestivum*)**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:

**Prof. Dr Ljiljana Popović**

**Dr Aleksandra Torbica**

Kandidat:

**Jelena Tomić, dipl. inž**

Novi Sad, 2015. godine

**Univerzitet u Novom Sadu**  
**Tehnološki fakultet**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Jelena Tomić, dipl. inž.
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Dr Ljiljana Popović, docent Dr Aleksandra Torbica, naučni savetnik
Naslov rada: NR	Karakterizacija albumina i biohemijski aspekti kvaliteta pšenice ( <i>Triticum aestivum</i> )
Jezik publikacije: JP	Srpski, latinica
Jezik izvoda: JI	Srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2015.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija
Fizički opis rada: FO	7 poglavlja i prilog, 151 stranica, 64 slike, 15 tabela, 8 tabelarnih priloga, 211 referenci
Naučna oblast: NO	Biotehničke nauke
Naučna disciplina: ND	Prehrambeno inženjerstvo

Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Albumini, enzimi, tehnološki kvalitet, sorte pšenice, klimatski faktori
UDK	
Čuva se: ČU	U biblioteci Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, Bul. cara Lazara 1, 21000 Novi Sad
Važna napomena: VN	nema
Izvod: IZ	<p>U okviru disertacije ispitivan je uticaj sorte i mikroklimatskih uslova tokom dve proizvodne godine pšenice na sadržaj i strukturu albumina; izvršena je karakterizacija albumina pomoću Lab-on-a-Chip elektroforeze; određena je aktivnost proteolitičkih i amilolitičkih enzima, sadržaj slobodnih sulfhidrilnih i slobodnih amino grupa; ispitana su reološka svojstva testa primenom uobičajenih metoda za procenu tehnološkog kvaliteta brašna i izvedena je karakterizacija gotovog proizvoda-hleba. Jedan deo istraživanja se odnosio na period posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije brašna.</p> <p>Obe ispitivane godine odlikovao je toplotni stres s tim što su u 2012. godini maksimalne temperature prelazile 35 °C i broj tropskih dana je bio izrazito veći u odnosu na 2011., što je uslovalo promene u sastavu i kvalitetu proteina i skroba u zrnu pšenice. Sadržaj ukupnih albumina uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. bio je značajno manji u odnosu na 2011. proizvodnu godinu. Rezultati određivanja proteolitičke i amilolitičke aktivnosti uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine su pokazali da su za 2012. proizvodnu godinu karakteristične znatno niže vrednosti ovih pokazatelja u odnosu na 2011. proizvodnu godinu i da je enzimaska aktivnost pre svega sortna karakteristika.</p> <p>Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine bio je značajno veći dok je sadržaj disulfidnih veza bio manji u</p>

	<p>odnosu na 2011. Sadržaj slobodnih amino grupa se razlikovao između uzoraka iz dve proizvodne godine, kako između različitih sorti, tako i u pogledu sva tri primenjena tretmana inkubacije glutena. Značajne razlike između vrednosti slobodnih amino grupa izmerenih nakon inkubacije gluten na 37 °C, ukazuju na različitu proteolitičku aktivnost ispitivanih uzoraka pšeničnih sorti. U poređenju sa uzorcima iz 2011. proizvodne godine, uzorci iz 2012. su imali znatno niže vrednosti specifične zapremine hleba.</p> <p>Dodatkom dvostruke količine sopstvenih albumina odabranom setu uzoraka dobijeni su rezultati, koji ukazuju da su uzorci brašna iz 2011. imali manjak amilolitičkih enzima, a uzorci iz 2012. manjak proteolitičkih enzima za postizanje optimalnog tehnološkog kvaliteta.</p>
Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	15.12.2014.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	dr Branislava Nikolovski, docent, Tehnološki fakultet, Novi Sad, predsednik  dr Ljiljana Popović, docent, Tehnološki fakultet, Novi Sad, mentor  dr Aleksandra Torbica, naučni savetnik, Naučni institut za prehrambene tehnologije, Novi Sad, mentor  dr Nikola Hristov, naučni savetnik, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, član

University of Novi Sad

Faculty of Technology

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monographic publication
Type of record: TR	Textual material, printed
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Jelena Tomić
Mentor: MN	Dr Ljiljana Popović, assistant professor Dr Aleksandra Torbica, principal research fellow
Title: TI	Characterization of albumin and biochemical aspects of wheat quality ( <i>Triticum aestivum</i> )
Language of text: LT	Serbian, latin
Language of abstract: LA	Serbian / English
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2015.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Serbia, 21000 Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1
Physical description: PD	7 chapters and annex, 151 pages, 64 figures, 15 tables, 8 tables in annex, 211 references
Scientific field SF	Biotechnical sciences
Scientific discipline SD	Food engineering

Subject, Key words SKW	Albumins, enzymes, technological quality, wheat varieties, climatic factors
UC	
Holding data: HD	Library of Faculty of Technology, Novi Sad
Note: N	
Abstract: AB	<p>In this dissertation, the influence of variety and microclimatic conditions that prevailed during the two production years on the content and structure of wheat albumins were investigated; characterization of albumins was performed by Lab-on-a-Chip capillary electrophoresis; the proteolytic and <math>\alpha</math>-amylolytic activity, as well as the content of free sulfhydryl and free amino groups were also determined; the rheological properties of dough were estimated using conventional methods for the assessment of flour technological quality and characterization of the final product- bread was performed. One part of the research covered the period of postharvest wheat and flour maturation.</p> <p>Heat stress was characteristic of both production years; however, in 2012, maximum temperatures exceeded 35 °C and the number of days with maximum temperatures above 30 °C was markedly higher than in the 2011 production year. These conditions have caused the changes in the composition and quality of protein and starch in wheat kernels. The albumin content of wheat flour samples from 2012 was significantly lower compared to 2011 production year.</p> <p>Results of proteolytic and amilolytic activities of wheat flour samples from two production years, showed that the values of these indicators were significantly lower for 2012 in relation to the 2011 production year, and that the enzyme activity is primarily varietal characteristic.</p> <p>The content of free sulfhydryl groups of wheat flour samples from the 2012 production year was significantly higher while the content of disulfide bonds was lower than in 2011. The content of free</p>

	<p>amino groups differed between samples from two production years. Differences in the amount of free amino content were evident between the varieties and between different treatments of gluten incubation. Significant differences between the values of the free amino groups measured after gluten incubation at 37 °C, indicate a different proteolytic activity of tested wheat flour samples. In comparison with the samples from the 2011 production year, samples from 2012 had significantly lower values of specific bread volume.</p> <p>The addition of double amount of its own albumins to the selected samples indicated that the flour samples from 2011 had a deficit of amylolytic enzymes and samples from 2012 had a deficit of proteolytic enzymes for achieving optimal technological quality.</p>
Accepted on Scientific Board on: AS	15.12.2014.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<p>dr Branislava Nikolovski, assistant professor, Faculty of Technology, Novi Sad, chairman</p> <p>dr Ljiljana Popović, assistant professor, Faculty of Technology, Novi Sad, mentor</p> <p>dr Aleksandra Torbica, principal research fellow, Institute of Food Technology, Novi Sad, mentor</p> <p>dr Nikola Hristov, principal research fellow, Institute of Field and Vegetable, Novi Sad, member</p>

## LISTA SKRAĆENICA

WA	Moć upijanja vode određena farinografom
DDT	Vreme razvoja testa određeno farinografom
Stab	Stabilitet testa određen farinografom
QN	Farinografski kvalitetni broj
R	Otpor testa određen ekstenzografom
Ex	Rastegljivost testa određena ekstenzografom
E	Energija testa određena ekstenzografom
R/Ex	Ekstenzografski odnos otpora i rastegljivosti testa
W	Rad deformacije određen alveografom
P	Žilavost testa, tj. maksimalni pritisak potreban za deformaciju uzorka određen alveografom
L	Rastegljivost testa tj. dužina krive dobijene alveografom
P/L	Odnos brojne vrednosti za žilavost i dužinu krive
G	Vrednost nadimanja određena alveografom
PV	Maksimalni viskozitet određen amilografom
WAMix	Moć upijanja vode (Miksolab)
DevMix	Vreme razvoja (Miksolab)
StabMix	Stabilitet testa (Miksolab)
ElastMix	Elastičnost testa (Miksolab)
C1	Inicijalna maksimalna konzistencija (Miksolab)
C2	Minimalna vrednost torzije na početku zagrevanja (Miksolab)
C3	Maksimalna vrednost torzije u fazi zagrevanja (Miksolab)
C4	Minimalna vrednost torzije nakon perioda zagrevanja (Miksolab)
C5	Maksimalna vrednost torzije nakon perioda hlađenja na 50 °C (Miksolab)
C3-C4	Stabilnost tople paste (Miksolab)
C5-C4	Iznos retrogradacije (Miksolab)
$\alpha$	Brzina slabljenja proteinske mreže (Miksolab)
$\beta$	Brzina želatinizacije skroba (Miksolab)
$\gamma$	Brzina enzimske razgradnje (Miksolab)
GIS	Gluten indeks određen standardnom metodom
GIM	Gluten indeks određen modifikovanom metodom (nakon inkubacije testa na 37 °C)
ALB1	Frakcija albumina molekulske mase od 5-15 kDa
ALB2	Frakcija albumina molekulske mase od 15-30 kDa
ALB3	Frakcija albumina molekulske mase od 30-50 kDa
ALB4	Frakcija albumina molekulske mase od 50-65 kDa
SH 0	Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa određen iz glutena bez prethodnog tretmana
SH I 30	Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 45 min na 30 °C



SH II 30	Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 90 min na 30 °C
SH III 30	Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 135 min na 30 °C
SH I 37	Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 45 min na 37 °C
SH II 37	Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 90 min na 37 °C
SH III 37	Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 135 min na 37 °C
NH2-I	Sadržaj slobodnih amino grupa određen iz glutena bez prethodnog tretmana
NH2-II	Sadržaj slobodnih amino grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 90 min na 30 °C
NH2-III	Sadržaj slobodnih amino grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 135 min na 30 °C
NH2-IV	Sadržaj slobodnih amino grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 180 min na 37 °C
NH2-V	Sadržaj slobodnih amino grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 90 min na 30 °C i naknadnog temperiranja od 180 min na 37 °C
NH2-VI	Sadržaj slobodnih amino grupa određen iz glutena nakon njegovog temperiranja 135 min na 30 °C i naknadnog temperiranja od 180 min na 37 °C
PA	Aktivnost proteolitičkih enzima
AMYL	Aktivnost amilolitičkih enzima ( $\alpha$ -amilaze)
Vsp	Specifična zapremina hleba
Hard	Čvrstoća sredine hleba
Spring	Naknadna elastičnost, visina koju uzorak povрати tokom vremena između kraja prve deformacije i početka druge deformacije
Cohes	Kohezivnost sredine hleba
Chew	Otpor žvakanju
Resil	Inicijalna elastičnost sredine hleba
ANOVA	Analysis of Variance
PCA	Principal Component Analysis

## Sadržaj

1	Uvod.....	1
2	Pregled literature .....	4
2.1	Grativne komponente pšeničnog brašna .....	4
2.1.1	Skrob.....	4
2.1.2	Ostali polisaharidi .....	5
2.1.3	Lipidi.....	6
2.1.4	Proteini.....	7
2.1.5	Gluten .....	7
2.2	Različiti pristupi procene uticaja pojedinih konstituenata pšenice na njen pecivni kvalitet.....	13
2.3	Uticaj proteina na kvalitet pšenice .....	15
2.3.1	Uticaj glijadina i glutenina na tehnološki kvalitet pšenice .....	15
2.3.2	Uticaj albumina i globulina na tehnološki kvalitet pšenice.....	17
2.4	Enzimi pšeničnog brašna .....	19
2.4.1	Amilaze pšeničnog prašna .....	19
2.4.2	Proteolitički enzimi pšeničnog brašna.....	21
2.5	Slobodne sulfhidrilne grupe i njihov uticaj na tehnološki kvalitet pšenice.....	24
2.6	Slobodne amino grupe i njihov uticaj na tehnološki kvalitet pšenice.....	28
2.7	Uticaj klimatskih faktora i genotipa na kvalitet pšenice .....	30
3	Cilj rada .....	33
4	Materijal i metode .....	34
4.1	Materijal.....	35
4.1.1	Uzorci pšeničnog brašna.....	35
4.1.2	Agrometeorološki uslovi u proizvodnoj 2011. i 2012. godini.....	36
4.2	Metode.....	39

4.2.1	Laboratorijsko mlevenje pšenice .....	39
4.2.2	Određivanje farinografskih pokazatelja kvaliteta testa.....	39
4.2.3	Određivanje ekstenzografskih pokazatelja kvaliteta testa.....	39
4.2.4	Određivanje alveografskih pokazatelja kvaliteta testa.....	39
4.2.5	Određivanje maksimalnog viskoziteta primenom amilografa.....	40
4.2.6	Određivanje termo-mehaničkih osobina testa primenom miksolaba .....	40
4.2.7	Sadržaj vlažnog glutena.....	40
4.2.8	Gluten indeks.....	40
4.2.9	Sadržaj vlage i proteina u brašnu.....	41
4.2.10	Karakterizacija albumina pomoću automatske kapilarne elektroforeze (Lab-on-a-Chip elektroforeza).....	41
4.2.11	Određivanje sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa.....	43
4.2.12	Određivanje sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa i sadržaja disulfidnih veza .....	45
4.2.13	Određivanje sadržaja slobodnih amino grupa.....	47
4.2.14	Određivanje proteolitičke aktivnosti.....	48
4.2.15	Određivanje amilolitičke aktivnosti.....	48
4.2.16	Laboratorijsko probno pečenje .....	48
4.2.17	Određivanje zapremine hleba .....	50
4.2.18	Analiza strukture odabranih uzoraka testa i hleba skenirajućom elektronskom mikroskopijom.....	50
4.2.19	Određivanje teksture sredine hleba.....	50
4.2.20	Statistička obrada podataka.....	51
5	Rezultati i diskusija .....	52
5.1	Promene odabranih biohemijskih i kvalitativnih pokazatelja tokom posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna.....	52
5.1.1	Promena sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna.....	53

5.1.2	Promena sadržaja slobodnih amino grupa tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna .....	56
5.1.3	Vrednosti gluten indeksa tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna .....	58
5.1.4	Karakterizacija albumina sveže požnjevene pšenice i tehnološki dozrelog brašna .....	60
5.1.5	Proteolitička aktivnost tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna.....	62
5.1.6	Analiza glavnih komponenti primenjena na rezultate odabranih biohemijskih i reoloških pokazatelja kvaliteta pšenice za ispitivani period skladištenja.....	63
5.1.7	Analiza glavnih komponenti primenjena na rezultate određivanja sadržaja slobodnih amino grupa i odabranih biohemijskih pokazatelja kvaliteta tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna.....	67
5.2	Karakteristike pšeničnog brašna u proizvodnoj 2011. godini.....	70
5.2.1	Karakterizacija albumina pšeničnog brašna.....	70
5.2.2	Proteolitička aktivnost pšeničnog brašna.....	73
5.2.3	Amilolitička aktivnost pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine .....	74
5.2.4	Tehnološki kvalitet pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine.....	75
5.2.5	Analiza glavnih komponenti primenjena na rezultate odabranih biohemijskih i reoloških pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine .....	81
5.3	Karakteristike pšeničnog brašna u proizvodnoj 2012. godini.....	84
5.3.1	Karakterizacija albumina pšeničnog brašna.....	84
5.3.2	Proteolitička aktivnost pšeničnog brašna.....	86
5.3.3	Amilolitička aktivnost pšeničnog brašna .....	86
5.3.4	Tehnološki kvalitet pšeničnog brašna 2012. proizvodne godine .....	87

5.3.5	Analiza glavnih komponenti primenjena na rezultate odabranih biohemijskih i reoloških pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine .....	94
5.3.6	Vrednosti odabranih pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna u ispitivanim proizvodnim godinama u odnosu na prethodni višegodišnji period .....	96
5.4	Uticaj proizvodne godine, sorte i lokaliteta na kvalitet pšeničnog brašna .....	98
5.4.1	Karakterizacija albumina uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine .....	98
5.4.2	Proteolitička aktivnost uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine .....	100
5.4.3	Amilolitička aktivnost uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine .....	101
5.4.4	Deskriptivna statistička analiza rezultata odabranih pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine.....	103
5.4.5	Mikrostruktura testa uzoraka pšeničnog brašna.....	105
5.4.6	Pecivne karakteristike uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine .....	106
5.4.7	Korelaciona analiza odabranih pokazatelja kvaliteta uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine .....	109
5.4.8	Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa i disulfidnih veza uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine .....	113
5.4.9	Sadržaj slobodnih amino grupa uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine .....	115
5.4.10	Definisanje nivoa enzimske aktivnosti pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine .....	116
6	Zaključak.....	123
	Literatura .....	127
	Prilozi .....	141

# 1 Uvod

Pšenično brašno predstavlja kompleksan sistem čiji je kvalitet uslovljen brojnim faktorima. Pored glavnih sastojaka, skroba i proteina, pšenično brašno sadrži mnoge druge komponente koje imaju posredan ili neposredan uticaj u pogledu njegove prerade i kvaliteta krajnjeg proizvoda. Kvalitet i sadržaj ovih komponenti je u visoko značajnoj međusobnoj vezi i pre svega zavisi od genetske pozadine (sorta) kao i uslova gajenja (prvenstveno klimatski uslovi i zemljište). Kako nivo ekspresije gena veoma zavisi od uslova gajenja, ispitivanje uticaja ovih faktora kao i njihove interakcije na konačni kvalitet pšeničnog brašna je predmet mnogih istraživanja. Imajući u vidu zahtev pekarske industrije za visokim nivoom ujednačenosti kvaliteta pšenice, razumevanje ovih efekata je od suštinskog značaja, prvenstveno za razvoj sorti pšenice sa specifičnim i doslednim kvalitetnim svojstvima, koja će zadovoljiti potrebe tržišta.

Sadržaj proteina i njihova struktura je najvažniji faktor koji određuje kvalitet brašna, pri čemu veći sadržaj proteina uslovljava bolji kvalitet finalnog proizvoda. Prema klasičnoj Osborne-ovoj klasifikaciji, na osnovu njihove sekvencijalne ekstrakcije u različitim rastvaračima, proteini pšenice se dele u četiri grupe: albumine (rastvorljivi u vodi i razblaženim rastvorima soli), globuline (rastvorljivi u razblaženim rastvorima soli), glijadine (rastvorljivi u vodenom rastvoru etanola) i glutenine (rastvorljivi u razblaženim rastvorima kiselina ili baza).

Iako klasifikacija po Osborne-u predstavlja veliku prekretnicu u razvoju hemije žitarica, treba imati u vidu da svaka od ovih frakcija predstavlja kompleksnu smešu različitih polipeptida koji se mogu preklapati u pogledu rastvorljivosti. Ovo se posebno odnosi na glijadine i glutenine. Pored široke zastupljenosti Osborne-ove podele, u upotrebi je veoma često i podela proteina pšenice na proteine glutena i neglutenske proteine.

Procena kvaliteta pšeničnog brašna generalno se određuje na osnovu karakteristika i sadržaja proteina glutena. Štaviše, na osnovu ove grupe proteina karakterišu se pšenične sorte.

Proteini glutena su uglavnom odgovorni za viskoelastične osobine testa pšeničnog brašna, od kojih glijadini doprinose viskozitetu i rastegljivosti glutena, a glutenini predstavljaju heterogenu smešu polimera koji doprinose jačini i elastičnosti glutena. Pri zamesu testa formira se glutenska mreža kao direktna posledica procesa povezivanja monomernih glijadina i polimernih glutenina disulfidnim vezama, stoga se sulfhidrilne grupe smatraju važnim indikatorom reoloških svojstava testa i pecivnih osobina pšeničnog brašna.

U cilju određivanja kvalitativnih razlika između proteina pšeničnog brašna, upotrebljavani su različiti pristupi, pri čemu najčešće korišćen metod podrazumeva

utvrđivanje korelacija između sastava proteina i određenih funkcionalnih osobina pšeničnog brašna. Drugi pristup je direktniji i podrazumeva frakcionisanje pojedinih konstituenata brašna, njihovo dodavanje u različitim količinama rekonstituisanom brašnu ili razmenu ekvivalentne količine određene proteinske frakcije, između brašna različitog kvaliteta.

Udeo albumina i globulina (neglutenski proteini) u ukupnim proteinima zrna pšenice iznosi oko 20%. Neglutenski proteini su uglavnom monomeri, iako teže da formiraju polimere stabilizovane preko intermolekularnih disulfidnih veza. Molekulske mase neglutenskih proteina su uglavnom manje od 25 kDa, ali postoje podjedinice molekulske mase između 60 i 70 kDa. Smatra se da većinu ovih proteina čine enzimi koji imaju važnu ulogu za rast i razvoj biljke (semena). To su enzimi koji učestvuju u metabolizmu ugljenih hidrata (27%), metabolizmu proteina (27%), stres/odbrana/detoksikacija (11%), metabolizmu ćelija (6%), transkripciji/translaciji (4%), metabolizmu azota (4%), fotosintezi (4%) i transdukciji signala (1%). Poseduju relativno dobro izbalansiran aminokiselinski sastav uključujući aspartat, treonin, lizin i triptofan. Određeni visoko molekularni albumini imaju karakteristike skladišnih proteina i stoga su tesno povezani sa kvalitativnim pokazateljima pšenice uključujući tvrdoću zrna, reološka svojstva testa i zapreminu hleba. Dokazano je postojanje albumina visokih molekulske mase (HMW) u agregatima proteinskih frakcija, što je tumačeno na razne načine. Međutim, Gupta i sar. (1991) su ustanovili da su HMW albumini sposobni da formiraju sopstvene agregate pomoću disulfidnih veza i da ne moraju nužno biti kovalentno vezani za glutenine. Određeni albumini su okarakterisani kao inhibitori  $\alpha$ -amilaze, dok pojedine studije navode da neglutenski proteini predstavljaju enzime koji poseduju različite fiziološke funkcije.

Nasuprot proteinima glutena, neglutenski proteini su veoma malo izučavani i postoji nekoliko studija o njihovoj povezanosti sa kvalitativnim karakteristikama pšeničnog brašna, testa i hleba. Ispitivanja ove grupe proteina u smislu utvrđivanja njihovog uticaja na pecivni kvalitet brašna datiraju još od 50-tih godina prošlog veka. Iako nije utvrđena direktna povezanost ove grupe proteina sa funkcionalnim osobinama brašna, pojedini autori navode da je njihovo prisustvo neophodno za dobijanje hleba optimalne zapremine. Weegels i sar. (1995) su ustanovili da i pored toga što neglutenski proteini malih molekulske mase imaju nekonzistentan efekat na zapreminu hleba, poseduju značajan uticaj na biohemijske i reološke osobine testa. Kod sorti sa jakim glutenom taj uticaj se manifestuje tako da dodatak niskomolekularnih neglutenskih proteina povećava zapreminu hleba, dok kod sorti sa slabijim glutenom taj uticaj nije izražen ili je negativan na isti pokazatelj.

Sa tehnološkog aspekta značaj ovih proteina u kvalitetu brašna je i dalje nejasan, iako ispitivanja nekih specifičnih neprolaminskih proteina ukazuju na moguć doprinos kvalitetu pšeničnog brašna.

Na osnovu analiziranih podataka iz literature, može se zaključiti da ispitivanja koja se odnose na definisanje pojedinih proteinskih komponenti kao i biohemijskih pokazatelja,

ne ukazuju na jasnu vezu pojedinih konstituenata brašna sa njegovim tehnološkim kvalitetom. U smislu ispitivanja uticaja albumina na kvalitet brašna, postoje istraživanja u okviru kojih je testo podvrgnuto dejstvu komercijalnih enzima, tako da možemo zaključiti o smeru njihovog dejstva kada se u brašnu dodaju u višku. Međutim, ne raspolažemo o saznanjima o dejstvu albumina u realnim sistemima. Testo pšeničnog brašna je dinamički sistem podložan promenama koje se dešavaju kao odgovor na razne promene kako klimatskih uslova, tako i već nabrojanih drugih faktora. Ispitivanju albumina sa aspekta njihovog potencijalnog doprinosa tehnološkom kvalitetu pšenice, posvećena je mala pažnja zbog verovanja da imaju sekundarnu ulogu na kvalitet brašna. S druge strane, intenzivne klimatske promene poslednjih decenija, imaju za posledicu razvoj genetskog materijala pšenice otpornog na novonastale nepovoljne uslove tokom vegetacije. U tom smislu, može se pretpostaviti da je i uloga albumina promenjena.



## 2 Pregled literature

### 2.1 Gradivne komponente pšeničnog brašna

Pšenica predstavlja jednu od najvažnijih kultura u svetu, s obzirom na zasejane površine i ukupan prinos. Razlog leži u njenoj adaptiranosti širokom spektru klimatskih uslova i tipova zemljišta kao i u činjenici da od svih žita, jedino pšenično brašno ima sposobnost da stvara testo koje ispoljava osobine neophodne za proizvodnju širokog spektra poznatih prehrambenih proizvoda visokog kvaliteta (Shewry i sar., 1997). Testo pšeničnog brašna može da zadrži gasove stvorene tokom fermentacije i pečenja i da obrazuje sunderastu, poroznu sredinu. Skrob je kvantitativno glavni sastojak pšeničnog zrna, ali jedinstvenim svojstvima pšeničnog brašna najviše doprinose proteini, prvenstveno skladišni proteini endosperma. Pored genetskih faktora i faktora životne sredine koji određuju suštinski kvalitet pšenice, prerada pšeničnog brašna takođe uslovljava kvalitet gotovog proizvoda. Iako proteini igraju odlučujuću ulogu u proizvodnji i/ili kvalitetnim atributima proizvoda na bazi pšenice, kompleksni mehanizmi nisu u potpunosti razjašnjeni kako zbog poteškoća pri izolaciji glutena i njegove same prirode tj. kompleksnosti i raznovrsnosti strukture sastojaka glutena, tako i zbog širokog spektra hemijskih reakcija koje se javljaju tokom prerade pšenice (Delcour i sar., 2012).

#### 2.1.1 Skrob

Od ugljenih hidrata prisutnih u endospermu pšenice, skrob je zastupljen sa najvišim udelom (oko 63-72%). Skrob se sastoji od glukoernih polimera, amiloze i amilopektina. Amiloza ima jednostavnu građu i u suštini predstavlja linearan molekul, koji se sastoji od jedinica  $\alpha$ -D-glukoze međusobno povezanih  $\alpha$ -1,4 glikozidnim vezama, stepena polimerizacije u opsegu od 500 do 6000 glukoernih ostataka. Postoje podaci da amiloza nije u potpunosti linearan molekul i mestimično je razgranat  $\alpha$ -1,6 glikozidnim vezama. S druge strane, amilopektin je visoko razgranat molekul i sastoji se od glavnog i bočnih lanaca. Glavni lanac čine molekuli glukoze povezani  $\alpha$ -1,4 glikozidnom vezom, dok se na svakih 20-25 glukopiranoernih ostataka pojavljuje bočni lanac spojen  $\alpha$ -1,6 glikozidnom vezom. Među prirodnim polimerima, amilopektin predstavlja jedan od najvećih polimera molekulske mase veće od  $10^8$  Da. Uobičajen odnos amiloze i amilopektina u skrobu je 25-28%, odnosno 72-75% (Van Der Borght i sar., 2005). U pšenici, skrob je prisutan u vidu intracelularnih granula, različitih veličina i oblika u zavisnosti od botaničkog porekla. Za razliku od većine biljnih skrobova, pšenični skrob pokazuje

bimodalnu raspodelu veličina granula. Razlikuju se dve veličine skrobnih zrna: krupne granule srednjeg prečnika oko 20  $\mu\text{m}$  i sitne granule prečnika oko 10  $\mu\text{m}$  (srednji prečnik 5  $\mu\text{m}$ ).

Što se tiče uloge skroba u pekarstvu, ona je višestruka i još uvek nije u potpunosti razrešena. Skrob formira kontinualnu mrežu čestica zajedno sa makromolekulskom mrežom hidratisanog glutena. Ove dve nezavisne strukture, kao i njihove interakcije, doprinose reološkim svojstvima testa. Iako ove interakcije igraju važnu ulogu, relativni doprinosi interakcija kao i pojedinačnih komponenti nisu u potpunosti utvrđeni (Song i Zheng, 2007). Skrob doprinosi viskoelastičnosti testa pšeničnog brašna delujući kao punjač. Delovanjem amilaza na skrob, obezbeđuju se fermentabilni šećeri neophodni za normalnu aktivnost kvasca. Tokom procesa pečenja, skrob učestvuje u formiranju strukture hleba kroz proces želatinizacije (postaje fleksibilan i elastičan). U pekarstvu skrob se uglavnom povezuje sa starenjem hleba, kroz očvršćavanje strukture sredine hleba kao posledica njegove retrogradacije (Goesaert i sar., 2005). Od izuzetnog značaja su veličina i raspodela veličina granula skroba na svojstva ćelijskih zidova sredine hleba. Na mikroskopskom nivou, ćelijski zidovi sredine hleba nisu homogeni već predstavljaju dvokomponentni sistem, sastavljen od delimično nabubrelih granula skroba, međusobno povezanih kompleksnom smešom agregiranih molekula i gasa unutar ćelijskih zidova (Scanlon i Zghal, 2001). Pokazalo se izuzetno važnim i stepen njihove oštećenosti. Oštećeni skrob povećava apsorpciju vode i podložniji je dejstvu  $\alpha$ -amilaza (Stauffer, 1999). Tokom procesa mlevenja više od 10% skroba bude oštećeno. Stepenn oštećenja zavisi od uslova mlevenja i tvrdoće zrna (Van Der Borght i sar., 2005).

### **2.1.2 Ostali polisaharidi**

Pored skroba, u pšeničnom brašnu su prisutni i drugi polisaharidi. Neskrobni polisaharidi se nalaze u zidovima ćelija endosperma i tkivu mekinja a sastoje se od arabinoksilana, (1-3, 1-4)- $\beta$ -glukana, celuloze i arabinogalaktana. Arabinoksilani su posle skroba, najzastupljeniji polisaharidi u brašnu (1.5-2.5%) i mogu biti rastvorljivi u vodi (zastupljeni do 0,5% u brašnu) ili nerastvorljivi u vodi (zastupljeni do 1,5% u brašnu) (Van Der Borght i sar., 2005).

Pri dodatku testu arabinoksilana rastvorljivih u vodi, dolazi do povećanja njegove konzistencije, tvrdoće i smanjenja vremena mešenja. Pri istoj konzistenciji testa, ovaj dodatak ima za posledicu povećanje apsorpcije, povećanje vremena zamesa, povećanje otpora i smanjenje rastegljivosti testa. Arabinoksilani velikih molekulskih masa ispoljavaju veći efekat na apsorpciju vode i vreme razvoja testa. Dodatak u vodi nerastvornih arabinoksilana ima sličan uticaj na testo, izuzev što ne menja njegovu rastegljivost (Goesaert i sar., 2005).

Uticaj u vodi nerastvorljivih arabinoksilana na gotov proizvod- hleb se ogleda u smanjenju njegove zapremine i pogoršanju strukture sredine hleba (Courtin i Delcour,

2002). Brašna lošijeg kvaliteta se odlikuju većom količinom arabinoksilana. Povećanje zapremine hleba u tom slučaju, moguće je postići prethodnom hidrolizom arabinoksilana odgovarajućim enzimima (endoksilanaze) (Eliasson i Larsson, 1993; Stauffer, 1999; Steffolani i sar., 2010). Ksilanaze oslobađaju u vodi rastvorljive arabinoksilane i smanjuju njihovu molekulsku masu. Upotreba ksilanaza povećava elastičnost i kvalitet gotovog proizvoda (Jiménez i Martínez-Anaya, 2001), smanjuje inicijalnu tvrdoću sredine hleba i produžava održivost hleba (Haros i sar., 2002).

### **2.1.3 Lipidi**

Lipidi se nalaze u zrnju pšenice kao sastavni deo intracelularnih membrana i sferozoma i čine oko 1-2% od ukupne mase brašna. Uprkos maloj količini, lipidi imaju značajan uticaj na kvalitet hleba (Morrison, 1988). Na osnovu rastvorljivosti, lipidi pšeničnog brašna su podeljeni u dve glavne kategorije, slobodne i vezane lipide (Pomeranz, 1978). Jedan deo lipida je vezan (nekovalentno) za skrob, takozvani skrobni lipidi, u amilozno-lipidnom kompleksu, dok drugi deo učestvuje u interakcijama sa proteinima brašna. Zahvaljujući njihovoj sposobnosti da stupaju u interakcije sa vodom, lipidi pšeničnog brašna se mogu podeliti na polarne (glikolipidi i fosfolipidi) i nepolarne lipidne frakcije (uglavnom trigliceridi) (Eliasson i Larson, 1993).

Poznato je da lipidi brašna, naročito neskrobne frakcije, značajno utiču na pećivni kvalitet pšeničnog brašna. Skrobni lipidi su snažno vezani unutar granula skroba i u suštini nisu u mogućnosti da utiču na obradive osobine testa sve do momenta želatinizacije skroba. Polarni lipidi ispoljavaju pozitivan a nepolarni izrazito štetan uticaj na gotov proizvod (MacRitchie, 1984). Pri dodatku nepolarnih lipida odmašćenom brašnu, dolazi do smanjenja zapremine i pogoršanja teksturnih svojstava hleba. Za razliku od njih, polarni lipidi povećavaju zapreminu hleba i povoljno utiču na obradive osobine testa (Eliasson & Larson, 1993). Pored toga, odnos polarnih i nepolarnih lipida, sadržaj galaktolipida i slobodnih neskrobnih lipida su snažno povezani sa zapreminom hleba (Goesaert i sar., 2005). Jedan od načina izučavanja uloge lipida u reološkim osobinama testa i kvalitetu hleba, zasniva se na njihovom uklanjanju i dodatku pojedinih frakcija lipida rekonstituisanom brašnu. Lipidne frakcije se takođe mogu dodati netretiranom brašnu. Uklanjanjem lipida iz brašna (u količini od 0,6-0,9% na masu brašna) dolazi do značajne promene u viskoelastičnim osobinama testa, dok je uticaj lipida na reološka svojstva glutena neznatan (Georgopoulos i sar., 2006). Tokom starenja brašna, javljaju se i promene u lipidima brašna, uključujući sporu hidrolizu koja dovodi do formiranja slobodnih masnih kiselina (Dik i sar., 2002).

### 2.1.4 Proteini

Pšenično zrno sadrži oko 12% proteina smeštenih u endospermu. Proteini pšenice su bili među prvim proučavanim proteinima od perioda kada je Becckari 1745. godine izolovao gluten. Kasnije su izolovani proteini pirinča i ječma. Početkom 20. veka Osborne je izveo sistematsku studiju u cilju razvoja klasifikacije za proteine žitarica, na osnovu njihove sekvencijalne ekstrakcije i različite rastvorljivosti (Gianibelli i sar., 2001).

Iako klasifikacija po Osborne-u predstavlja veliku prekretnicu u razvoju hemije žitarica, treba imati u vidu da svaka od ovih frakcija predstavlja kompleksnu smešu različitih polipeptida i da se ovi polipeptidi mogu preklapati u pogledu rastvorljivosti. Ovo se posebno odnosi na glijadine i glutenine (Singh i Skerritt, 2001b; Hamer, 2003; Vensel i sar., 2014). Pored široke zastupljenosti Osborne-ove podele, u upotrebi je veoma često i podela proteina pšenice na proteine glutena i neglutenske proteine (Veraverbeke i Delcour, 2002). Danas postoje mnoge varijacije Osborne-ovog postupka ekstrakcije pšeničnih proteina.

Prema klasičnoj Osborne-ovoj klasifikaciji proteini pšenice se dele u četiri grupe: albumine, globuline, glijadine i glutenine (Gianibelli i sar., 2001). Slaba rastvorljivost proteina glutena u vodi uslovljena je pre svega niskim sadržajem aminokiselina sa jonizujućim bočnim lancima, kao i visokim sadržajem glutamina i nepolarnih aminokiselina prolina i glicina (Delcour i sar., 2012).

### 2.1.5 Gluten

Za pecivni kvalitet pšeničnog brašna od izuzetne važnosti je sadržaj proteina pri čemu veći sadržaj proteina uslovljava bolji kvalitet finalnog proizvoda (Unbehend i sar., 2003). Pšenične sorte sa istim nivoom proteina se međusobno razlikuju po svojim pecivnim karakteristikama, potvrđujući da je pored sadržaja proteina od izuzetne važnosti i njihova struktura, kao jedan od najvažnijih faktora koji određuju kvalitet brašna (Békés, 2012). Fizičke osobine testa određuje, uglavnom, gluten, mada i prisustvo rastvorljivih proteina u testu igra izvesnu ulogu i može da utiče, u manjoj meri, na tok razvoja testa, apsorpciju vode i kvalitet brašna.

Pšenični gluten predstavlja protein-lipid-ugljenohidratni kompleks, formiran kao rezultat specifičnih kovalentnih i nekovalentnih interakcija između komponenti brašna tokom zamesa testa (Békés, 2012). U dodiru sa vodom gluten bubri, pri čemu se obrazuje fina mrežasta struktura stabilizovana disulfidnim vezama, vodoničnim vezama i hidrofobnim interakcijama (Chiang i sar., 2006). Zahvaljujući prisustvu proteina i formiranju glutena, testo poseduje osobine kao što su: rastegljivost, elastičnost, sposobnost zadržavanja gasa i drugo. Uobičajen hemijski sastav netretiranog glutena,

formiranog tokom procesa mešenja, podrazumeva približno 75% proteina, 6% masti, 15% ugljenih hidrata i 0,85% pepela.

Proteini glutena čine 80% od ukupnih proteina brašna i predstavljaju rezervne proteine pšenice (Shomer i sar., 1998). Proteini glutenskog kompleksa se sastoje iz dve frakcije: glijadina, rastvorljivih u alkoholu i glutenina, nerastvorljivih u alkoholu ali rastvorljivih u razblaženim kiselinama ili bazama. Obe frakcije su važni faktori reoloških osobina testa i veoma se razlikuju po svojim funkcionalnim svojstvima. Naime, smatra se da gluteninska frakcija doprinosi viskoelastičnim osobinama glutena i testa, dok glijadinska frakcija, nekovalentnim interakcijama, kako međusobno tako i sa polimerima glutenina, deluje kao plastifikator glutenske mase (Pèrez i sar., 2005; Manu i Prasada Rao, 2008; Shewry i Tatham, 1997). Stoga funkcionalne osobine brašna zavise od strukture pojedinih proteinskih frakcija i njihovih interakcija kao i interakcija sa drugim komponentama zrna (Shewry i Tatham, 1997).

### **2.1.5.1 Glijadini**

Glijadini su heterogene smeše jednolančanih peptida koji su, u nativnom stanju, rastvorljivi u 70%-tnom alkoholu. Glijadini uglavnom doprinose viskozitetu i rastegljivosti testa pšeničnog brašna. Zbog izraženog polimorfizma, ovi proteini su u širokoj upotrebi za identifikaciju sorti u heksaploidnim i tetraploidnim pšenicama (Gianbelli, 2001). Molekulske mase glijadina se kreću u opsegu od 30-80 kDa. Na osnovu pokretljivosti pri niskom pH, tj. u kiselim uslovima sredine A-PAGE elektroforezom (Acid polyacrylamide gel electrophoresis) su identifikovane četiri grupe glijadina:  $\alpha$ -glijadini,  $\beta$ -glijadini,  $\gamma$ -glijadini i  $\omega$ -glijadini. Kasnije studije o aminokiselinskim sekvencama su svrstale  $\alpha$ - i  $\beta$ -glijadine u istu grupu ( $\alpha/\beta$ - glijadini) (Wieser, 2007).

Iako je distribucija ukupnih glijadina uslovljena sortom pšenice i uslovima rasta (zemljište, klima, đubrenje), može se smatrati da  $\alpha/\beta$ - glijadini i  $\gamma$ -glijadini predstavljaju glavne komponente, dok se  $\omega$ -glijadini javljaju u mnogo nižim udelima. Pomoću SDS - PAGE elektroforeze i sekvenciranja aminokiselina, utvrđeno je da se molekulske mase  $\omega$ -glijadina kreću u opsegu od 46-74 kDa, dok  $\alpha/\beta$ - i  $\gamma$ -glijadini imaju niže molekulske mase, počev od 30 do 45 kDa (Kasarda i sar., 1983).

C terminalni regioni  $\alpha/\beta$ - i  $\gamma$ -glijadina sadrže šest ili osam cisteinskih ostataka, koji formiraju intramolekularne disulfidne veze.  $\alpha/\beta$ - i  $\gamma$ -glijadine karakteriše visok sadržaj prolina i glutamina, gde je približno 90% ostataka glutaminske i asparaginske kiseline u vidu amida. Imaju relativno visok sadržaj leucina, ali su siromašni u osnovnim aminokiselinama.  $\gamma$ -glijadini se razlikuju od  $\alpha/\beta$ -glijadina u količini asparaginske kiseline, prolina, metionina, tirozina, fenilalanina i triptofana.  $\omega$ -glijadine karakteriše visok nivo glutamina, prolina i fenilalanina, koji predstavljaju više od 80% ukupnih aminokiselinskih ostataka. Za razliku od drugih glijadina,  $\omega$ -glijadini ne sadrže cistein i nisu u stanju da formiraju disulfidne (S-S) veze. Stoga se  $\alpha/\beta$ -glijadini i  $\gamma$ -glijadini zovu

prolamini bogati sumporom, a  $\omega$ -glijadini se zovu prolamini siromašni sumporom. (Wieser, 2007).

### **2.1.5.2 Glutenini**

Glutenini predstavljaju heterogenu smešu polimera nastalu povezivanjem polipeptida disulfidnim vezama. Prema njihovoj elektroforetskoj pokretljivosti na SDS-PAGE elektroforezi, nakon redukcije disulfidnih veza mogu se klasifikovati u četiri grupe. A grupa odgovara visokomolekularnim podjedinicama glutenina (HMW-GS), sa molekulskim masama od 80-120 kDa. B i C grupa (30-40 kDa) pripadaju niskomolekularnim podjedinicama glutenina (LMW-GS) i povezani su sa  $\gamma$ - i  $\alpha$ -glijadinima. Na kraju, D grupa pripada takođe LMW-GS grupi i povezana je sa  $\omega$ -glijadinima (Gianbelli, 2001).

Glutenini predstavljaju teško rastvorljive proteine. Delovanjem snažnih redukujućih sredstava ( $\beta$ -merkaptoetanol ili ditiotreitola) dolazi do raskidanja intermolekularnih disulfidnih veza i oslobađanja podjedinica glutenina, koje su rastvorljive u vodenom rastvoru alkohola, slično glijadinima (Veraverbeke & Delcour, 2002; Goesart i sar., 2005).

HMW podjedinice glutenina su male komponente u smislu količine (oko 10% proteina glutena) ali predstavljaju ključni faktor u procesu proizvodnje hleba, jer u velikoj meri određuju elastičnost glutena i stvaranje većih polimera glutenina. HMW podjedinice glutenina se odlikuju visokim sadržajem prolina (10 mol%), glicina (20 mol%) i glutamina (35 mol%) (Gianbelli, 2001). Sve sorte pšenice sadrže tri do pet HMW podjedinica glutenina, koje se mogu grupisati u dva različita tipa podjedinica: x- i y-tip podjedinica (Wieser, 2007). Uprkos visokom stepenu sličnosti u strukturi i sekvencama aminokiselina, postoje potencijalno bitne razlike koje određuju funkcionalnost gluteninskih polimera. Podjedinice x-tipa generalno imaju sporiju pokretljivost na SDS-PAGE gelovima i veće molekulske mase u odnosu na podjedinice y-tipa, zbog razlike u dužini centralnog repetitivnog domena. Razlikuju se i po strukturi centralnog repetitivnog domena, kao i po broju i distribuciji cisteinskih ostataka (Shewry i sar., 1992).

LMW podjedinice predstavljaju jednu trećinu ukupnih proteina i približno 60% ukupnih glutenina. Uprkos tome, poklonjeno im je manje pažnje u odnosu na HMW-GS zbog otežane identifikacije na jednodimenzionalnom SDS-PAGE gelu. Rešavanju ovog problema, koji uglavnom proističe zbog preklapanja LMW-GS podjedinica i glijadina, doprinosi razvoj pojednostavljenog dvostepenog SDS-PAGE metoda (Gianbelli, 2001). LMW podjedinice glutenina sadrže šest C krajnjih cisteinskih ostataka na istim pozicijama kao i glijadini i najmanje jedan dodatni cisteinski ostatak, koji mogu formirati intramolekularne disulfidne veze sa drugim proteinima glutena i na taj način učestvuju u stvaranju glutenske mreže (Wieser, 2007). Iako su LMW podjedinice glutenina po

primarnoj i sekundarnoj strukturi slične glijadinima, oni se razlikuju po jednoj veoma važnoj karakteristici. Osim intramolekularnih disulfidnih veza, LMW obrazuju i intermolekularne disulfidne veze pomoću kojih se ugrađuju u polimere glutenina (Delcour i sar., 2012).

### **2.1.5.3 Neglutenski proteini**

Neglutenski proteini čine 15-20% ukupnih proteina pšeničnog zrna i sastoje se od albumina i globulina (Osborne, 1907). Uglavnom se nalaze u spoljašnjim slojevima zrna, dok su manje količine prisutne u endospermu (Goesaert i sar. 2005). U zrnju se akumuliraju približno 20 dana nakon cvetanja, nakon čega njihova količina ostaje na približno istom nivou (Triboi i sar., 2003). To su uglavnom monomerni proteini, molekulske mase uglavnom niže od 25 kDa, ali postoje podjedinice molekulske mase između 60 i 70 kDa (Veraverbeke i Delcour, 2002).

U neglutenske proteine spada i mala grupa polimernih skladišnih proteina pšenice, zvani triticini koji pripadaju globulinskoj klasi proteina. Ovi proteini se nalaze u ostatku nakon frakcionisanja klasičnim Osborne-ovim postupkom i njihova uloga u formiranju pecivnih svojstava pšeničnog brašna nije poznata (Goesaert i sar., 2005).

Ova grupa proteina (albumini i globulini) je veoma raznovrsna u smislu aminokiselinskog sastava, izoelektrične tačke i molekulske mase. Oni su uključeni u formiranje zrna i akumulaciju skladišnih proteina endosperma i skroba (Vensel i sar., 2005) i doprinose povećanju prirodne otpornosti pšeničnog zrna na napad štetnih insekata (Gralik i Warchalewski, 2006; Heidari i sar., 2005).

Za većinu ovih proteina se smatra da su različiti enzimi, od važne uloge za rast i razvoj biljaka. Poseduju relativno dobro izbalansiran aminokiselinski sastav uključujući aspartat, treonin, lizin i triptofan. Po sastavu aminokiselina, albumini i globulini se razlikuju od proteina glutena. Imaju niži sadržaj glutaminske kiseline i više lizina. Ustvari, zahvaljujući lizinu, ova grupa proteina ima aminokiselinski sastav koji odgovara ljudskim potrebama. Nažalost, kako su u endospermu pšenice zastupljeni u malim količinama, njihovo prisustvo nije dovoljno za nadomeštanje nedostatka lizina u pšeničnom brašnu (Gianibelli i sar., 2001). Aminokiselinski sastav pojedinih komponenti neglutenskih proteina su prikazani u Tabeli 2.1.

**Tabela 2.1.** Aminokiselinski sastav neglutenskih proteina

<i>Aminokiselina</i>	<i>Triticini</i>	<i>β-amilaze</i>	<i>Albumini (LMW)</i>
<b>Asp</b>	7,2	11,0	7,6
<b>Thr</b>	3,0	3,1	2,4
<b>Ser</b>	7,1	3,9	6,4
<b>Glu</b>	20,3	11,1	10,8
<b>Pro</b>	4,9	6,1	7,5
<b>Gly</b>	16,2	8,8	8,3
<b>Ala</b>	5,8	8,0	8,4
<b>Val</b>	4,3	7,3	11,3
<b>Cys</b>	1,0	1,6	8,1
<b>Met</b>	0,8	2,4	2,6
<b>Ile</b>	2,9	3,9	1,7
<b>Leu</b>	6,0	8,7	7,6
<b>Tyr</b>	3,0	4,5	3,4
<b>Phe</b>	5,3	4,4	0,1
<b>Lyz</b>	2,8	3,8	5,0
<b>His</b>	3,2	3,7	0,02
<b>Arg</b>	6,2	5,4	5,7
<b>Trp</b>	n.d.	2,5	3,0

(Preuzeto i preuređeno od Macritchie, 1992)

Određene podjedinice HMW albumina (65, 63, i 60 kDa), koje se javljaju u vidu oligomera i monomera, su u svom nativnom stanju β-amilaze. Dokazano je postojanje HMW albumina u agregatima proteinskih frakcija, što je tumačeno na razne načine. Nerastvorljivi enzimski aktivni kompleks glutenina i β-amilaza se prvi put spominje u istraživanjima objavljenim od strane Rothfus i Kennel (1970). Njihovo ispiranje sa polimernim gluteninima i triticinima, primenom SE- HPLC ukazuje da su i oni disulfidno vezani molekuli. Primenom metoda dijagonalne elektroforeze utvrđeno je da se albumini u nativnom stanju nalaze i u polimernoj i monomernoj formi (Gupta i sar., 1991). S druge strane, prilikom ekstrakcije sa 0,1 M sirćetnom kiselinom, nije uočeno prisustvo albumina u ekstraktu nativnih glutenina (Tao i sar., 1989). Međutim, kako je iz ekstrahovano samo 70% proteina, mogućnost postojanja heteropolimera glutenina i albumina ne može biti isključena. Imunološke analize HMW albumina potvrdile su da su podjedinice od 69, 63, i 60 kDa β-amilaze, ali ne i podjedinica od 45 kDa (Gupta i sar., 1991).

Sve do kraja 20-tog veka nije bilo potvrde o njihovoj povezanosti sa polimerima glutenina, ali Peruffo i sar. (1996) su dokazali postojanje disulfidnih veza između β-amilaze i LMW-gluteninskih podjedinica. Osim toga, količina β-amilaza je u negativnoj korelaciji sa veličinom gluteninskog makropolimera (Gianbelli i sar., 2001).



Gupta i sar. (1991) su ustanovili da su HMW albumini sposobni da formiraju sopstvene agregate pomoću disulfidnih veza i da ne moraju nužno biti kovalentno vezani za glutenine. Takođe, smatraju da ovi proteini imaju ulogu skladišnih proteina. Uticaj disulfidno vezanih HMW albumina (vezane  $\beta$ -amilaze) na funkcionalnost polimernih proteina nije poznata. Međutim, kako ispitivanja pojedinih komponenti polimernih frakcija proteina pokazuju da HMW albumini čine značajan udeo ove frakcije i štaviše, ispoljavaju izvesne varijacije između sorti, oni mogu imati određen uticaj na svojstva polimernih proteina pšenice, a samim tim i na kvalitet brašna (Gupta i sar. 1991).

Određeni HMW albumini imaju karakteristike skladišnih proteina i tesno su povezani sa kvalitativnim pokazateljima pšenice uključujući tvrdoću zrna, reološka svojstva testa i zapreminu hleba (Dong i sar., 2012).

Pšenični albumini sadrže inhibitore  $\alpha$ -amilaze i tripsina, prekursor peroksidaze, serin karboksipeptidazu, serpina (inhibitore serinskih proteaza) i puroindoline (Singh i Skerritt, 2001b; Morris, 2002). Serpini su inhibitori serin proteinaza. Puroindolini su proteini bogati cisteinom od 13 kDa, sa 5 disulfidnih mostova koji imaju područje bogato triptofanom. Hlebna pšenica sadrži dve vrste puroindolina koje se neznatno razlikuju po veličini. Puroindolini a i b utiču na teksturu zrna i imaju antimikrobnu aktivnost. Kada je ili puroindolin a ili puroindolin b odsutan ili mutiran, tekstura zrna postaje veoma tvrda. Pošto durum pšenici nedostaje i puroindolin a i puroindolin b, tekstura zrna je veoma tvrda (Morris, 2002).

Duže vreme se verovalo da su albumini uglavnom enzimskog karaktera, međutim većina biološki aktivnih pšeničnih albumina ima sposobnost da inhibira aktivnost  $\alpha$ -amilaze. Shewry i sar. (1984) su okarakterisali određene albumine kao inhibitore  $\alpha$ -amilaze. Molekulske mase inhibitora  $\alpha$ -amilaze su 12, 24 i 60 kDa, sa podjedinicama od 12 kDa. Inhibitori  $\alpha$ -amilaze iz 24 kDa porodice imaju 10 ostataka cisteina u svakoj podjedinici (Deponte, 1976; Wang i sar., 2006). Feng i sar. (1996) su izolovali polipeptide molekulske mase od 14 kDa koji pripadaju superfamiliji proteaza i inhibitora  $\alpha$ -amilaze. DuPont i sar. (2011) su primenom dvodimenzionalne elektroforeze, digestije proteina odgovarajućim proteazama i analizom peptida masenom spektrometrijom, ustanovili da inhibitori amilaze i proteaza čine 4,1%, triticini 1,6%, serpini 1,6% i ostali enzimi 1,9% od proteina pšeničnog brašna.

Što se tiče njihove fiziološke uloge u semenu, najčešće zastupljena hipoteza je da albumini kao što su inhibitori  $\alpha$ -amilaze/tripsina i serpini mogu da deluju kao rezervni nutritijenti pri klijanju embriona, kao regulatori endogenih enzima ili mogu imati odbrambenu ulogu protiv napada insekata i mikrobioloških štetočina (Heidari i sar., 2005).

Gao i sar. (2009) su ispitivali albumine i globuline sorti pšenice različitog kvaliteta tokom razvoja zrna pšenice, pomoću dvodimenzionalne diferencijalne elektroforeze i masene spektrometrije. Period ispitivanja je obuhvatao pet faza razvoja zrna nakon cvetanja pšenice. Od oko 400 detektovanih proteina na 2D-gelu u jednoj ili više izpitivanih faza razvoja, 230 proteina je identifikovano pomoću masene spektrometrije.

Ustanovili su da među identifikovanim proteinima, više od 85% proteina su enzimi koji poseduju različite fiziološke funkcije. Neki od identifikovanih proteina su prikazani u Tabeli 2.2. Dong i sar. (2012), ispitujući neglutenske proteine tokom različitih faza razvoja pšenice, su utvrdili da među 89 identifikovanih proteina, više od 80% su enzimi svrstani u osam funkcionalnih kategorija. To su enzimi koji učestvuju u metabolizmu ugljenih hidrata (27%), metabolizmu proteina (27%), stres/odbrana/detoksikacija(11%), metabolizmu ćelija (6%), transkripciji/translaciji (4%), metabolizmu azota (4%), fotosintezi (4%) i transdukciji signala (1%).

Poslednjih decenija značajna istraživanja su usmerena ispitivanju ovih proteina sa zdravstvenog aspekta, tj. identifikaciji i detekciji albumina kao alergena (Akagawa i sar., 2007; Larré i sar., 2011).

**Tabela 2.2.** Proteini endosperma pšenice identifikovani masenom spektrometrijom (Gao i sar., 2009)

Naziv proteina	Odgovarajući peptidi	pI/MW(kDa) (eksperimentalno utvrđeno)	pI/MW(kDa) (teorijske vrednosti)
<u>Enzimi sa zaštitnom funkcijom</u>			
Askorbat peroksidaza	2; 5; 11; 12; 13	5,74-6,15/28; 29; 30	5,15-5,85/27
Serpini	2-4	5,64-6,13/36; 43; 47	5,18-5,63/42-43
Peroksidaze	4	9,37/38	8,14/38
Katalaze	3; 14	7,22/56	6,66/56
Inhibitori $\alpha$ -amilaze	2; 6	4,99; 4,81/14; 38	7,45; 6,66/16; 13
Prekursor peroksidaze	4; 12	6,53; 9,10/38	8,14/38

## ***2.2 Različiti pristupi procene uticaja pojedinih konstituenata pšenice na njen pecivni kvalitet***

Usled velike varijabilnosti u funkcionalnim svojstvima brašna različitih sorti pšenice, mnoga istraživanja su usmerena na razumevanje odnosa između ovih osobina i sastava proteina. Pšenično brašno predstavlja izuzetno kompleksan sistem, što ujedno onemogućava potpuno rastvaranje proteina u cilju njihove karakterizacije. Jedna od glavnih prepreka za karakterizaciju proteina pšenice je nedostatak metoda za rastvaranje ukupnih proteina (Gupta i sar., 1993). Određivanje važnih svojstava kao što su molekulska masa i raspodela molekulskih masa zahteva proteine u rastvoru što obično nije moguće, bar za teško rastvorljivu frakciju proteina pšenice- gluten (Macritchie, 1992). Za nepotpunu rastvorljivost frakcija glutena odgovorno je prvenstveno postojanje malog broja jonizacionih amino kiselina na bočnim lancima, kao

i preklapanje u pogledu rastvorljivosti pojedinih frakcija glutena (DuPont i sar., 2005). Iako je na ovom polju postignut izvestan napredak, ipak deo visikomolekularnih glutenina ostaje nerastvoren.

Upotreba različitih pristupa evaluacije doprinosa pojedinih gradivnih komponenti pšenice njenom tehnološkom kvalitetu doprinosi, u izvesnoj meri prevazilaženju pomenutih problema. Najčešće korišćen metod podrazumeva ispitivanje velikog broja sorti i testiranje korelacija između određenih funkcionalnih osobina pšeničnog brašna (npr. rastegljivosti testa) sa različitim jedinicama mere sastava proteina (npr. prisustvo specifičnih elektroforetskih opsega) (Sadouki i sar., 2006, Zhang i sar., 2007, Stojceska i Butler, 2012). Studije o korelacijama određenih proteina pšenice sa kvalitetom brašna su od potencijalne važnosti za selekcionare, jer je obezbeđena jednostavna detekcija proteina, tehnikama kao što je elektroforeza. Međutim, mora se imati u vidu da objašnjavanje funkcionalnosti u smislu kvalitativih razlika u sastavu proteina nije dovoljno.

Drugi pristup je direktniji i podrazumeva frakcionisanje pojedinih konstituenata brašna, njihovo mešanje u određenim odnosima i dobijanje tzv. rekonstituisanog brašna, ili dodavanje u različitim količinama izdvojenih frakcija nativnom brašnu ili razmenu ekvivalentne količine određene proteinske frakcije između brašna različitog kvaliteta (Uthayakumaran i Lukow, 2003; Li i sar., 2008).

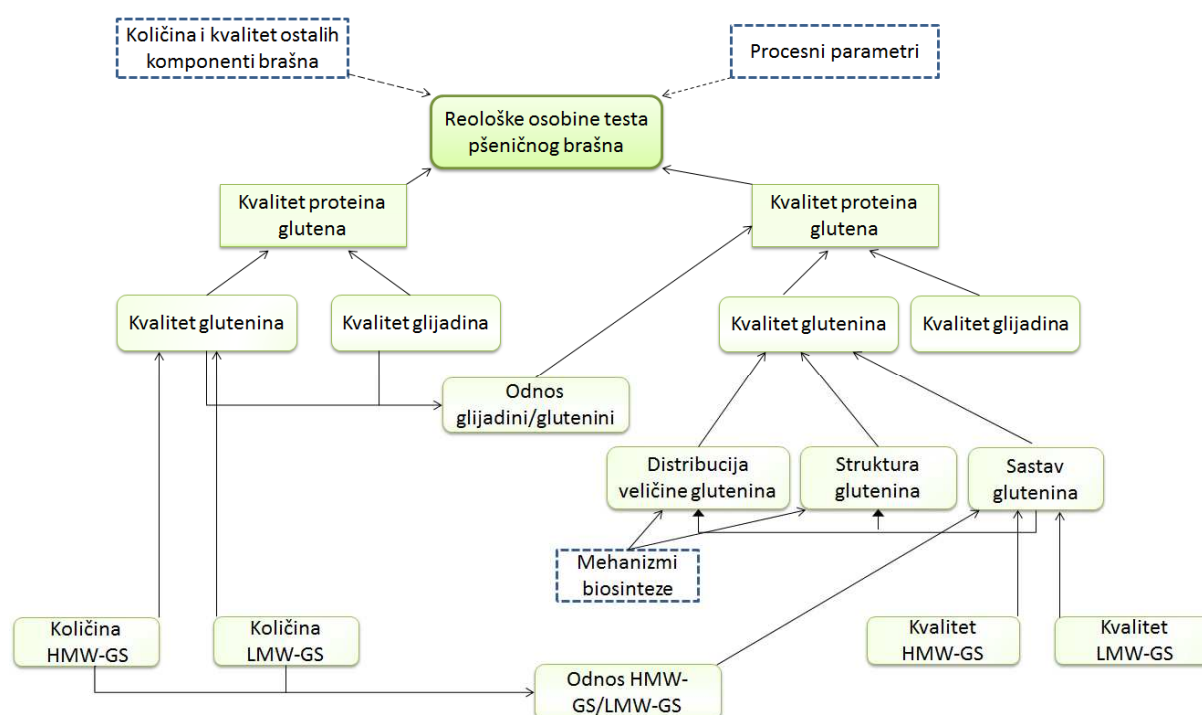
Međutim, u rekonstituisanom brašnu, funkcionalne osobine nativnog brašna ne mogu biti obnovljene u potpunosti. Primećeno je da rekonstitucijom dolazi do značajnih promena u reološkim svojstvima testa, kao i neznatnog narušavanja kvaliteta gotovog brašna. Hleb dobijen od rekonstituisanog brašna pokazuje izvesne razlike u odnosu na hleb od nativnog brašna. Takav hleb ima koru tamnije boje, pa se pretpostavlja da veći stepen Maillard-ovih reakcija proističe iz degradacije skroba i proteina, postupkom frakcionisanja i povećanja broja slobodnih aminokiselina i redukujućih šećera (Graßberger i sar., 2003).

## 2.3 Uticaj proteina na kvalitet pšenice

### 2.3.1 Uticaj glijadina i glutenina na tehnološki kvalitet pšenice

Obzirom da su jedinstvene osobine testa pšeničnog brašna u tesnoj vezi sa proteinima glutena, od mnogobrojnih istraživanja iz oblasti hemije žita, najveći deo je usmeren upravo ka definisanju odnosa pojedinih frakcija glutena prema tehnološkom kvalitetu pšenice. Na osnovu statističke analize izvedene od strane Gupta i sar. (1994), proteini glutena su odgovorni za oko 72% varijacija u pecivnom kvalitetu pšenice, dok su preostale varijacije u vezi sa određenim rastvorljivim proteinima (neglutenski proteini), lipidima, skrobom i neskrbnim polisaharidima.

Na kompleksnost sastava proteina glutena ukazuje i činjenica da je sastav ovih proteina ispitivan na različitim nivoima (Slika 2.1). Pod tim se podrazumeva ispitivanje uticaja sadržaja proteina, odnosa polimernih i monomernih proteina, odnosa HMW i LMW gluteninskih podjedinica, kao i udela x- i y-tipa HMW gluteninskih podjedinica na kvalitativne pokazatelje pšeničnog brašna (Békés, 2012).



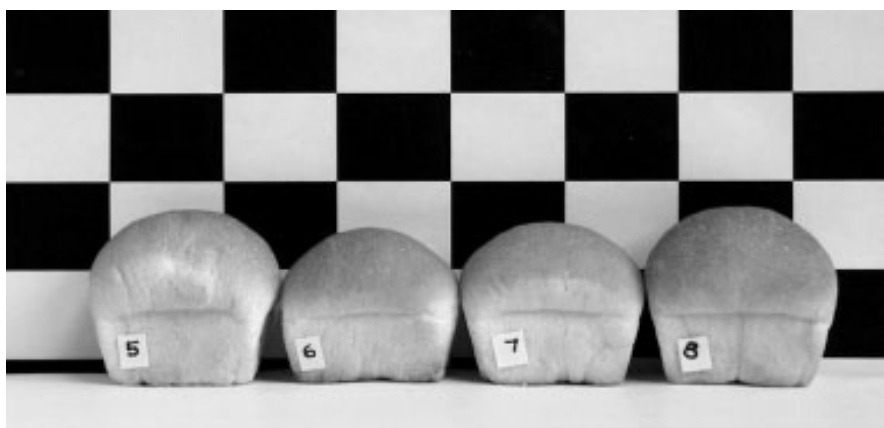
**Slika 2.1.** Faktori koji utiču na reološke osobine testa pšeničnog brašna (Preuzeto i preuređeno od Veraverbeke i Delcour, 2002)

Dodatak različitih frakcija glutena standardnom brašnu utiče na reološke karakteristike odgovarajućeg testa na različit način i u različitoj meri. Kako polimeri glutenina

uglavnom doprinose elastičnosti testa, a glijadini viskozitetu i rastegljivosti testa, tako se i odnos polimernih i monomernih proteina može dovesti u vezu sa snagom i rastegljivošću testa. Nedovoljna elastičnost glutena ima za posledicu dobijanje hleba male zapremine. Povećanje elastičnosti glutena dovodi do povećanja zapremine, ali suviše elastičan gluten otežava ekspanziju ćelija gasa, što se opet negativno odražava na zapreminu hleba (Veraverbeke i Delcour, 2002).

Kako su osobine testa pšeničnog brašna zavisne od sadržaja proteina, odnose glijadina i glutenina je najbolje porediti između brašna kod kojih je sadržaj proteina na približno istom nivou. Međutim, potrebno je imati u vidu i njihov sastav jer pri istom odnosu GLI/GLU, bilans HMW- i LMW gluteninskih podjedinica u polimernoj frakciji može značajno da izmeni snagu i rastegljivost testa. Kao rezultat smanjenja odnosa HMW i LMW gluteninskih podjedinica dolazi do smanjenja snage i povećanja rastegljivosti testa (Békés, 2012).

Utvrđeno je da se vreme zamesa, otpor testa i zapremina hleba povećavaju sa povećanjem sadržaja proteina (Slika 2.2) (Uthayakumaran i sar. 1999; Unbehend i sar., 2003; Li i sar., 2008). Mnogi naučnici ističu značaj HMW gluteninskih jedinica za pecivni kvalitet pšenice. Količina HMW glutenina je u uskoj vezi sa razvojem testa, otporom testa i zapreminom hleba (Wieser i Zimmermann, 2000).



**Slika 2.2.** Uticaj sadržaja proteina na zapreminu hleba; 5- kontrolni uzorak sa 15,7% proteina, 6- rekonstituisani uzorak sa 11,2% proteina, 7- rekonstituisani uzorak sa 12,8% proteina, 8- rekonstituisani uzorak sa 15,7% proteina (preuzeto iz Uthayakumaran i sar., 1999)

Pored brojnih studija o ispitivanju glijadina i njihovog dovođenja u vezu sa reološkim karakteristikama testa i zapreminom hleba, postoje različita tumačenja, što ukazuje na kompleksnost biohemijskih promena u brašnu tokom zamesa i pečenja. Imajući u vidu da su LMW podjedinice glutenina tesno povezane sa glijadinima, teško je izvoditi zaključke o njihovom uticaju ponaosob (Gianbelli i sar., 2001). Naime, objavljene su negativne, pozitivne i/ili nepostojanje korelacija između različitih kvalitativnih pokazatelja pšeničnog brašna i glijadina ili njegovih podjedinica. Gianbelli i sar. (2001) sugerišu da je njihov uticaj na snagu testa neznan, dok neki autori ističu negativan

uticaj glijadina na razvoj testa i zapreminu hleba. Sadržaj glijadina kao i veći odnos glijadina i glutenina je u negativnoj korelaciji sa snagom testa i zapreminom hleba (MacRitchie, 1987; MacRitchie i Lafiandra, 2001; Wieser i Kieffer, 2001). Utvrđen je uticaj različitih glijadinskih frakcija na zapreminu hleba.  $\gamma$ -glijadini, određeni pomoću tačne hromatografije visokih performansi na obrnutim fazama, pokazali su pozitivan uticaj na zapreminu hleba, sa korelacionim koeficijentima u opsegu od 0,93 do 0,99, zavisno od ispitivanih sorti (Huebner i sar., 1997). Khatkar i sar. (2002) su objavili da dodatak ukupnih glijadina i njegovih podjedinica značajno poboljšava zapreminu hleba. Dodatak  $\omega$ -glijadina u manjoj meri doprinosi povećanju zapremine.

Viši sadržaj nerastvorljivih polimernih proteina povećava snagu testa (Singh i sar., 2011; Singh i sar. 2013) i poboljšava kvalitet gotovog proizvoda (Pirozi i sar., 2008).

Antes i Wieser (2001) su ispitali uticaj dodatka HMW, LMW glutenina i glijadina u različitom hemijskom (redukovanom ili reoksidovanom) stanju osnovnom brašnu na reološke karakteristike testa i zapreminu hleba. U reoksidovanom obliku HMW i LMW povećavaju otpornost testa, dok dodatak glijadina i LMW glutenina u redukovanom obliku ima suprotan efekat. Što se tiče uticaja na zapreminu hleba, takođe je od značaja u kom se hemijskom stanju pojedine frakcije nalaze. Dodatak HMW jedinica bez obzira na hemijski oblik, pozitivno deluje na zapreminu hleba, dok dodatak LMW podjedinica ili dodatak i HMW i LMW podjedinica, u reoksidovanom obliku ispoljava negativan uticaj na isti kvalitativni pokazatelj.

### ***2.3.2 Uticaj albumina i globulina na tehnološki kvalitet pšenice***

Nasuprot proteinima glutena, neglutenski proteini su veoma malo izučavani i postoji nekoliko studija o njihovoj povezanosti sa kvalitativnim karakteristikama pšeničnog brašna, testa i hleba (Preston i sar., 1992; Dvořáček i Čurn, 2003; Gralik i Warchalewski, 2006; Fustier i sar., 2009). Ispitivanja ove grupe proteina u smislu utvrđivanja njihovog uticaja na pecivni kvalitet brašna datiraju još od 50-tih godina prošlog veka (Pence i sar., 1953).

Iako nije utvrđena direktna povezanost ove grupe proteina sa funkcionalnim osobinama brašna, Hosney i sar. (1969) smatraju da je njihovo prisustvo neophodno za dobijanje hleba optimalne zapremine. Oni su metodom rekonstituisanja brašna ispitali uticaj u vodi rastvorljivih proteina na pecivne karakteristike brašna različitog kvaliteta. Pored ukupnih komponenti rastvorljivih u vodi, ispitivane su i frakcije albumina, globulina i glikoproteina zasebno. Dodatak vodorastvorljivih komponenti rekonstituisanom brašnu omogućava dobijanje optimalne zapremine hleba, dok njihovo izuzimanje iz rekonstituisanog brašna dovodi do smanjenja zapremine za čak 38%. Takođe, njihov dodatak u duplo većoj količini od normalno prisutne, ne utiče značajno na promenu zapremine hleba. Utvrdili su da je uloga vodorastvorljivih komponenti u pečenju hleba dvostruka: doprinose produkciji gasa, što se naravno može nadomestiti odgovarajućim

kvascem i frakcija koja sadrži uglavnom pentozane i glikoproteine, doprinosi zadržavanju gasa ili rastegljivosti glutena.

Weegels i sar. (1995) su ustanovili da i pored toga što LMW neglutenski proteini imaju nekonzistentan efekat na zapreminu hleba, poseduju značajan uticaj na biohemijske i reološke osobine testa. Kod sorti sa jakim glutenom, taj uticaj se manifestuje tako da dodatak niskomolekularnih neglutenskih proteina povećava zapreminu hleba, dok kod sorti sa slabijim glutenom, taj uticaj nije izražen ili je negativan na isti pokazatelj kvaliteta. U kasnijim istraživanjima ispitivali su njihov uticaj na gluteninski makropolimer, koji je od izuzetnog značaja za fizičke karakteristike testa i kvalitativnog pokazatelja hleba- zapreminu. Dodatak LMW neglutenskih proteina nije uticao na količinu formiranog makropolimera tokom mešanja, ali jeste na njegov sastav, smanjujući udeo HMW podjedinica glutenina u makropolimeru (Weegels i sar., 1997).

Sa tehnološkog aspekta značaj ovih proteina u kvalitetu brašna je i dalje nejasan, iako ispitivanja nekih specifičnih neprolaminskih proteina ukazuju na moguć doprinos kvalitetu pšeničnog brašna. U radu Osipova i sar. (2012) dat je pregled dosadašnjih istraživanja, baziranih na ispitivanju uticaja neglutenskih proteina i niskomolekularnih komponenti, na polimerizaciju rezervnih proteina i na viskoelastične osobine glutena i teksturu pšeničnog zrna. Različiti enzimski sistemi i redoks agensi malih molekulskih masa su u vezi sa polimerizacijom prolamina, pri sazrevanju pšenice i formiranjem kvaliteta gotovog proizvoda. Među albuminima i globulinima identifikovani su i proteini uključeni u formiranje polimera (22%) i proteini koji imaju odbrambenu ulogu (28%). Sinteza ovih proteina se povećava u ranoj fazi zrenja i tokom sazrevanja zrna pri visokim temperaturama. Na taj način, uticaj klimatskih faktora na pecivni kvalitet pšenice se ogleda kroz destabilizaciju enzima koji pripadaju neglutenskoj klasi pšeničnih proteina koji regulišu formiranje polimera, redoks reakcije, kao i skrob-lipid i lipid- protein interakcije (Osipova i sar., 2012).

Horvat i sar. (2007) su ispitivali uticaj albumina i globulina, kvantifikovani HPLC tehnikom, na pecivni kvalitet pšenice. Istraživanja ukazuju na značajnu negativnu korelaciju između neglutenskih proteina-albumina i globulina i sedimentacione vrednosti, gluten indeksa, stabilnosti, energije testa, otpora i odnosa otpora i rastegljivosti. S druge strane, Unbehend i sar. (2003) su ispitivali uticaj sastava proteina pšenice na zapreminu hleba i utvrdili da sadržaj albumina i globulina nije pokazao značajan uticaj na zapreminu hleba.

O uticaju pojedinih proteinskih frakcija pšeničnog brašna postoje brojna istraživanja, međutim, ispitivanja uticaja neglutenskih proteina na reološka svojstva testa pšeničnog brašna i gotov proizvoda su veoma oskudna. Zanimljivo je napomenuti da postoje radovi o ovim ispitivanjima ali u kojima gotov proizvod nije klasičan hleb. Prabhasankar (2002), u radu koji se odnosio na karakterizaciju biohemijskih pokazatelja kvaliteta indijskih sorti pšenice i njihovom uticaju na kvalitet tradicionalnog indijskog proizvoda na bazi pšeničnog brašna tzv. chapati, je objavio zavisnost sadržaja neglutenskih proteina od ispitivanih sorti. U korelacionoj studiji između različitih proteinskih frakcija

i određenih kvalitativnih pokazatelja chapati proizvoda, nisu pronađene značajne korelacije između neglutenskih proteina i kvalitativnih pokazatelja. Ispitujući korelativne odnose između proteinskog sastava pšeničnog brašna i proizvoda na bazi glutena, Chiang i sar. (2006) su ustanovili da sve proteinske frakcije, uključujući i neglutenske proteine, imaju značajan uticaj na kvalitet ovog proizvoda. Naime, rezultati sugerišu da brašna sa višim sadržajem HMW glutenina,  $\omega$ -glijadina (grupa II-proteini), i albumin/globulin proteina daju proizvod boljeg kvaliteta.

## **2.4 Enzimi pšeničnog brašna**

Pšenično brašno sadrži brojne enzime koji značajno utiču na njegovu tehnološku vrednost. U enzime pšeničnog brašna između ostalih spadaju: amilaze, proteinaze, lipaze, lipoksigenaze, polifenol oksidaze i peroksidaze. Hidrolaze imaju ključnu ulogu u formiranju tehnološkog kvaliteta brašna. U ovu grupu spadaju: proteinaze koje degradiraju proteine na polipeptide i peptide, amilaze koje hidrolizuju skrob i lipaze koje odvajaju više masne kiseline iz triacilglicerola. Uprkos činjenici da ovi enzimi za vreme pravilnog skladištenja zrna i brašna pšenice, ostaju neaktivni ili u slučaju lipaza, aktivni samo u ograničenom stepenu, u prisustvu vode oni katalizuju specifične reakcije i na taj način direktno utiču na funkcionalne osobine brašna (Rani i sar., 2001, Dojczew i sar., 2007).

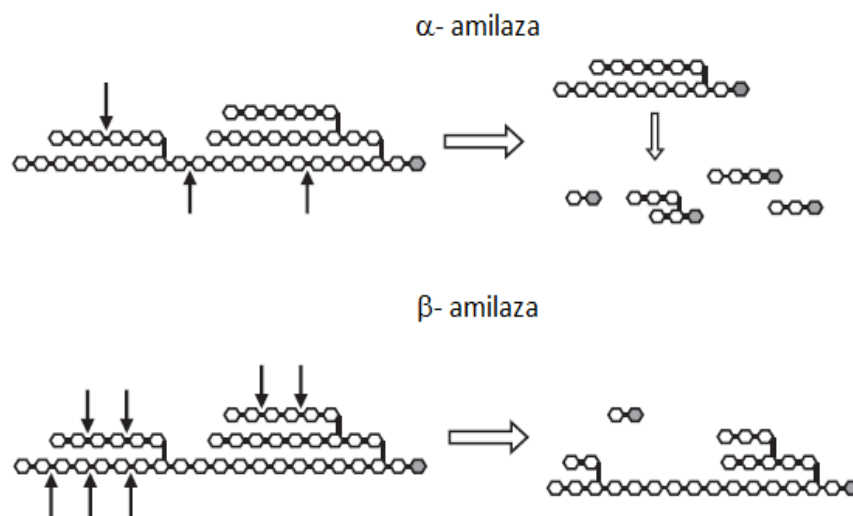
### **2.4.1 Amilaze pšeničnog prašna**

Amilaze hidrolizuju glikozidne veze u polisaharidima. Amilaze su normalno prisutne u pšenici i pšeničnom brašnu ali nisu aktivne sve do momenta dodatka vode tj. postaju aktivne tek prilikom pripremanja konačnog proizvoda a deaktiviraju se tokom pečenja. Na osnovu strukturnih sličnosti, kao i sličnosti aminokiselinskih sekvenci, različiti amilolitički enzimi sposobni da hidrolizuju  $\alpha$ -1,4- i/ili  $\alpha$ -1,6-veze u skrobu pripadaju familiji glukozid hidrolaza 13 (tzv. familiji  $\alpha$ -amilaza) (Goesaert i sar., 2005).

$\alpha$ -amilaza spada u endoamilaze i cepa  $\alpha$ -1,4 glikozidnu vezu na bilo kom mestu u molekulu skroba, a produkti reakcije su oligosaharidi različite dužine–dekstrini i maltoza (Goesaert i sar., 2009b).  $\alpha$ -amilaze su proteini malih molekulskih masa od 20-55 kDa. Ako se raskine samo 0,5% ukupnih glikozidnih veza, dolazi do potpune likvefakcije (otečnjavanja) skroba– skrob gubi sposobnost stvaranja skrobnog gela.

$\beta$ -amilaze spadaju u egzoamilaze i cepaju  $\alpha$ -1,4 glikozidne veze, odvajajući molekul maltoze sa neredukujućeg kraja lanca.  $\beta$ -amilaze ne hidrolizuju  $\alpha$ -1,6 glikozidne veze i njihova aktivnost prestaje na mestu grananja (Slika 2.3). Kao produkti hidrolize nastaju  $\beta$ -maltoza i dekstrini. Mehanizam njihovog dejstva nije u potpunosti poznat (Goesaert i sar., 2005).





**Slika 2.3.** Shematski prikaz delovanja različitih amilolitičkih enzima na polimer skroba (amilopektin) (Goesaert i sar., 2009b)

U pšeničnom brašnu  $\alpha$ -amilaze su prisutne u veoma malim količinama, za razliku od  $\beta$ -amilaza čija aktivnost je izuzetno niska na neoštećenim, nativnim skrobnim granulama i inaktiviraju se pre želatinizacije skroba (Goesaert i sar., 2009b).

Tokom mlevenja, mali ali značajni deo skrobnih granula u pšeničnom brašnu biva oštećen. Za razliku od neoštećenog skroba, oštećene granule su podložnije dejstvu  $\alpha$ -amilaza. Step en oštećenja zavisi od uslova mlevenja i tvrdoće zrna. Oštećeni skrob doprinosi povećanju apsorpcije vode a uticaj na hleb se manifestuje kroz formiranje pora sredine hleba lošijih karakteristika, lepljivošću sredine i jačom obojenosti kore hleba (Autran, 1993; Békés, 2012).

Kako je u pšeničnom brašnu često poželjna izvesna amilolitička aktivnost, optimizacija fizičkih osobina testa se obavlja dodatkom bakterijske ili fungalne amilaze ili dodatkom slada. Amilaze se rutinski koriste u pekarstvu za standardizaciju brašna i kao sredstvo za usporavanje procesa starenja (Goesaert i sar., 2006; Goesaert i sar., 2009a). Degradacija oštećenih granula skroba  $\alpha$ -amilazom tokom mešenja testa, omogućava stvaranje niskomolekularnih dekstrina, što olakšava nastajanje maltoze kao proizvoda aktivnosti  $\beta$ -amilaze. Na taj način se dodatkom amilaza pospešuje obrazovanje fermentabilnih šećera, u cilju ubrzanja fermentacije i proizvoda Maillard-ovih reakcija, koji intenziviraju aromu hleba i boju kore. Međutim, aktivnost amilaza može se povezati sa smanjenjem viskoziteta testa tokom želatinizacije skroba, što ima za posledicu produžavanje vremena pečenja i povećanje zapremine hleba (Goesaert i sar., 2005; Goesaert i sar., 2009a).

Povećan sadržaj  $\alpha$ -amilaza se javlja prilikom klijanja zrna pšenice. Tokom klijanja semena dolazi do razgradnje skroba kao rezultat dejstva hidrolitičkih enzima.  $\alpha$ -amilaza ima ključnu ulogu tokom degradacije skroba, ali samo zajedničkim dejstvom  $\alpha$ -amilaza,  $\beta$ -amilaza, izoamilaza i glukoamilaza skrob može biti u potpunosti hidrolizovan (Cuglielminetti i sar., 1995).

Amilolitička aktivnost je pod snažnim uticajem klimatskih uslova. Usled obilnih padavina, neposredno pred žetvu zrno pšenice može početi klijati u klasu, pri čemu dolazi do značajnog povećanja  $\alpha$ -amilazne aktivnosti. Povećanje amilolitičke aktivnosti u iskljaljoj pšenici je praćeno i povećanjem sadržaja proteolitičkih enzima (Simsek i sar., 2014). Velika aktivnost  $\alpha$ -amilaze u brašnu dobijenom iz proklijale pšenice, smanjuje moć upijanja vode u testu i doprinosi lepljivosti testa, što otežava njegovu obradu. Hleb dobijen od brašna sa povećanom amilolitičkom aktivnošću ima lepljivu i vlažnu sredinu (Kruger i Tkachuk, 1969; Singh Gujral i sar., 2003). Ipak, genetske razlike između sorti pšenice uslovljavaju i različit sadržaj amilolitičkih enzima (Csiszár i sar., 2010). Tako neke sorte sintetišu amilolitičke enzime u kasnoj fazi sazrevanja zrna pšenice, čak i u nedostatku padavina ili klijanja zrna (Hidalgo i sar., 2013). Neki naučnici smatraju da povećana amilolitička aktivnost može biti posledica oštećenja pšeničnih zrna napadom žitnih stenica, dok drugi autori nisu ustanovili promene amilolitičke aktivnosti kao posledice tih oštećenja pšenice (Rosell i sar., 2002).

#### **2.4.2 Proteolitički enzimi pšeničnog brašna**

Proteaze, takođe nazivane peptidazama ili proteinazama, predstavljaju veliku kategoriju enzima koji katalizuju hidrolizu peptidnih veza. Proteaze koje raskidaju peptidne veze na N ili C kraju polipeptidnog lanca se nazivaju egzoproteazama, dok one koje katalizuju hidrolizu peptidnih veza unutar polipeptidnog lanca, klasifikovane su kao endopeptidaze (Hsiao i sar., 2014).

Klasifikacija proteinaza je izvedena na osnovu aminokiselina na njihovom aktivnom mestu, trodimenzionalne strukture, mehanizma dejstva, kao i na osnovu njihove osetljivosti prema određenim inhibitorima. Glavne podgrupe proteaza uključuju serin-, cistein-, aspartat- i metalo- proteaze (Mutlu i Gal, 1999).

Pšenično zrno sadrži brojne proteolitičke enzime koji se nalaze u različitim anatomskim delovima zrna i nivo njihove aktivnosti zavisi pre svega od fiziološkog statusa zrna. Proteaze se uglavnom nalaze u endospermu, klici i aleuronskom sloju. Utvrđeno je da tokom rasta i sazrevanja pšenice, postoje proteolitički enzimi u spoljašnjim slojevima zrna koji razgrađuju azokazein i hemoglobin. Nivo tih enzima se povećava približno 24 dana nakon cvetanja i onda naglo opada. U endospermu s druge strane, postoje hemoglobin degradirajući proteolitički enzimi, čija se aktivnost povećava tokom rasta i sazrevanja. Ovo povećanje nije primećeno kod proteolitičkih enzima koji razgrađuju azokazein, što ukazuje na činjenicu da proteolitički enzimi u različitim tkivima imaju

različite specifičnosti. Nakon klijanja pšenice, nivo enzima koji razlažu hemoglobin se povećava približno dva do tri puta posle 3 dana klijanja, dok aktivnost enzima koji razlažu azokazein kao supstrat se povećava četiri do šest puta. Ispitivanjem distribucije karboksipeptidaza u različitim anatomskim delovima zrna tokom njegovog rasta i sazrevanja utvrđeno je da je aktivnost ovih enzima uglavnom skoncentrisana u perikarpu i tkivu endosperma (Kruger i Preston, 1977).

Iako se generalno pretpostavlja da tokom razvoja žitarice ne sadrže aktivne enzime, dok zrela zrna sadrže proteaze, nekoliko izveštaja sugeriše da u nekoj fazi razvoja dolazi do sintetisanja proteaza. Tokom razvoja zrna pšenice uočen je različit vremenski obrazac pojavljivanja različitih endoproteaza. Neposredno posle cvetanja, zrno sadrži gotovo isključivo samo serin proteaze. U prelaznim fazama, kada se sadržaj serin proteaza smanjuje, sadržaj aspartatne proteaze se povećava i kratkotrajno se pojavljuje veoma mala količina tiol proteaza. Aspartat proteaze i metalo-proteaze su zastupljene u značajnoj količini u kasnijim fazama razvoja. U prelaznim fazama razvoja (15-20 dpa, *days post-anthesis*- dana nakon cvetanja), najviše endoproteaza je lokalizovano u aleuronskom sloju i embrionu. Ove četiri klase endoproteaza su detektovane i u fazi klijanja (Dominguez & Cejudo, 1996).

Hidroliza skladišnih proteina endosperma tokom klijanja pšenice, povezana je sa povećanjem opšteg nivoa proteolitičke aktivnosti (Ichinose i sar., 2001; Michalcová i sar., 2012). Takođe, zabeleženo je značajno omekšavanje glutena kao posledica delovanja proteolitičkih enzima u iskljaloj pšenici. Brojne studije su potvrdile povećanje proteolitičke aktivnosti nakon perioda klijanja pšenice. Ovaj porast prati smanjenje proteina velikih molekulskih masa i istovremeno povećanje sadržaja slobodnih amino grupa. U pšeničnom brašnu je utvrđeno postojanje egzoproteaza i endoproteaza. Egzoproteolitička aktivnost, koja potiče od nespecifičnih karboksipeptidaza, pronađena je u visokom nivou u endospermu zrele i neisklijale pšenice, dok značajan nivo endoproteolitičke aktivnosti je pronađen u zelenom sloju i aleuronskom tkivu zrele pšenice. Ispitivanjem promene u aktivnosti endoproteaza i egzoproteaza, rastvorljivih frakcija proteina endosperma, aminokiselina i peptida tokom klijanja durum i hlebne pšenice primećeno je značajno povećanje aktivnosti endoproteaza i manje promene aktivnosti egzoproteaza u slučaju hlebne pšenice (Preston i sar., 1978). Poređenjem proteolitičke aktivnosti i rastvorljivosti frakcija proteina endosperma, utvrđeno je da je povećanje aktivnosti endoproteaza tokom klijanja neophodno za obimniju hidrolizu skladišnih proteina. Male promene u sadržaju peptida, ukazuju da su u neisklijaloj pšenici prisutne dovoljne količine egzoproteaza, koje hidrolizuju peptide nastale povećanim dejstvom endoproteaza.

Nivo aktivnosti različitih enzima se razlikuje po pojedinim mlinskim frakcijama pšenice i odatle potiču i razlike u njihovim funkcionalnim osobinama. Različit nivo aktivnosti su utvrdili Rani i sar. (2001), koji su ispitali distribuciju funkcionalno važnih enzima u pojedinim mlinskim frakcijama pšenice. Dojczew i sar. (2007) su takođe utvrdili različit nivo proteolitičke aktivnosti u različitim mlinskim frakcijama kod iskljale pšenice, pri

čemu je predžetveno klijanje zrna imalo za posledicu povećanje ukupne proteolitičke aktivnosti u svim ispitivanim frakcijama.

Pripisujući neglutenskim proteinima enzimski karakter, Strelec i sar. (2007) su ispitivali sadržaj rastvorljivih proteina, kao i aktivnost oksidoreduktivnih i proteolitičkih enzima tri sorte pšenice različitog sadržaja ukupnih proteina. Ustanovili su da ukupan sadržaj proteina pšenice utiče na količinu ekstrahovanih proteina. Količina ekstrahovanih proteina bila je niža kod pšenice sa nižim sadržajem ukupnih proteina. Takođe, različiti enzimi su pokazali različitu zavisnost od sadržaja ukupnih proteina. Razlike u ukupnom sadržaju proteina ispitivanih sorti pšenice, nisu imale uticaj na aktivnost glutation reduktaze, katalaze, peroksidaze i aspartatne proteaze. Aktivnost arginin i l-fenilalanilaminopeptidaze (Arg-AP, Phe-AP) je proporcionalno niža kod pšenice sa nižim sadržajem ukupnih proteina.

Proteolitički enzimi pšenice i njihov uticaj na kvalitet testa brašna pšenice, usled promena proteina glutena, predmet je značajnog istraživanja i kontroverzi. Zastupljeno je opšte verovanje da je proteolitička aktivnost u zdravoj pšenici veoma niska i kao takva, ima mali značaj u promeni pecivnog potencijala brašna pšenice.

S druge strane, povećana proteolitička aktivnost u uzorcima iskljale pšenice dovodi do smanjenja količine glutena, narušavanja njegovih fizičkih karakteristika, kao i do nepovoljnog uticaja na reološke osobine testa, kao što su smanjenje kapaciteta zadržavanja vode brašna, kraći razvoj testa, smanjenje stabiliteta i povećanje stepena omekšanja (Dojczew i sar., 2007).

Visoka aktivnost proteaza u širokom opsegu pH (4,5-8,5) i temperature (10 °C-100 °C), tokom mešenja i fermentacije testa, doprinosi degradaciji skladištnih proteina pšenice, posebno degradaciji proteina endosperma (Wang i sar., 2005). Hidrolizom pšeničnog glutena dobija se smeša peptida visoke rastvorljivosti i izmenjenih osobina emulgovanja, u zavisnosti od stepena hidrolize.

Povećana aktivnost proteaza praćena je promenama, ne samo u primarnoj strukturi već i u sekundarnoj strukturi proteina glutena. Delimična hidroliza proteina glutena može dovesti do razrušavanja pojedinih veza, odgovornih za stabilizaciju njihove konformacije i eliminisanja beta konformacije proteina, koja prema Shewry i sar. [2001] i Gianibelli i sar. [2001] je uglavnom odgovorna za funkcionalna svojstva proteina glutena.

Galleschi i sar. (2002) i Calucci i sar. (2004) su ispitivali promene određenih biohemijских pokazatelja kvaliteta, između ostalog i proteolitičke aktivnosti, tokom perioda ubrzanog starenja zrna pšenice, uz kontrolisano narušavanje kvaliteta semena pšenice u cilju predviđanja njegovog potencijala za skladištenje. Ovim postupkom koji podrazumeva korišćenje visoke temperature od 40 °C i relativne vlažnosti od 100%, utvrđena je redukcija rastvorljivih proteina, kao i degradacija glutenina i glijadina povezanih sa značajnim povećanjem proteolitičke aktivnosti i smanjenjem fleksibilnosti glutena.

Bleukx i sar. (1998) u višegodišnjim ispitivanjima su utvrdili da su proteolitički enzimi povezani sa pšeničnim glutenom. Ispitali su specifičnost aspartatne proteaze pšeničnog glutena i utvrdili da pri pH 3, ovi enzimi pokazuju maksimalnu aktivnost prema HMW gluteninskim podjedinicama, a u manjoj meri hidrolizuju LMW glutenine i glijadine. Takođe, ovi enzimi nisu ispoljili uticaj prema albuminima i globulinima (Bleukx i sar., 1998). Pronađena je zavisnost između stepena raskidanja peptidnih veza tokom inkubacije ručno ispranog glutena i stepena omekšanja glutena, uzrokovanog aktivnošću nativnih proteaza pšenice. Takođe, zabeleženo je povećanje rastegljivosti glutena sa povećanjem vremena njegove inkubacije i potpuno drugačije farinogramske karakteristike glutena inkubiranog 3 h pri pH 4,5, od neinkubiranog. Skrob gel elektroforetska tehnika je pokazala da je većina aktivnih proteaza pšenice povezana sa glutenom i takođe potvrdila autodigestiju proteina pšenice. Analiza aminokiselina oslobođenih kao rezultat autodigestije, pokazuje da enzimi koji hidrolizuju gluten imaju visoku specifičnost za peptidnim vezama u blizini lizina, leucina, fenilalanina, tirozina, arginina i verovatno triptofana, ali veoma nisku specifičnost za peptidnim vezama u blizini glicina, prolina, glutamina i glutaminske kiseline (Bleukx i sar., 1998).

Veliki broj studija u vezi proteolitičke aktivnosti, usmeren je ka ispitivanju mogućnosti primene određenih komercijalnih enzima u svrhu poboljšanja određenih kvalitativnih karakteristika gotovog proizvoda (Kong i sar., 2007; Hasanov i sar., 2010). Pored unapređivanja funkcionalnih svojstava hidrolizata proteina, proteaze se koriste za proizvodnju niskomolekularnih peptida. Ovi peptidi se direktno apsorbuju bez prethodne digestije i imaju niske alergijske efekte, što objašnjava njihovu primenu u mnogim formulacijama, kao što su hrana za odojčad i za posebne kategorije potrošača (Kong i sar., 2007). Takođe, brojna su istraživanja koja se bave ispitivanjem nivoa proteolitičke aktivnosti oštećene pšenice (Aja i sar., 2004; Pèrez i sar., 2005; Brzozowski i sar., 2008).

Zbog značajnog uticaja enzima na kvalitet pekarskih proizvoda, kao i na kvalitet testenina, evidentno je da enzimi predstavljaju kvalitativni pokazatelj i da njihovo određivanje u pšenici može biti korisno u klasifikaciji pšenice i pšeničnog brašna, kada se određeni zahtevi za kvalitet finalnog proizvoda koriste kao dodatni kriterijumi za klasifikaciju (Strelec i sar., 2007).

## ***2.5 Slobodne sulfhidrilne grupe i njihov uticaj na tehnološki kvalitet pšenice***

Slobodne sulfhidrilne grupe i disulfidne veze imaju važnu ulogu u definisanju kvaliteta glutena. Fizičko-hemijske i funkcionalne osobine pšeničnih proteina su uslovljene disulfidnim unakrsnim povezivanjem, koje za posledicu ima formiranje proteinske mreže testa. Pored disulfidnih veza, i druge nekovalentne veze kao što su vodonične, jonske veze i hidrofobne interakcije, takođe doprinose svojstvima testa (Aminlari i Majzoobi, 2002).

Gluteninske podjedinice formiraju intra- i intermolekularne disulfidne veze, dok je za glijadine karakteristično intermolekularno uspostavljanje disulfidnih veza, te otuda i manje molekulske mase ovih proteina (Pèrez i sar., 2005). Iako su disulfidne veze prisutne kod obe glutenске frakcije, smatra se da samo intra i intermolekularne disulfidne veze glutenina, koje omogućavaju asocijaciju gluteninskih makropolimera, određuju sekundarne funkcije i strukturu glutena (Pèrez i sar., 2005). Struktura nastale glutenске mreže je uslovljena brojem prisutnih raspoloživih sulfhidrilnih grupa, tako da broj nastalih inter- i intramolekularnih disulfidnih veza uslovljava i različite osobine glutena.

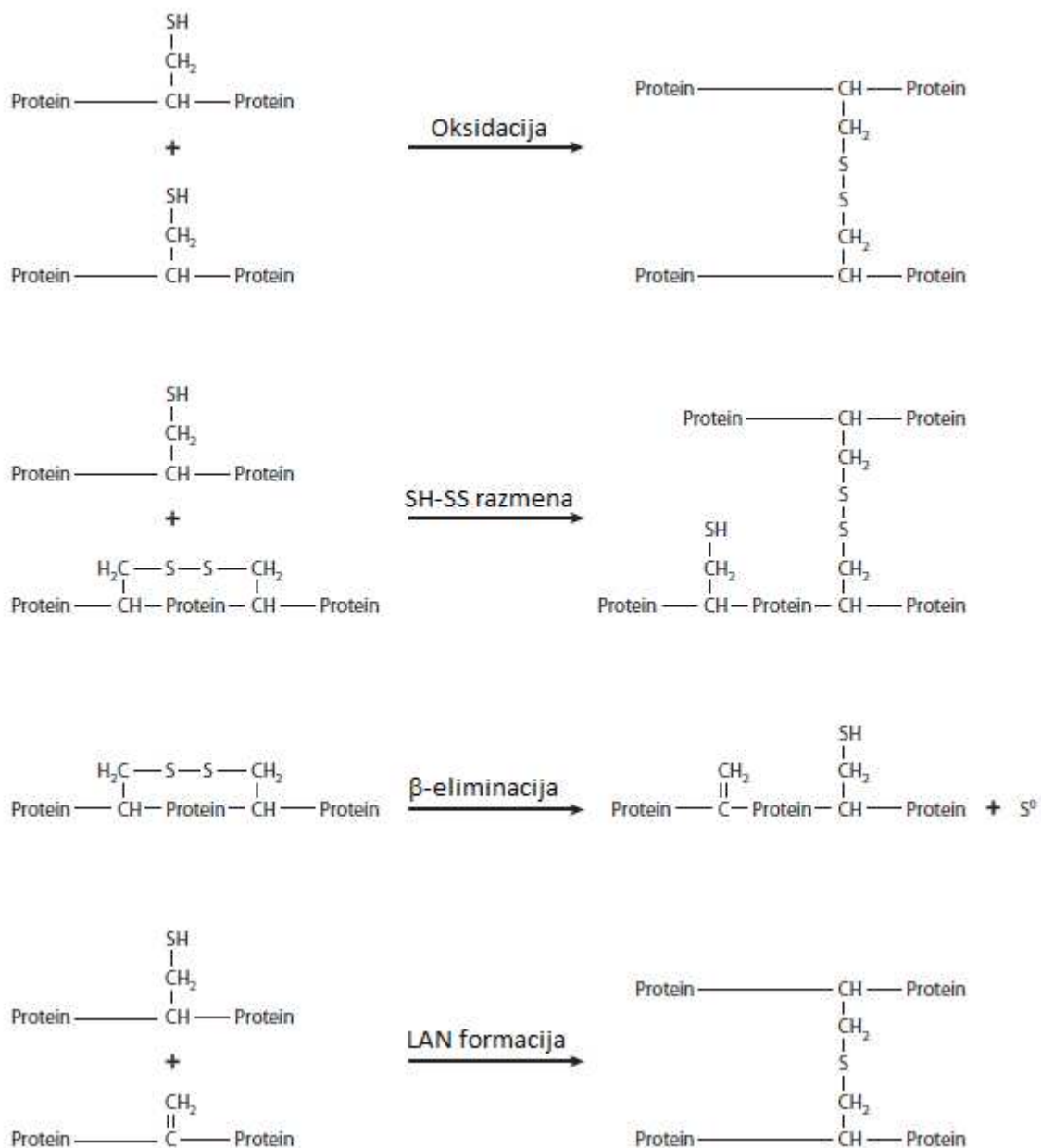
Postoji nekoliko teorija koje objašnjavaju proces polimerizacije proteina u toku razvoja zrna pšenice, dovodeći ga u vezu sa formiranjem intermolekularnih vodoničnih mostova između gluteninskih podjedinica (Pernollet i Camilleri, 1983; Eckert i sar., 1993 ) i disulfidnim povezivanjem proteina pomoću oksidacije slobodnih sulfhidrilnih (-SH) grupa. U svom radu Rhazi i sar. (2003) navode da tokom razvoja zrna dolazi do promena sulfhidrilnog statusa proteina endosperma, kao posledica učešća sulfhidrilnih grupa u procesu polimerizacije. I pored opsežnih istraživanja mehanizmi polimerizacije nisu u potpunosti razjašnjeni.

Opšte je prihvaćeno da disulfidne veze stabilizuju konformaciju proteina i/ili destabilizuju denaturisane konformacije kroz smanjenje konformacione entropije. Pобољшanje stabilnosti u praktičnom smislu, podrazumeva povećanje otpornosti proteina na uslove okoline, kao što su visoke temperature, ekstremne pH vrednosti, visoke koncentracije organskih rastvarača. Međutim, uprkos mnogim studijama, mehanizam kojim disulfidi stabilizuju proteinsku strukturu, nije u potpunosti poznat (Bulaj, 2005).

Uloga sulfhidrilnih grupa pšeničnih proteina u reološkim osobinama testa, privukla je pažnju mnogih hemičara i prehrambenih tehnologa (Andrews i sar., 1995). Sulfhidrilne grupe su u stanju da se podvrgnu sulfhidril-disulfid razmeni, koja podrazumeva raskidanje ili obnavljanje disulfidnih veza posredstvom endogenih komponenti, koje sadrže sulfhidrilne grupe (kao što su proteini, redukovani glutation) ili egzogenih jedinjenja (kao što je cistein, redukovani glutation) (Aminlari i Majzoobi, 2002; Lutz, 2012).

Opsežna ispitivanja su izvedena kako bi se pomenute redoks reakcije dovele u vezu sa pecivnim osobinama pšenice. Hemijske promene, koje podrazumevaju cepanje ili obnavljanje disulfidnih veza tokom prerade pšeničnog brašna, detaljno su opisane u preglednom radu Delcour i sar. (2012). Povećavanjem temperature testa usled mešenja, dolazi do raskidanja vodoničnih veza, tako da u početku dolazi do smanjenja stepena interakcija glutenina i glijadina u glutenu. Povećavanjem temperature do 90 °C dolazi do stvaranja SS povezanih aglomerata, uglavnom  $\alpha$ - i  $\gamma$ -glijadina i glutenina. Razmenom SH-SS veza pri povišenoj temperaturi, dolazi do inkorporacije glijadina u gluteninsku strukturu. Slobodna SH grupa glutenina izvodi nukleofilni napad na atom sumpora u disulfidnoj vezi glijadina. Iako u toku toplotnog tretmana, umrežavanje glutena nastaje

formiranjem dodatnih SS veza, unakrsne veze mogu da se formiraju i između ostalih aminokiselina. Tokom pečenja hleba dolazi do povećanja ditirozin veza. Takođe, pri  $\text{pH} \geq 6$  i višim temperaturama,  $\beta$ -eliminacijom cistina formira se dehidroalanin i slobodne SH grupe u glutenu. Oba nastala oblika, takođe mogu da učestuju u novim reakcijama cepanja i obnavljanja disulfidnih veza (Slika 2.4).



**Slika 2.4.** Shematski prikaz reakcija koje podrazumevaju cepanje ili obnavljanje disulfidnih veza (Delcour i sar., 2012)

I pored opsežnih ispitivanja, prvenstveno zasnovanim na izvesnim manipulacijama brašnom (vreme i brzina mešenja testa, dodatak različitih oksidacionih ili redukcionih

sredstava), postoje različita tumačenja uloge sulfhidrilnog statusa brašna i testa na njegove reološke osobine (Hayta i Schofield, 2004).

Struktura i reološka svojstva testa su u tesnoj vezi sa sadržajem slobodnih sulfhidrilnih grupa proteina i sa formiranjem disulfidnih veza tokom zamesa testa. Nizak sadržaj sulfhidrilnih grupa testa u odnosu na brašno, ukazuje da proces mešenja poboljšava razmenu SH/S-S reakcija. Veliki broj SS veza formiranih tokom zamesa, dovodi do povećanja stepena umreženosti glutena. S druge strane, duže vreme zamesa može proizvesti cepanje nekih disulfidnih veza sa odgovarajućim povećanjem slobodnih sulfhidrilnih grupa. Skerret i sar. (1999) su ispitivali cepanje disulfidnih veza u HMW gluteninima tokom dužeg zamesa, što je dovelo do delimične depolimerizacije gluteninskog polimera, što za posledicu ima dobijanje testa narušenih reoloških osobina (smanjena konzistencija i povećana lepljivost testa).

Gómez i sar. (2011) smatraju da varijacija u sadržaju slobodnih sulfhidrilnih grupa tokom mešenja testa, ne mora nužno biti vezana sa promenom sadržaja disulfidnih veza, već da je došlo do promene u njihovoj distribuciji. Ove disulfidne veze mogu biti povezane za niskomolekularnim podjedinicama glutenina, oslobođenih iz gluteninskog polimera, kao posledica predugog mešenja testa.

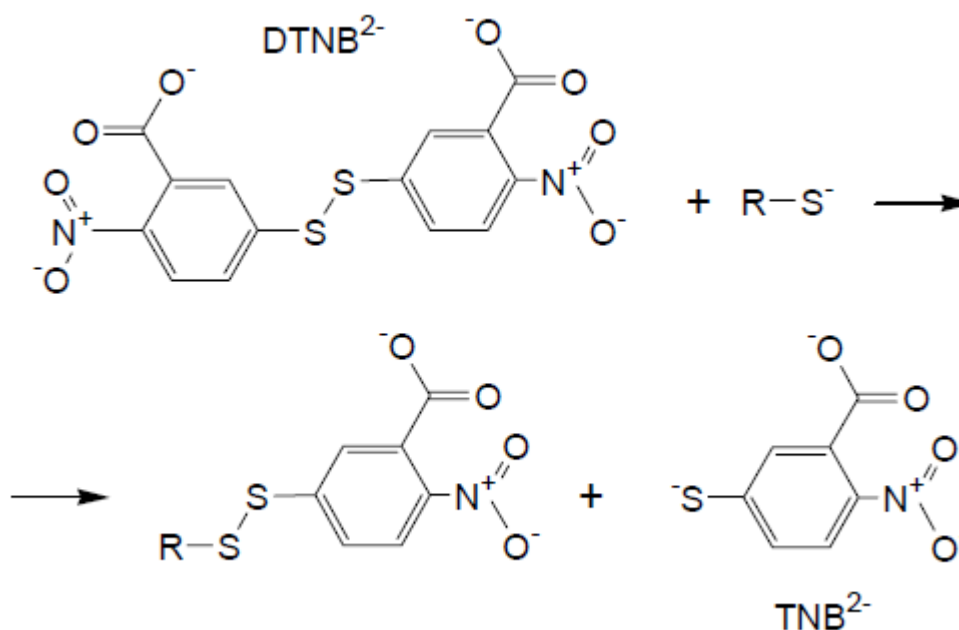
Veliko interesovanje naučnika je usmereno na moguće učešće tripeptida glutationa (neproteinske tiolne komponente) u redoks reakcijama koje se javljaju u testu. Ovaj tripeptid se javlja endogeno u pšeničnom brašnu u slobodnom i redukovanom, kao i u obliku smeše disulfida protein- glutation. I pored niskog sadržaja tiolnih grupa, smatra se da ima veoma važnu ulogu u redoks reakcijama brašna. Chen i Schofield (1996) su pratili biohemijske promene u brašnu tokom njegovog skladištenja i ustanovili su da tokom prvih deset dana skladištenja, dolazi do značajnog poboljšanja pecivnih svojstava pšenice, uz značajno smanjenje glutationa u redukovanom, oksidovanom, kao i u obliku smeše disulfida, nakon čega dolazi do stabilizacije. S druge strane Li i sar. (2004) su utvrdili da ne postoji jasna veza između sadržaja glutationa i srodnih tiolnih jedinjenja u brašnu, sa njegovim kvalitetnim osobinama.

Broj reaktivnih SH grupa zavisi od nekoliko unutrašnjih i spoljašnjih faktora: prirode proteina, prisustva ili odsustva sredstva za denaturaciju, temperature, pH vrednosti, vrste i koncentracije korišćenog SH reagensa i vremena reakcije. U mnogim slučajevima, vrednost eksperimentalno određenog sadržaja sulfhidrilnih grupa je niža od stvarno prisutnog ili obrnuto. Teškoće u određivanju sulfhidrilnih grupa proističu delom iz korišćene metode a delom iz razlika u njihovoj reaktivnosti. Razlozi nepotpunoj reaktivnosti SH grupa proteina mogu biti: sterne smetnje uslovljene specifičnom strukturom proteina, interakcija sulfhidrilnih grupa sa drugim funkcionalnim grupama, repulzija između hidrofилnih reagenasa i hidrofobnih grupa smeštenih u blizini sulfhidrilnih grupa (Hofmann i Ham, 1978).

Pored velikog broja razvijenih metoda za određivanje sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa (Hansen i Winther, 2009), još uvek je u širokoj upotrebi metoda u kojoj se koristi Ellman-ov reagens (5, 5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid) ili DTNB. Upotreba Ellman-



ovog reagensa u ovu svrhu je pogodna iz nekoliko razloga: lako je rastvorljiva komponenta, pokazuje visoku specifičnost prema SH grupama; vreme reakcije sa SH grupama je relativno kratko a i sama metoda određivanja je tehnički lako izvodljiva (spektrofotometrijski). U reakciji Ellman-ovog reagensa i SH grupa oslobađa se ekvivalent intenzivno hromogenog anjona 5-tio-2-nitrobenzoeva kiselina (TNB), supstanca žute boje sa maksimumom apsorpcije na 412 nm (Slika 2.5) (Andrews i sar. 1995).



**Slika 2.5.** Redukcija Ellman-ovog reagensa

## 2.6 Slobodne amino grupe i njihov uticaj na tehnološki kvalitet pšenice

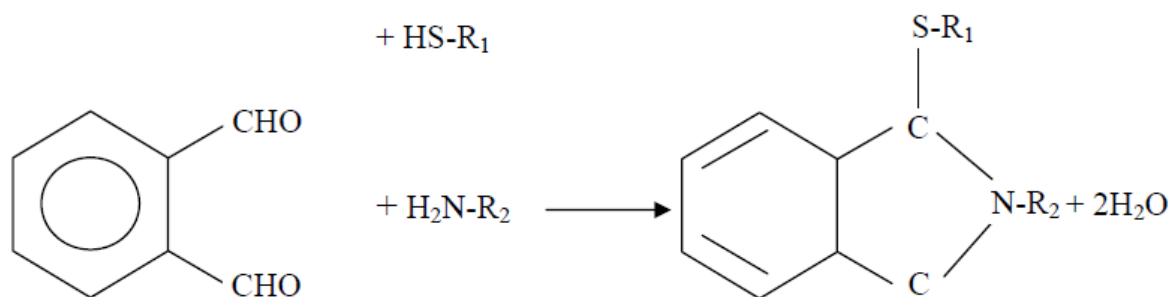
Tokom faza rasta i razvoja pšenice, posležetvenog dozrevanja, kao i tehnološkog dozrevanja brašna, javljaju se brojne kompleksne biohemijske promene, koje između ostalih konstituenata uključuju i enzime prisutne u pšeničnom zrnju i brašnu (Pyler, 1973). Kao što je ranije navedeno, pšenično brašno sadrži brojne enzime koji značajno utiču na njegovu tehnološku vrednost, pri čemu se i proteaze ubrajaju u značajnije enzime.

Proteaze katalizuju hidrolizu proteina zrna. U istraživanju o prisustvu i aktivnostima proteolitičkih enzima vitalnog pšeničnog glutena, Bleukx i sar. (1996) su identifikovali aspartatne proteaze i serin endoproteaze odgovorne za hidrolizu glutena. Svaki put kad

se hidrolizuje peptidna veza, oslobađa se slobodna amino grupa i slobodna karboksilna grupa. Stepenu hidrolize utvrđuje se na osnovu povećanja sadržaja ovih grupa. Sadržaj slobodnih amino grupa direktno je proporcionalan stepenu hidrolize proteina (Nielsen i sar., 2001). Kao rezultat hidrolize proteina pšenice, nastaju u vodi rastvorljive slobodne aminokiseline i mali peptidi (Aja i sar., 2004).

Postoje brojne tehnike razvijene u cilju procene stepena hidrolize proteina, kao što su: spektrofotometrijske metode (ninhidrijska reakcija; TNBS method), potenciometrijska tehnika (zasniva se na reakciji formaldehida i slobodnih amino grupa) i pH stat tehnika. Sve navedene metode, izuzev pH stat tehnike, omogućavaju procenu stepena hidrolize poređenjem količine slobodnih amino grupa pre i posle hidrolize. TNBS metod podrazumeva reakciju primarnih amino grupa i trinitro-benzen-sulfonske kiseline. Glavni nedostaci ove metode su nestabilnost i toksičnost TNBS reagensa (trinitro-benzen-sulfonske kiseline), kao i dugotrajnost metode.

Kao alternativna metoda, u kojoj su donekle izbegnuti pomenuti nedostaci, razvijena je metoda u kojoj se koristi OPA (o-phthaldialdehyde) reagens. Metoda se zasniva na reakciji slobodnih amino grupa i OPA reagensa u prisustvu  $\beta$ -merkaptoetanol ili ditiotreitola. Kao proizvod reakcije nastaje obojeno jedinjenje koje ima maksimum apsorpcije na 340 nm (Slika 2.6). Još jedna od prednosti ove metode je upotreba serin aminokiseline kao standarda, jer je utvrđeno da je odziv ove aminokiseline veoma blizak prosečnom odzivu ispitivanih aminokiselina (u reakciji sa OPA reagensom na 340 nm) (Nielsen i sar., 2001).



**Slika 2.6.** Reakcija slobodnih amino grupa sa OPA reagensom u prisustvu jakog redukcionog sredstva ( $\beta$ -merkaptoetanol ili ditiotreitola)

Značaj sadržaja slobodnih amino grupa na tehnološki kvalitet, sastoji se u tome što indirektno ukazuje na aktivnost prisutnih proteolitičkih enzima. U brojnim literaturnim navodima, upravo je ova metoda korišćena u cilju procene aktivnosti proteolitičkih enzima normalno prisutnih u brašnu ili aktivnosti proteolitičkih enzima ubrizganih od strane insekata.

Proteolitička aktivnost u brašnu oštećene pšenice je veoma niska. Međutim, dodatkom vode pri zamesu, ovi enzimi postaju aktivni. Negativan uticaj povećane proteolitičke

aktivnosti se manifestuje kroz degradaciju glutenske strukture i omekšavanje glutena, što se indirektno reflektuje i na druge pokazatelje kvaliteta (sadržaj glutena, gluten indeks).

Pèrez i sar. (2005) su isptivali povezanost degradacije glutena brašna inficiranog žitnom stenicom sa njegovom strukturom, kroz određivanje sadržaja slobodnih amino i sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa. Ustanovili su da se tokom inkubacije glutena, sadržaj slobodnih amino grupa i sulfhidrilnih grupa povećava, što sugerije da proteaze insekata u početku unapređuju degradaciju glutena. Na taj način slobodne amino grupe, skrivene u polimernoj strukturi, postaju dostupne za aktivnost proteaza, što ima za posledicu oslobađanje različitih polipeptida.

Bonet i sar. (2005) su ispitivali mogućnost obnove funkcionalnosti glutena iz pšenice oštećene insektima, njegovim tretmanom sa transglutaminazom. U tu svrhu određivali su sadržaj slobodnih amino grupa i utvrdili smanjenje njihovog sadržaja, kao posledicu obnavljanja polimerne strukture glutena dejstvom transglutaminaze.

## ***2.7 Uticaj klimatskih faktora i genotipa na kvalitet pšenice***

Odnosi između uslova životne sredine, prinosa i kvaliteta pšenice su veoma složeni, čemu svedoče i brojna naučna istraživanja na tu temu (Altenbach i sar., 2003; Triboi i sar., 2003; Triboi i sar., 2006; Har Gil i sar., 2011; Altenbach, 2012). Na polju, nepovoljni uslovi sredine mogu se javiti u bilo kom trenutku životnog ciklusa biljke, mogu varirati u intenzitetu i trajanju, i uticati na različite procese tokom vegetativne ili reproduktivne faze razvoja biljke. Kao odgovor na nepovoljne uslove, biljka razvija brojne odbrambene mehanizme sa krajnjim ciljem proizvodnje održivog semena. Ovi mehanizmi uključuju promene na molekularnom, ćelijskom i fiziološkom nivou koji variraju u odnosu na genotip. U krajnjoj liniji, nastale promene se manifestuje u zrnju, i to pretežno na skrobnu (ključni faktor za prinos) i proteinsku (kritičan faktor za kvalitet) komponentu (Altenbach, 2012).

Količina padavina i plodnost zemljišta su najvažniji faktori koji određuju prinos i kvalitet pšenice. Čak i prolazni periodi ekstremnih oblika pomenuta dva faktora, mogu imati dramatične posledice na razvoj a samim tim i na kvalitet pšenice. Tip zemljišta, nivo đubriva (posebno azota i sumpora), količina padavina i broj tropskih dana tokom faze nalivanja zrna, imaju značajan uticaj na kvalitet pšenice i sadržaj proteina (Ciaffi i sar., 1996; Daniel i Triboi, 2000; Hurkman i Wood, 2011).

Temperatura vazduha ima regulatorni uticaj na rast biljke. Ekstremi poput visoke temperature, uzrokuju toplotni stres i sušu, sa negativnim uticajem na prinos i kvalitet. Optimalna temperatura za razvoj pšenice je 15 °C, više temperature ubrzavaju sazrevanje, smanjuju prinos i menjaju proteine glutena koji određuju kvalitet zrna. Niske temperature tokom zimskog perioda usporavaju rast, ili dovode da zamrzavanja zemljišta. Prolazni periodi niske temperature ispod 0 °C u kritičnim fazama rasta biljaka,

od klasanja do cvetanja mogu izazvati teške gubitke prinosa, kao rezultat oštećenja mrazom. U takvim uslovima, praksa je da se setva odloži pri čemu se odlaže i faza cvetanja za vreme prihvatljivije od rizika smrzavanja. To obično znači da cvetanje kasni, tako da je faza nalivanja zrna izložena uslovima povišene temperature i smanjene dostupnosti vode. Niske temperature tokom kasnog proleća takođe uzrokuju oštećenja biljke. Naime, po razvoju one gube toleranciju i bivaju jače izložene oštećenjima uzrokovanim mrazom (Paulsen i Shroyer, 2004).

Monitoring klimatskih promena sugerše da će više sezonske temperature postati uobičajena pojava u mnogim delovima sveta. Periodi suše verovatno će postati češći i ozbiljniji (Semenov, 2009). Nedavna istraživanja pokazuju da će dalji trend povećanja prosečnih temperatura tokom vegetacije, izazvati dalju redukciju prinosa pšenice.

Nekoliko studija se bavilo ispitivanjem uticaja povišenih temperatura na kvalitet zrna. Sadržaj proteina pšenice je određen brzinom i trajanjem sinteze proteina i skroba tokom faze nalivanja zrna. Pri porastu temperature, udeo proteina se povećava. Porast temperature iznad 30 °C, dovodi do toga da sinteza kako skroba, tako i proteina, biva suprimirana. Visoke temperature takođe mogu izmeniti sintezu proteina u zrnu, tako da dođe do promena u njihovom sastavu, što može da ima uticaj i na kvalitet testa. Studije sprovedene pri temperaturama iznad 35 °C su pokazale promene u odnosu glutenina i glijadina (Ciaffi i sar., 1996; Moldestad i sar., 2011).

Varijacijama u trajanju i vremenu izloženosti pšenice toplotnom stresu u fazi nalivanja, Castro i sar. (2007) su ustanovili da visoke temperature smanjuju dužinu faze nalivanja zrna. Povećava se sadržaj proteina, naročito ukoliko je najveća izloženost povišenim temperaturama u ranom periodu nalivanja zrna. Takođe se smanjuje masa hiljadu zrna, pri čemu se ovaj negativan uticaj ne može povezati sa trajanjem ili vremenom izloženosti stresu. Toplotni stres nije primetno uticao na kvalitet proteina ispitivanih genotipova pšenice, ali je primetna značajna interakcija između genotipa i primenjenog tretmana.

Dokazano je da vreme i brzina polimerizacije glutenina, kao i vreme izloženosti toplotnom stresu tokom razvoja pšenice, mogu biti ključni faktori u objašnjenju uticaja toplotnog stresa na funkcionalnost pšenice (Irmak i sar., 2008). U pogledu akumulacije neglutenskih proteina tokom razvoja pšenice, povišena temperatura ne menja bitno razvojni program. Akumulacija proteina se pomera od onih aktivnih u biosintezi i metabolizmu, ka proteinima aktivnim u skladištenju i zaštiti od biotičkih i abiotičkih stresova (Hurkman i sar., 2009). Hleb od brašna pšenice gajene u uslovima toplotnog stresa ima manju zapreminu (Blumenthal i sar., 1993). Poboljšanje genetske adaptacije sorti pšenice na toplotni stres je važan cilj u programu oplemenjivanja. Neki genotipovi ispoljavaju odgovarajuću toleranciju prema toplotnom stresu i mogu se koristiti kao genetski izvori za poboljšanje otpornosti prema navedenom stresnom faktoru.

Suša takođe skraćuje period nalivanja zrna ali najdramatičniji efekat se ispoljava u kombinaciji sa niskim temperaturama (Shah i Paulsen, 2003). Ispitujući uticaj sušnog stresa, 15 dana nakon cvetanja, na karakterisitke skroba i proteina, Singh i sar. (2008) su

utvrdili da je došlo do smanjenja sadržaja amiloze i povećanja viskoziteta, dok su promene na proteinima uslovljene i genotipom.

Moderna pekarska industrija zahteva visok nivo uniformnosti kvaliteta pšenice koja zadovoljava zahteve automatske obrade. Postizanje zahteva standardnog kvaliteta zrna je složeno, jer je obično pod uticajem više faktora kao što su genotip, uslovi gajenja i kompleksnih interakcija genetskih i faktora okoline. Razumevanje ovih efekata je od suštinskog značaja za razvoj sorti pšenice sa visokim potencijalom prinosa, kao i sa specifičnim i konzistentnim kvalitetnim osobinama (Vázquez i sar., 2012). Mnoge studije su sprovedene u pokušaju da objasne varijacije kvaliteta pšenice kao funkcije genetičke varijabilnosti, uslova gajenja i njihove interakcije u sastavu proteina (Preston i sar. 2001; Zhang i sar. 2004). Rezultati ovih studija su generalno pokazali, da svi ovi ispitivani faktori značajno doprinose varijabilnosti kvaliteta. U svom radu, Finlay i sar. (2007) navode da je doprinos ispitivanih faktora (genotipa i uslova gajenja) na kvalitativne karakteristike pšenice i pšeničnog brašna različit. Ukupnoj varijabilnosti kvalitativnih osobina pšenice najviše doprinose uslovi gajenja, dok je u slučaju pšeničnog brašna značajniji uticaj genotipa.

Dok je intenzitet komparativnih efekata genotipa i uslova okoline proučavan od strane nekoliko autora, ne postoji opšti konsenzus o tome koji je od ovih faktora važniji za većinu kvalitativnih karakteristika. Denčić i sar. (2011a) smatraju da relativni značaj genetskih i ekoloških efekata zavisi od testiranih genotipova i ekoloških uslova. Jedan od najvažnijih zaključaka navedenih studija je da se uticaj uslova okoline na sadržaj proteina, ne može jednostavno objasniti zbog kompleksnih interakcija. Naime, kompozicija proteina i relativni udeli različitih proteinskih komponenti, podložni su promenama usled različite ekspresije pojedinih gena proteina (Békés, 2012).

### **3 Cilj rada**

Osnovni cilj ovog rada je sagledavanje uzročno-posledičnih veza između sadržaja i strukture albumina i vrednosti biohemijskih pokazatelja, kao i pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna, iz dve proizvodne godine u kojima su vladali različiti klimatski uslovi.

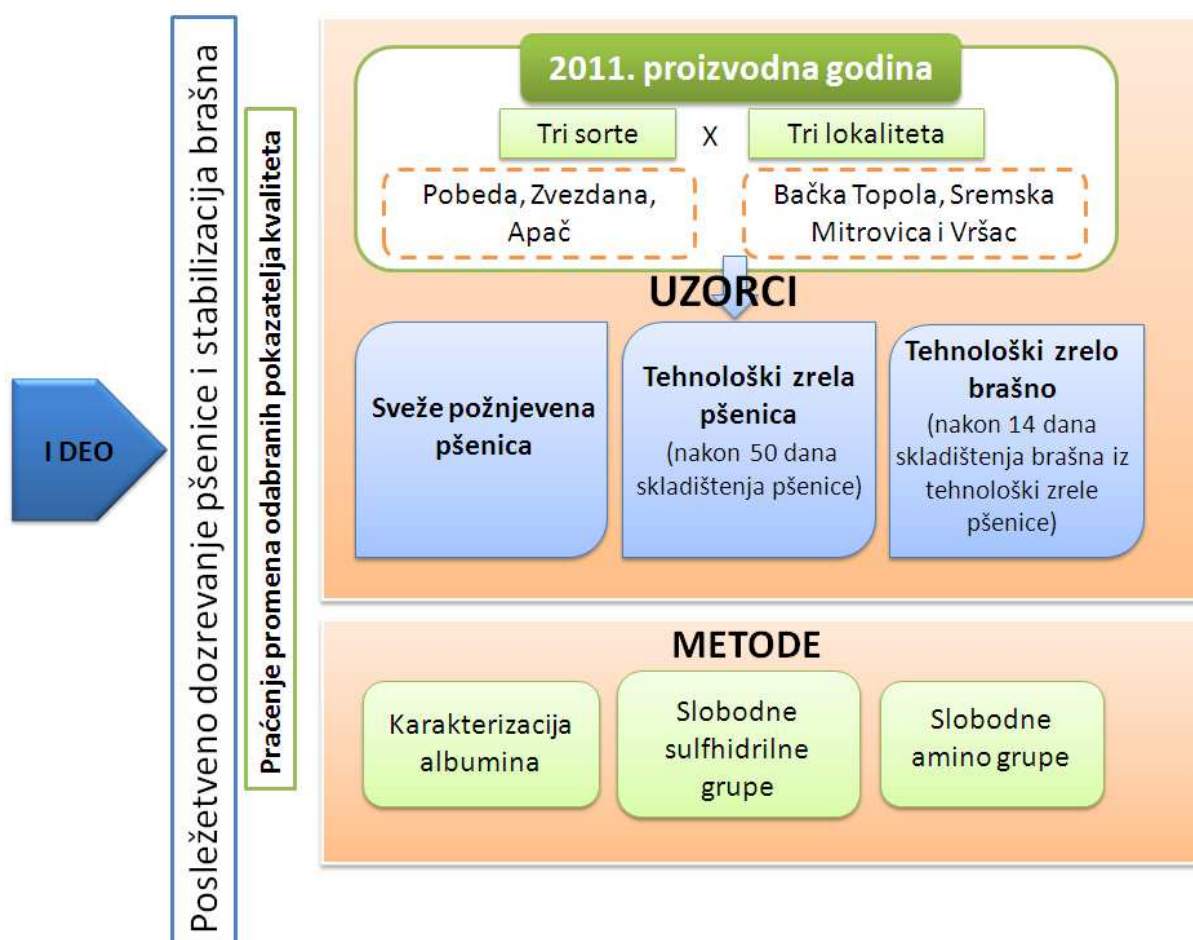
Prvi deo istraživanja ima za cilj praćenje promena biohemijskog statusa uzoraka tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije brašna na osnovu promena vrednosti biohemijskih pokazatelja proteinskog kompleksa pšeničnog brašna, kao što su sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa, sadržaj slobodnih amino grupa, vrednosti standardnog i modifikovanog gluten indeksa, kao i proteolitička aktivnost brašna.

Usled intenzivnih klimatskih promena tokom poslednjih decenija, kao i izmenjenog genetskog potencijala pšenice, pretpostavka je da je i veza albumina i većine biohemijskih pokazatelja sa procenom tehnološkog kvaliteta pšenice promenjena. Stoga je drugi deo istraživanja usmeren na ispitivanje uticaja sorte i mikroklimatskih uslova na sadržaj i strukturu albumina, nivoe vrednosti odabranih biohemijskih pokazatelja i pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna, kvalitet finalnog proizvoda-hleba, kao i na utvrđivanje njihovih međusobnih odnosa.

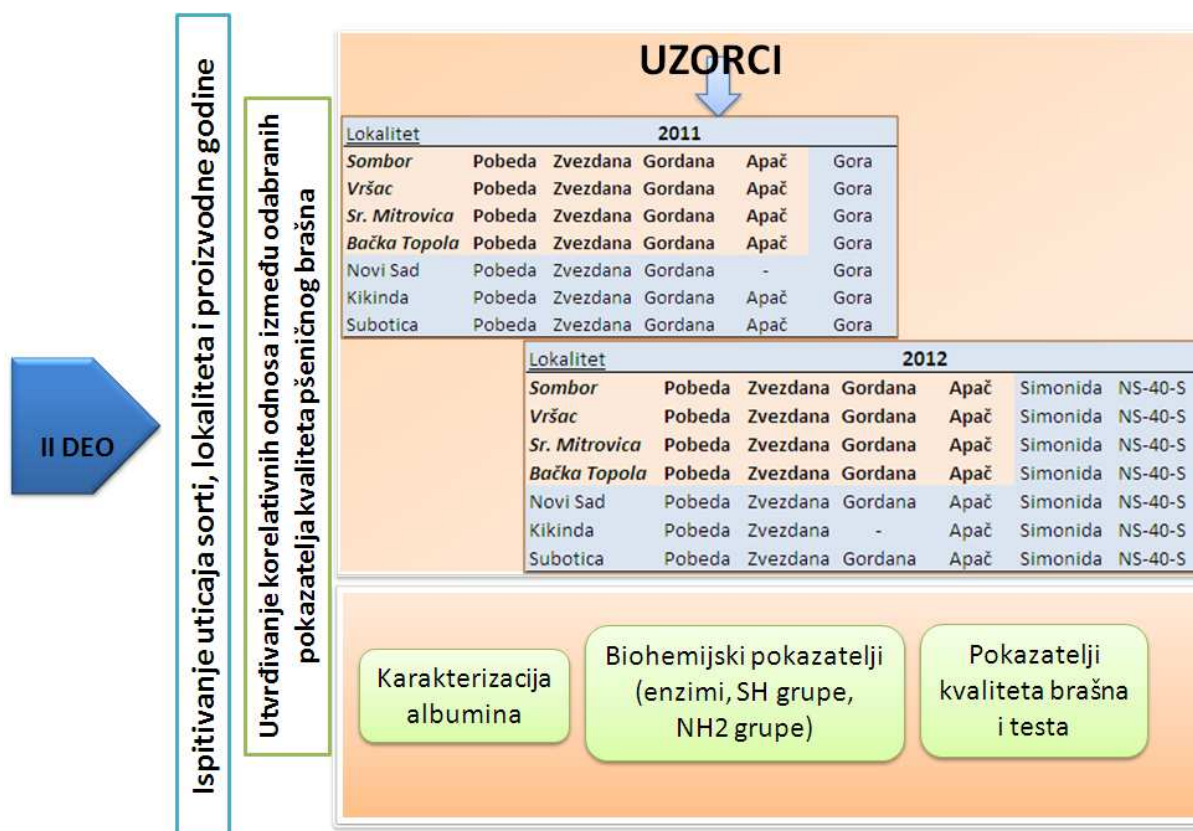
## 4 Materijal i metode

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije urađen je u laboratorijama Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu i laboratoriji Tehnološkog fakulteta, Katedre za primenjene i inženjerske hemije.

Istraživanja, izvedena u svrhu ostvarenja postavljenih ciljeva, radi lakšeg pregleda prikazana su grafički. U prvom delu doktorske disertacije, istraživanja su usmerena na praćenje promena odbabranih pokazatelja tokom perioda poslešetvenog dozrevanja pšenice i biohemijske stabilizacije brašna (Slika 4.1). U drugom delu, istraživanja su usmerena na ispitivanje uticaja sorte i mikroklimatskih uslova na sadržaj albumina, odabranih biohemijskih pokazatelja i pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna i gotovog proizvoda, kao i utvrđivanju korelativnih odnosa između odabranih pokazatelja (Slika 4.2).



Slika 4.1. Shematski prikaz sprovedenih istraživanja (I deo)



Slika 4.2. Shematski prikaz sprovedenih istraživanja (II deo)

## 4.1 Materijal

### 4.1.1 Uzorci pšeničnog brašna

U ovom radu su ispitivani uzorci pšenice iz dve proizvodne godine (2011 i 2012). Uzorci pšenice ispitivanih sorti su preuzeti iz mreže makrogloda Poljoprivredne Savetodavne Službe (PSS) AP Vojvodine, sa sedam lokaliteta (Sombor, Vršac, Sremska Mitrovica, Bačka Topola, Kikinda, Novi Sad i Subotica). Za analize su korišćene sorte Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad: Pobeda, Zvezdana, Gordana, Gora (2011. proizvodna godina) i Pobeda, Zvezdana, Gordana, NS-40S, Simonida (2012. proizvodna godina) kao i francuska sorta Apač (obe proizvodne godine).

U delu istraživanja usmerenom na praćenje biohemijskih promena tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije brašna, ispitivane su tri sorte pšenice:



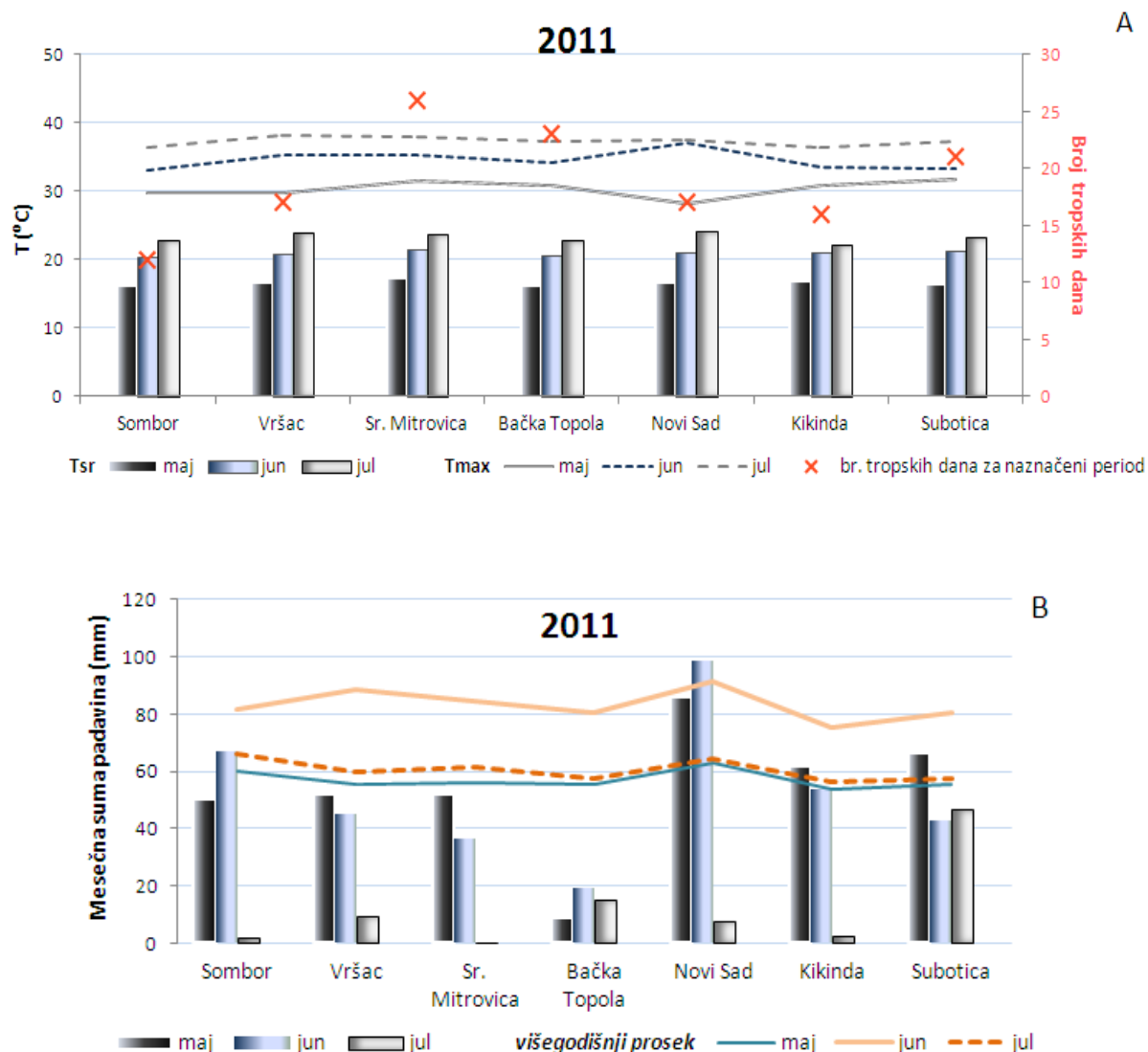
Pobeda, Zvezdana i Apač iz proizvodne 2011. godine, sa sledećih odabranih lokaliteta: Bačka Topola, Sremska Mitrovica i Vršac.

Uzorci pšeničnog zrna su čuvani u papirnim vrećama u laboratorijskim uslovima (22 °C, 70% RH) tokom 50 dana, kako bi se obezbedilo posležetveno dozrevanje pšenice. Nakon perioda posležetvenog dozrevanja, uzorci su samleveni i tako dobijeno brašno je čuvano u laboratorijskim uslovima u periodu od 14 dana, kako bi se dobilo tehnološki zrelo brašno. Uzorci brašna za analizu su čuvani u zamrzivaču na -20 °C, kako bi se zaustavili svi dalji procesi u zrnju do početka eksperimentalnog rada.

Za određivanje pojedinih biohemijskih pokazatelja, kao i određenih reoloških pokazatelja kvaliteta tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i brašna, korišćeni su uzorci brašna ispitivanih sorti samleveni neposredno nakon žetve (period 1), nakon završetka posležetvenog procesa dozrevanja pšenice, tj. nakon skladištenja pšenice u trajanju od 50 dana (period 2) i nakon tehnološkog dozrevanja brašna, tj. nakon skladištenja brašna dobijenog mlevenjem dozrele pšenice u trajanju od 14 dana (period 3).

#### **4.1.2 Agrometeorološki uslovi u proizvodnoj 2011. i 2012. godini**

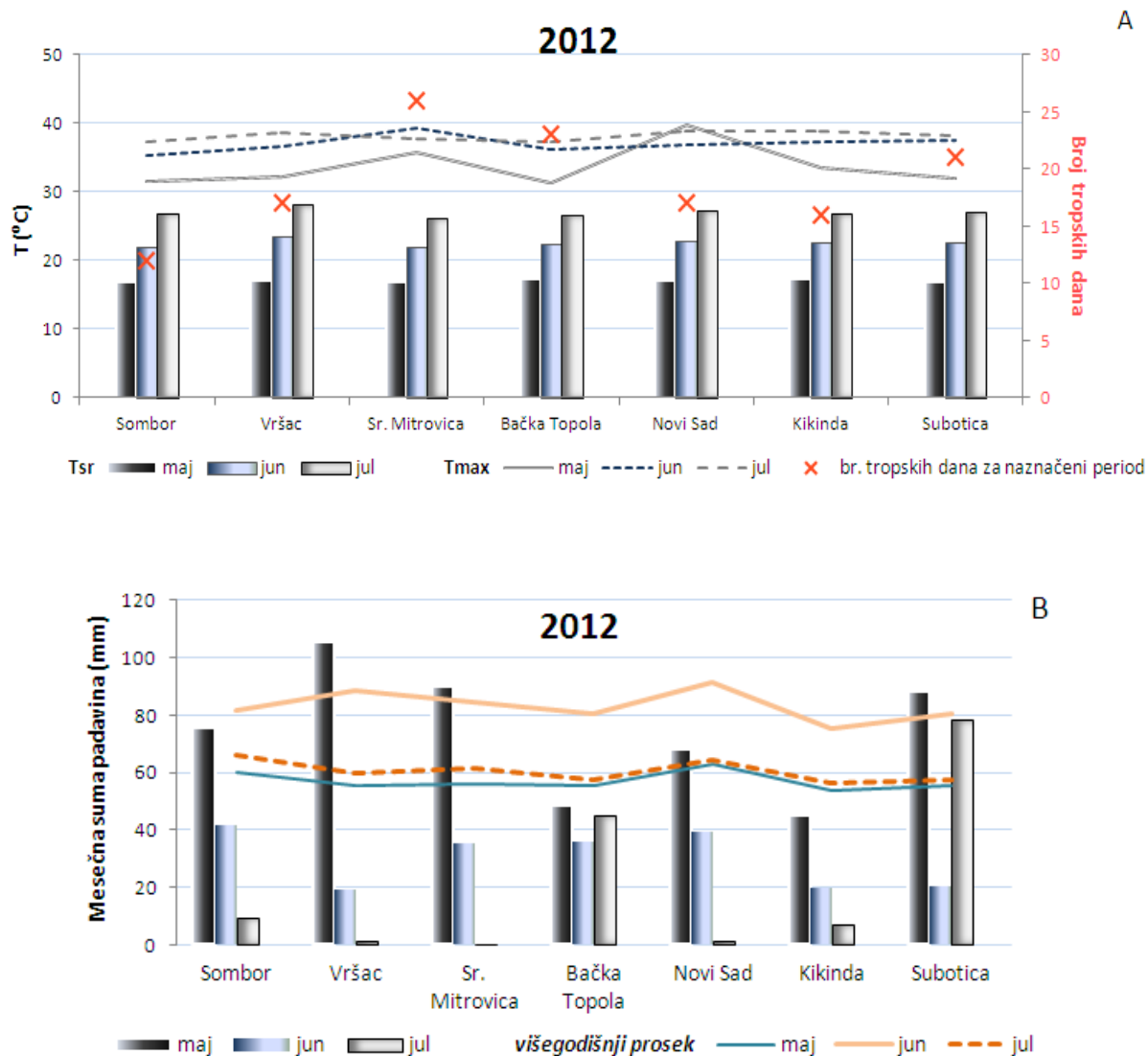
Na Slici 4.3 su prikazani meteorološki podaci za period od maja do sredine jula (od faze cvetanja do žetve) za proizvodnu 2011. godinu. Taj vremenski period karakterisalo je značajno toplije vreme od uobičajenog, sa izrazitim deficitom padavina. Posmatrajući po lokalitetima, prosečne vrednosti srednjih dnevnih temperatura za posmatrani period, neznatno se razlikuju i kreću se u opsegu od 16,6 °C za mesec maj do 23,2 °C za mesec jul. Navedene prosečne vrednosti temperatura su bile iznad ili bliske višegodišnjoj prosečnoj vrednosti temperature. Maksimalne dnevne temperature za mesec maj su prelazile 28 °C, dok su na pojedinim lokalitetima zabeležene temperature preko 30 °C. U junu, maksimalne temperature na svim lokalitetima su prelazile 33 °C. Za mesec jul je karakterističan znatan porast dnevnih temperatura od sredine prve dekade jula, pa do momenta žetve. Do 15. jula maksimalne temperature su imale vrednosti preko 35 °C. U pogledu padavina, uočljive su velike razlike između pojedinih proizvodnih područja. Prosečna količina padavina za mesec maj, za posmatrana područja, iznosi 54 mm, što je 83% od višegodišnjeg proseka za ovaj mesec. Takođe, za lokalitet Bačka Topola je zabeležena najmanja suma padavina za ceo posmatrani period. U julu, značajne količine padavina su izmerene za lokalitet Subotica, što nije slučaj za ostala proizvodna područja. Što se tiče broja tropskih dana, tj. dana sa temperaturama iznad 30 °C, primetne su značajne razlike u odnosu na posmatrane lokalitete i taj broj se kretao u opsegu od 12 do 26.



**Slika 4.3.** Prikaz meteoroloških podataka za period od maja do sredine jula za proizvodnu 2011. godinu.

Na Slici 4.4 su prikazani meteorološki podaci za period od maja do sredine jula za proizvodnu 2012. godinu. Proizvodna 2012. se odlikovala izuzetno višim temperaturama vazduha i deficitom padavina za mesec jun i jul, u odnosu na posmatrani višegodišnji prosek (1981–2010). U odnosu na 2011. godinu, za proizvodnu 2012. su zabeležene neznatno više dnevne temperature za mesec maj i značajno više temperature za mesec jun i jul. Maksimalne temperature za mesec maj su prelazile 31 °C, ali su na pojedinim lokalitetima zabeležene i više temperature (Sremska Mitrovica- 35,8 °C; Novi Sad- 39,7 °C). Najviši priliv padavina, po pojedinim lokalitetima veći od uobičajenog proseka, je zabeležen za mesec maj, dok su jun i jul okarakterisani malim prilivom padavina, sa izrazito visokim maksimalnim temperaturama. Maksimalne temperature su prelazile 35 °C i broj tropskih dana je bio izrazito veći u odnosu na proizvodnu 2011.

godinu (od 31 do 41). I u ovoj proizvodnoj godini u julu, za lokalitet Subotica su zabeležene najveće količine padavina.



**Slika 4.4.** Prikaz meteoroloških podataka za period od maja do sredine jula za proizvodnu 2012. godinu.

## **4.2 Metode**

### **4.2.1 Laboratorijsko mlevenje pšenice**

Priprema uzoraka pšenice za mlevenje se sastojala od čišćenja i temperiranja uzoraka pšenice u količini od 3-5 kg, nakon čega sledi vlaženje pšenice dvostepenim postupkom, kako bi se obezbedila vlažnost zrna od 15%. To podrazumeva vlaženje pšenice do 13.5% vlage dodavanjem određene količine vode izračunate na osnovu mase pšenice za mlevenje i njene vlage. Nakon vlaženja pšenica odležava 24 h. U drugom koraku ponavlja se isti postupak, s tim da se pšenica vlaži do 15% pola sata pre mlevenja na mlevnom automatu MLU-202 (*Bühler, Uzwil, Switzerland*).

### **4.2.2 Određivanje farinografskih pokazatelja kvaliteta testa**

Farinografskim ispitivanjima se dobijaju informacije o količini vode koju treba dodati brašnu, da bi se postigla ustaljena konzistencija testa tokom mešanja, dobija uvid u karakteristike brašna tokom mešanja i predviđaju performanse pečenja. Sa krive se dobija niz podataka kao što su: moć upijanja vode (WA (%)), razvoj testa (DDT (min)), stabilitet testa (Stab (min)), kvalitetni broj (QN) i stepen omekšanja testa (SD (BJ)) (ICC 115/1).

### **4.2.3 Određivanje ekstenzografskih pokazatelja kvaliteta testa**

Ekstenzografom se ispituje reološko ponašanje testa u toku njegove mehaničke obrade, tj. otpor testa na rastezanje a dobijeni pokazatelji su: otpor (R), rastegljivost (Ex), energija (E) i odnos otpora prema rastegljivosti (R/Ex) (ICC 114/1).

### **4.2.4 Određivanje alveografskih pokazatelja kvaliteta testa**

Rastegljivost i otpor testa na rastezanje praćena je primenom alveografa (Chopin Technologies, France) (ICC 121). Karakteristični pokazatelji alveografa su: W-rad deformacije ( $10^{-4}$  J); P-žilavost testa (mm H<sub>2</sub>O), tj. maksimalni pritisak potreban za deformaciju uzorka; L-rastegljivost testa (mm), tj. dužina krive; G-vrednost nadimanja i odnos  
P/L.

#### **4.2.5 Određivanje maksimalnog viskoziteta primenom amilografa**

Određivanje amilolitičke aktivnosti brašna uređajem amilografom, se zasniva na kontinuiranom praćenju viskoziteta suspenzije voda-brašno, pri zagrevanju (25 do 96 °C) određenom brzinom. Sa amilografske krive određen je maksimalni viskozitet (PV (AJ)) (ICC 126/1).

#### **4.2.6 Određivanje termo-mehaničkih osobina testa primenom miksolaba**

Termo-mehaničke osobine testa ispitivanih uzoraka brašna su praćene pomoću Miksolaba (Chopin Technologies, France), primenom "Chopin+" protokola, prema ICC 173 (ICC Standards, 1996), pri čemu su dobijeni sledeći pokazatelji krive: WAMix-moć upijanja vode (%); C1-inicijalna maksimalna konzistencija (Nm) koja služi za određivanje moći upijanja vode; DevMix-vreme razvoja (min); StabMix-stabilitet testa (min); ElastMix-elastičnost testa (Nm); C2-minimalna vrednost torzije na početku zagrevanja (Nm); C3-maksimalna vrednost torzije u fazi zagrevanja (Nm); C4-minimalna vrednost torzije nakon perioda zagrevanja; C3-C4-stabilnost tople paste (Nm); iznos retrogradacije, tj. razlika između maksimuma torzije nakon perioda hlađenja na 50 °C (C5) i torzije u tački (C4), C5-C4 (Nm);  $\alpha$ -brzina slabljenja proteinske mreže (Nm/min),  $\beta$ -brzina želatinizacije skroba (Nm/min) i  $\gamma$ -brzina enzimske razgradnje (Nm/min).

#### **4.2.7 Sadržaj vlažnog glutena**

Sadržaj glutena je određen ispiranjem testa sa 2% slanim rastvorom, čime se testo oslobađa rastvorljivih sastojaka i skroba, a zaostaje gumasta masa glutena. Određivanje sadržaja vlažnog glutena je rađeno prema metodi opisanoj u ICC 137/1. Sadržaj vlažnog glutena izražava se u procentima i proporcionalan je odnosu mase vlažnog glutena nakon ispiranja i polazne mase uzorka.

#### **4.2.8 Gluten indeks**

Gluten indeks se dobija kao odnos količine ispranog glutena, koji se nakon centrifugiranja zadrži na specijalnom situ i ukupne količine glutena (ICC 155).

Pored standardnog postupka određivanja, u svrhu određivanja nivoa oštećenosti glutenskog kompleksa, primenjen je i modifikovan postupak određivanja gluten indeksa koji su koristili Torbica i sar. (2007). Modifikacija se sastoji u tome da se pre ispiranja, zamešeno testo sa slanim rastvorom, inkubira na temperaturi od 37 °C u vremenu od 90 minuta. Nakon inkubacije, postupak određivanja je isti kao i kod standardnog postupka.

#### **4.2.9 Sadržaj vlage i proteina u brašnu**

Određivanje sadržaja vlage i proteina u uzorcima pšeničnog brašna, obavljeno je metodom bliske infracrvene spektroskopije, NIR (Infratec 1241 Grain Analyzer (Foss Analytical AB, Hillerød, Denmark), uz primenu kalibracija validovanih u sklopu akreditovane Laboratorije za tehnologiju, kvalitet i bezbednost hrane FINSLab (FINSLab-5.4-3M-001, 2007).

#### **4.2.10 Karakterizacija albumina pomoću automatske kapilarne elektroforeze (Lab-on-a-Chip elektroforeza)**

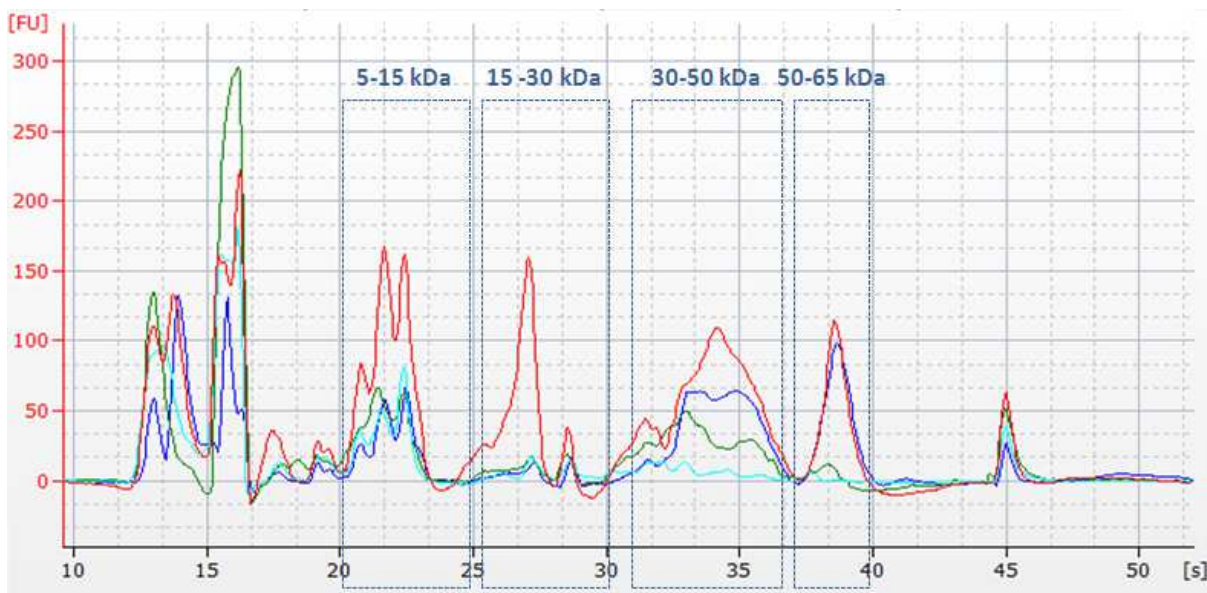
Karakterizacija albumina je izvedena postupkom elektroforetskog razdvajanja automatskom Lab-on-a-Chip kapilarnom elektroforezom. Ekstrakcija albumina, uz izvesne modifikacije, je izvedena prema Osborne-ovom ekstrakcionom postupku. Pšenično brašno (30 mg) se ekstrahuje sa 300 µl dejonizovane vode i zatim intenzivno homogenizuje 10 s. Posle 24 h ekstrakcije na sobnoj temperaturi, dobijeni ekstrakt se izbistri centrifugiranjem na 14 000 o/min tokom 20 min. Dobijeni supernatant, koji predstavlja frakciju albumina, se uparava u uređaju Reacti-Therm I (Thermo Fisher Scientific Bellefonte, PA, USA) do suvog ostatka na sobnoj temperaturi.

Nakon uparavanja, uzorci se suspenduju u jednakim zapreminskim delovima pufera („treatment buffer“: 0,125 M tris-Cl pH 6,8, 4% natrijum dodecil sulfat, 20% glicerol, 10% 2-merkaptotanol) i dejonizovane vode. Zatim sledi zagrevanje uzoraka na 100 °C tokom 5 minuta, kako bi se obezbedila denaturacija prisutnih proteina. Razdvajanje proteina je izvedeno na uređaju Agilent 2100 bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), koristeći Protein 80 Plus LabChip kit i odgovarajući softer (Protein 80 software assay on 2100 expert software). Pre aplikovanja uzoraka na čip, prethodi njihova priprema u skladu sa protokolom za odabranu analizu. Određena količina prethodno denaturisanih uzoraka proteina, meša se sa puferom koji sadrži dva unutrašnja standarda, koji omogućavaju analizu proteina u izabranom opsegu molekulskih masa (5-80 kDa). Pored uzoraka, na čip se aplikuje i smeša proteinskih markera referentnih proteina (3,5, 6,5, 15, 28, 46, 63 i 95 kDa), čime je omogućeno precizno izračunavanje molekulskih masa dobijenih frakcija. Rezultati analize čip elektroforeze se softverski predstavljaju na dva različita načina- u vidu kvantitativnih

profila (elektroforegrami) i u vidu simuliranih fotografija gela (kao skenirani SDS-PAGE gel).

Kvalitativna analiza proteina podrazumeva određivanje molekularnih masa razdvojenih frakcija proteina a kvantitativna određivanje koncentracije svake od definisanih proteinskih frakcija. U svrhu dobijanja apsolutnih koncentracija ispitivanih proteina, izrađena je kalibraciona kriva pomoću serije rastvora poznatih koncentracija goveđeg serumskog albumina (BSA-bovine serum albumin). Svi uzorci su analizirani u dva ponavljanja.

Za potrebe analiziranja povezanosti izabranih biohemijskih pokazatelja, uključujući i albumine sa tehnološkim kvalitetom i pecivnim osobinama uzoraka pšeničnog brašna, ukupni albumini su podeljeni na frakcije koje obuhvataju proteinske bendove iz četiri intervala molekularnih masa. Intervali su odabrani na osnovu dobijenih rezultata tj. izgleda elektroforegrama, koji su imali zajednički obrazac pozicija i frekvencija molekularnih masa. Odabrani su sledeći intervali: 5–15 kDa; 15–30 kDa; 30–50 kDa; 50–65 kDa (Slika 4.5).



**Slika 4.5.** Intervali molekularnih masa albuminskih frakcija

#### 4.2.11 Određivanje sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa

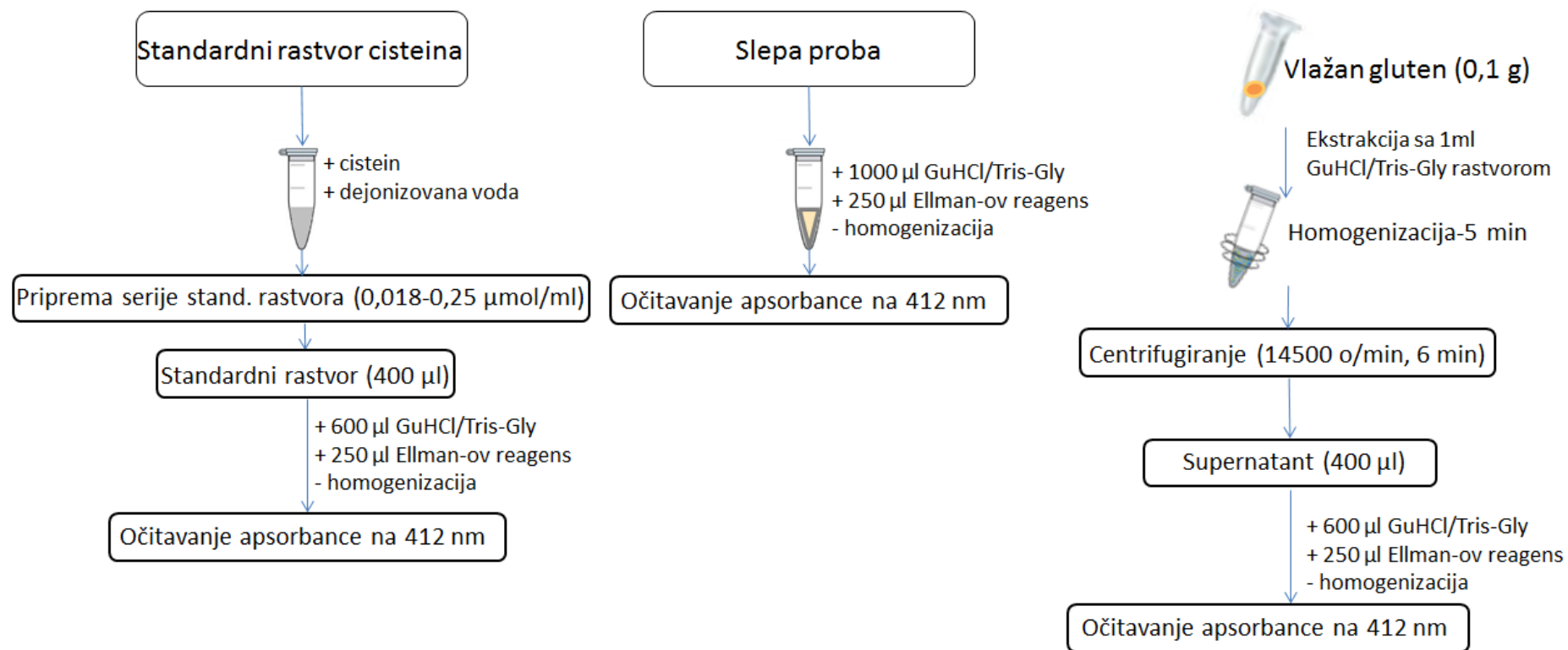
Određivanje slobodnih sulfhidrilnih (SH) grupa je izvedeno na vlažnom glutenu ispitivanih uzoraka brašna, prema metodi koju su koristili Pèrez i sar. (2005) sa izvesnim modifikacijam u smislu temperature (30 °C i 37 °C) i vremena (45, 90 i 135 min) inkubacije vlažnog glutena (Tabela 4.1). Sadržaj SH grupa inkubiranih uzoraka su upoređeni sa sadržajem SH kontrolnog uzorka koji je određen neposredno nakon ispiranja glutena bez prethodne inkubacije.

Vlažan gluten u količini od 100 mg se suspenduje u 1,0 ml 5M rastvora gvanidin hidrohlorida (GuHCl/Tris-Gly rastvor), zatim se meša 5 min velikom brzinom (*vortex*), i centrifugira 6 min na 14500 o/min. Na 400 µl dobijenog supernatanta, dodato je 600 µl GuHCl/Tris-Gly rastvora i 250 µl Ellman-ovog reagensa, pripremljenog neposredno pre merenja u tris-glicinskom puferu (4 mg 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoeve kiseline u 1 ml Tris-Gly pufera). ApSORBANCA se očitava na talasnoj dužini 412 nm (*Spectrophotometer cintra 303, GBC Scientific Equipment, Australia*). Merenja su izvedena u odnosu na slepu probu, koja sadrži 1000 µl GuHCl/Tris-Gly rastvora i 250 µl Ellman-ovog reagensa. Rezultati merenja se preračunavaju u odnosu na kalibracionu krivu napravljene iz serije standardnih rastvora cisteina. Dobijene vrednosti predstavljaju prosečne vrednosti tri merenja. Shema metode primenjena u ovom radu je prikazana na Slici 4.6.

**Tabela 4.1.** Uslovi inkubacije glutena za određivanje sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa uzoraka pšeničnog brašna, tokom perioda posležetvenog dozreivanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna

Period skladištenja	Uslovi inkubacije glutena	
	Temperatura (°C)	Vreme (min) (Oznaka)
1, 2, 3	-	- (0)
1, 2, 3	30	45 (I)
1, 2, 3	30	90 (II)
1, 2, 3	30	135 (III)
1, 2, 3	37	45 (I)
1, 2, 3	37	90 (II)
1, 2, 3	37	135 (III)





**Slika 4.6.** Shematski prikaz određivanja sadržaja sulfhidrilnih grupa (SH) po modifikovanoj metodi Pèrez i sar. (2005)

#### 4.2.12 **Određivanje sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa i sadržaja disulfidnih veza**

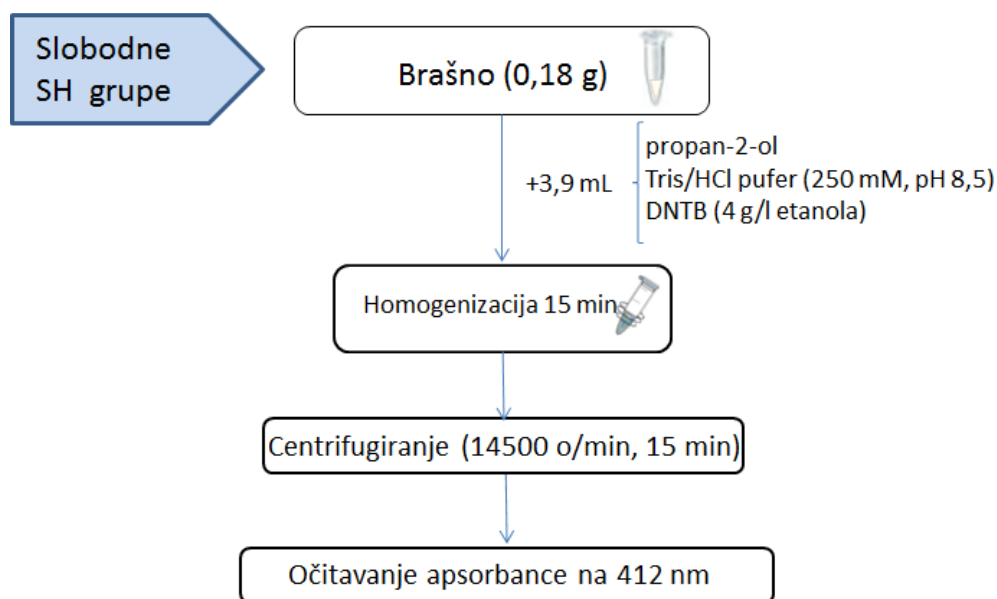
Određivanje sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa, ekvivalenta sulfhidrilnih grupa i sadržaja disulfidnih veza, izvedeno je prema metodi opisanoj u radu Morel i sar. (2002) sa izvesnim modifikacijama.

Za određivanje slobodnih sulfhidrilnih grupa (SH), potrebno je odmeriti 0,18 g uzorka brašna i rastvoriti ga sa 3,9 ml rastvora izopropanola, Tris/HCl pufera (250 mM, pH 8,5), i 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoeve kiseline (DNTB) (4 g/l, u etanolu) u odnosu 1/1/0,2 (v/v/v). Posle centrifugiranja, apsorbancija 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoevog anjona se očitava na 412 nm ( $13\ 600\ \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

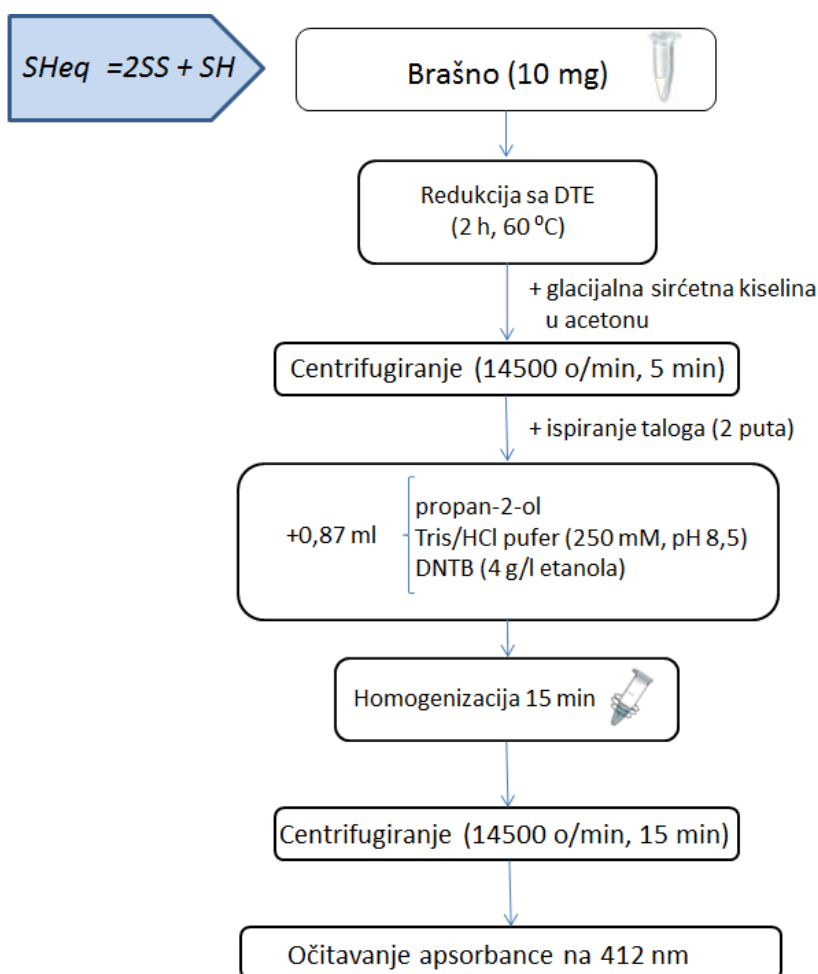
Za određivanje sadržaja disulfidnih veza, uzorak je neophodno redukovati kako bi se dobio uvid u sadržaj ekvivalentnih sulfhidrilnih grupa, pri čemu se sadržaj disulfidnih veza dobija računskim putem iz jednačine:

$$SHeq = 2SS + SH$$

Približno 10 mg uzorka brašna se redukuje sa ditioeritritolom (40 mM u 80 mM Tris/HCl puferu, pH 8,5) u trajanju od 2 sata na 60 °C. Dodavanjem 1,6 ml glacijalne sirćetne kiseline (100 mM) u acetonu, obezbeđuje se precipitacija i zaustavljanje reakcije. Nakon centrifugiranja preostali pelet se suspenduje u 160 µl sirćetne kiseline (100 mM) i opet taloži sa glacijalnom sirćetnom kiselinom (100 mM) u acetone. Postupak ispiranja se ponavlja dva puta. Nakon ispiranja dodaje se 0,87 ml rastvora izopropanola, Tris/HCl pufera (250 mM, pH 8,5), i 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoeve kiseline (DNTB) (4 g/l, u etanolu) u odnosu 1/1/0,2 (v/v/v). Nakon centrifugiranja, očitavanje apsorbancije se izvodi na 412 nm. Paralelno sa očitavanjem apsorbance uzorka, očitava se i apsorbance kontrolnog uzorka. Priprema kontrolnog uzorka podrazumeva isti postupak kao i kod određivanja SH i SHeq grupa uzorka, stim što se izuzima dodavanje Ellman-ovog reagensa. Shema metode primenjene u ovom radu je prikazana na Slikama 4.7 i 4.8.



**Slika 4.7.** Shematski prikaz određivanja sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa (SH) grupa po metodi Morel i sar. (2002)



**Slika 4.8.** Shematski prikaz određivanja ekvivalentnih sulfhidrilnih grupa (SHeq) grupa po metodi Morel i sar. (2002)

### 4.2.13 Određivanje sadržaja slobodnih amino grupa

Sadržaj slobodnih amino grupa je određen u vlažnom glutenu, po metodi opisanoj u radu od strane Pèrez i sar. (2005). Sadržaj slobodnih amino grupa je izmeren u uzorcima vlažnog glutena korišćenjem OPA reagensa. Za pripremanje OPA reagensa potrebno je rastvoriti 4,0234 g di-natrijum-tetra borata i 200 mg SDS (natrijum dodecil sulfata) u 200 ml dejonizovane vode. Prethodno pripremljenom rastvoru doda se 160 mg orto-ftalaldehida rastvorenog u 4 ml apsolutnog etanola. Neposredno pre merenja priprema se krajnji rastvor OPA reagensa, mešanjem 1 zapreminskog dela rastvora 5%  $\beta$ -merkaptotetanol i 22,27 zapreminskih delova pripremljenog rastvora sa orto-ftalaldehidom. Modifikacija metode se odnosi na prethodni tretman glutena (pre samog određivanja slobodnih amino grupa), koji se razlikuje zavisno od toga da li se ispitivanja odnose na istraživanje biohemijskih promena pšenice tokom posležetvenog dozrevanja ili ispitivanje sadržaja slobodnih amino grupa biohemijski stabilizovanog brašna (Tabele 4.2).

**Tabela 4.2.** Uslovi inkubacije glutena za određivanje sadržaja slobodnih amino grupa uzoraka pšeničnog brašna, tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna

Oznaka tretmana	Period skladištenja	Uslovi inkubacije glutena			
		Temperatura (°C)	Vreme (min)	Temperatura (°C)	Vreme (min)
NH2-I	1, 2, 3	-	-	-	-
NH2-II	1, 2, 3	30	90	-	-
NH2-III	1, 2, 3	30	135	-	-
NH2-IV	1, 2, 3	-	-	37	180
NH2-V	1, 2, 3	30	90	37	180
NH2-VI	1, 2, 3	30	135	37	180

Gluten iz pšeničnog brašna (100 mg) se suspenduje u rastvoru KCl (0,1M, pH 1,0), zatim se intenzivno meša i centrifugira (14500 o/min, 6 min). Dobijenom supernatantu (100  $\mu$ l) se doda 500  $\mu$ l prethodno pripremljenog OPA reagensa. Nakon homogenizacije supernatanta sa OPA reagensom, rastvor se sipa u kvarcne kivete. Kako se apsorbancija menja sa vremenom, bitno je da se rastvor pre merenja ostavi da stoji tačno 2 min pre merenja u spektrofotometru. Sva merenja su urađena u četiri ponavljanja, očitavanjem absorbanci na dvoznačnom spektrofotometru na 340 nm (Spectrophotometer cintra 303, GBC Scientific Equipment, Australia). Rezultati merenja su preračunati u odnosu na standardnu kalibracionu krivu, napravljenu iz serije standardnih rastvora serina.

#### **4.2.14      *Određivanje proteolitičke aktivnosti***

Proteolitička aktivnost pšeničnog brašna je određena pomoću modifikovane metode opisane od strane Strelec i sar. (2007) i Calucci i sar. (2004). Brašno ispitivanih sorti (2,5 g) je suspendovano u 5 ml natrijum acetatnog pufera (50 mM, pH 5,0). Proteolitička aktivnost je merena korišćenjem 1% (v/v) hemoglobina (Hb) kao supstrata rastvorenog u natrijum acetatnom puferu (0,1 M, pH 4,0). Reakcija je započeta dodavanjem ekstrakta brašna (600 µl) u 2,7 ml rastvora Hb i posle inkubacije na 45 °C tokom 1 sata, reakcija je zaustavljena dodatkom 25%-tne (v/v) trihlorsirćetne kiseline (TCA). Dobijena suspenzija, nakon 15 minuta na 4 °C se centrifugira. Dobijeni supernatant (0,5 ml) se dalje koristi za određivanje TCA rastvorljivih produkata proteolize, primenom Lowry-jeve metode, koristeći goveđi serum albumin kao standardni protein (Lowry i sar., 1951). Najmanje tri ponavljanja su izvedena za svaki uzorak.

#### **4.2.15      *Određivanje amilolitičke aktivnosti***

$\alpha$ -amilolitička aktivnost je određena prema protokolu Ceralpha metode, koristeći megazyme K-CERA kit za određivanje biljnih i mikrobnih  $\alpha$ -amilaza (Megazyme International Ireland Ltd). Enzim se ekstrahuje inkubacijom 3 g brašna sa 20 ml ekstrakcionog pufera u vremenu od 20 minuta i temperaturi 40 °C. Ekstrakcioni pufer sadrži 1 M natrijum malata, 1 M natrijum hlorida i 40 mM kalcijum hlorida. Određena količina dobijenog enzimskog ekstrakta (0,2ml) se ponovo inkubira sa 0,2 ml prethodno inkubiranog supstrata (p-nitrofenil maltoheptozid), na temperaturi od 40 °C i vremenu od 20 minuta. Reakcija hidrolize se zaustavlja dodatkom blago alkalnog rastvora i apsorbancija se očitava na 400 nm.

#### **4.2.16      *Laboratorijsko probno pečenje***

Za laboratorijsko probno pečenje, zames testa za hleb je izveden u brzohodnoj mesilici. Masi brašna od 300 g, dodato je 2,0% kvasca i 2,0% kuhinjske soli računato na brašno. Količina vode za zames, neophodna za postizanje konzistencije testa od 400 FJ, izračunata je na osnovu farinografskih podataka: moći upijanja vode i stepena omekšanja, a tako dobijena vrednost umanjena je za 1,4% zbog sadržaja vode u kvascu. Nakon zamesa testa koje je trajalo 5 minuta, sledilo je oblikovanje testa u loptu i fermentacija u masi (120 minuta) u termostatu na temperaturi od 30 °C. Tokom fermentacije, premesivanje se obavljalo nakon 60 i 90 minuta. Zatim, testo je podeljeno nožem na tri komada (3x130g), ručno oblikovano i stavljeno u kalupe (9,5 x 7,5 cm;

dno–7,5x5,5 cm i visina 5,5 cm) koji su ubačeni u termostat na završnu fermentaciju (70 min, temperatura-30 °C i relativna vlažnost od najmanje 75%). Pečenje je izvedeno na dnu laboratorijske peći na 220 °C u trajanju od 15 min. Visina testa (mm) je merena pre unošenja u peć, a visina hleba nakon pečenja. Hlebovi su hlađeni na sobnoj temperaturi 1 h i čuvani u klima komori 23 h pri kontrolisanim uslovima temperature (prosečna temperatura  $22\pm 0,7$  °C) i vlage (prosečna vlaga vazduha  $75\pm 0,5\%$ ).

Radi ispitivanja uticaja povećanja količine ispitivanih enzima na tehnološki pokazatelj kvaliteta hleba- specifičnu zapreminu hleba, izvedena je ekstrakcija albumina odabranih uzoraka pšeničnog brašna. Odabir uzoraka je zasnovan na međusobno različitoj kombinaciji nivoa proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti. Postupak je obuhvatao vodenu ekstrakciju ukupnih albumina iz 600 g brašna svakog uzorka. Pšenično brašno (600 g) je ekstrahovano sa 3000 ml dejonizovane vode, uz intenzivnu homogenizaciju u trajanju od 2 h. Dobijeni ekstrakti su izbistreni centrifugiranjem na 3 000 o/min tokom 10 min. Dobijeni supernatant, koji predstavlja frakciju albumina, je pripremljen za proces liofilizacije zamrzavanjem u obliku pločastih blokova visine do 1 cm. Proces liofilizacije je izveden u pilot komori na temperaturi od 43,3 °C sa sušenjem u trajanju od 10 h. Pripremljeni uzorci su spakovani u plastične kese pod inertnom atmosferom (azot) (Slika 4.9). Liofilizirani albumini su dodati u zames testa od 200 g matičnog pšeničnog brašna.



**Slika 4.9.** Liofilizirani ukupni albumini

#### **4.2.17      *Određivanje zapremine hleba***

Nakon pečenja i hlađenja (1 h) izmerena je masa hleba, kao i zapremina postupkom istiskivanja semenki prosa (Kaluderski i Filipović, 1998). Specifična zapremina ( $\text{cm}^3/\text{g}$ ) računata je kao odnos zapremine i mase hleba.

#### **4.2.18      *Analiza strukture odabranih uzoraka testa i hleba skenirajućom elektronskom mikroskopijom***

Mikrostruktura testa i hleba od uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine, sa minimalnim i maksimalnim vrednostima specifične zapremine hleba, analizirana je pomoću skenirajućeg elektronskog mikroskopa JSM-6460LV (SEM, JEOL Ltd., Japan) na 25 kV. Mali komadi testa i sredine hleba (1x1x1 mm) su isečeni oštrim makazama ili sečivom, kako bi se minimalno narušila struktura uzorka. U cilju sprečavanja narušavanja njihove strukture, uzorci su fiksirani u rastvoru glutaraldehida (1:30) u toku 2 h a zatim su dehidrirani sukcesivnim potapanjem u seriji rastvora acetona (25, 50, 75 i 80%) u trajanju od 20 min u svakom rastvoru. Uzorak se konačno dehidrira u 100% acetonu tokom 3 sukcesivna perioda od 20 min, kako bi se postigla kompletna dehidracija (Ribotta i sar., 2004). Dehidrirani uzorci su sušeni do kritične tačke pomoću Critical Point Dryer 030 (BAL-TEC AG, Germany) i prevučeni tankim slojem zlata, raspršivanjem po površini uzorka (BAL-TEC SCD 005 sputter coater Balzers, Liechtenstein). Posmatranje na elektronskom mikroskopu je izvedeno pri dva različita uvećanja : 1000x za uzorke testa i 2000x za uzorke hleba.

#### **4.2.19      *Određivanje teksture sredine hleba***

Tekstura sredine hleba određena je 24 sata posle pečenja, primenom TPA (Texture Profile Analysis) testa (metoda dvostruke kompresije), uz pomoć teksturometra TA.XT2 Texture Analyser (Stable Micro Systems, England). Pre izvođenja analize definisani uslovi rada su podrazumevali odabir merne ćelije od 30 kg, mernog pribora P/75 (aluminijumska ploča prečnika 75 mm) i iznosa kompresije od 75%. Merenje je izvedeno pri sledećim parametrima: brzina kretanja mernog dela pre analize 1 mm/s, a u toku i nakon obavljene analize 5 mm/s i vreme čekanja između prvog i drugog ciklusa kompresije 5 s. Merenja teksture sredine hleba izvedena su u tri ponavljanja na kriškama (prečnika 35 mm i visine 12,5 mm) uzetim iz središnjeg dela hleba. Metodom dvostruke kompresije dobijeni su sledeći pokazatelji: čvrstoća, kohezivnost, adhezivnost, naknadna elastičnost, otpor žvakanju i inicijalna elastičnost.

#### 4.2.20 Statistička obrada podataka

Rezultati su statistički analizirani primenom programa *STATISTICA* 12.0 StatSoft, Inc. (2013). *STATISTICA (data analysis software system)*, version 12. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

U cilju sagledavanja uticaja pojedinih faktora (sorte, lokalita i proizvodne godine) na odgovarajuće zavisno promenljive primenjena je analiza varijanse ANOVA (*Analysis of Variance*). Za utvrđivanje značajnosti razlike između srednjih vrednosti analiziranih pokazatelja, korišćen je Fisher-ov test sa pragom značajnosti 0,05. Utvrđivanje korelativnih odnosa između ispitivanih pokazatelja kvaliteta izvedeno je na bazi Pearson-ovih koeficijenata korelacije. Za vrednovanje intenziteta prostih koeficijenata korelacije primenjivana je sledeća skala (Šurlan–Momirović et al., 2005):

0,00 – 0,10 odsutna korelacija

0,11 – 0,40 slaba korelacija

0,41 – 0,60 umerena korelacija

0,61 – 0,90 jaka korelacija

0,91 – 1,00 potpuna korelacija.

U cilju što boljeg razumevanja odnosa između svih ispitivanih promenljivih primenjena je analiza glavnih komponenti (*Principal Component Analysis* PCA) koja omogućava jednostavnu interpretaciju korelativnih odnosa. Deskriptivna statistika je primenjena kako bi se ilustrovala varijabilnost izabranog seta uzoraka.



## **5 Rezultati i diskusija**

### **5.1 Promene odabranih biohemijskih i kvalitativnih pokazatelja tokom posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna**

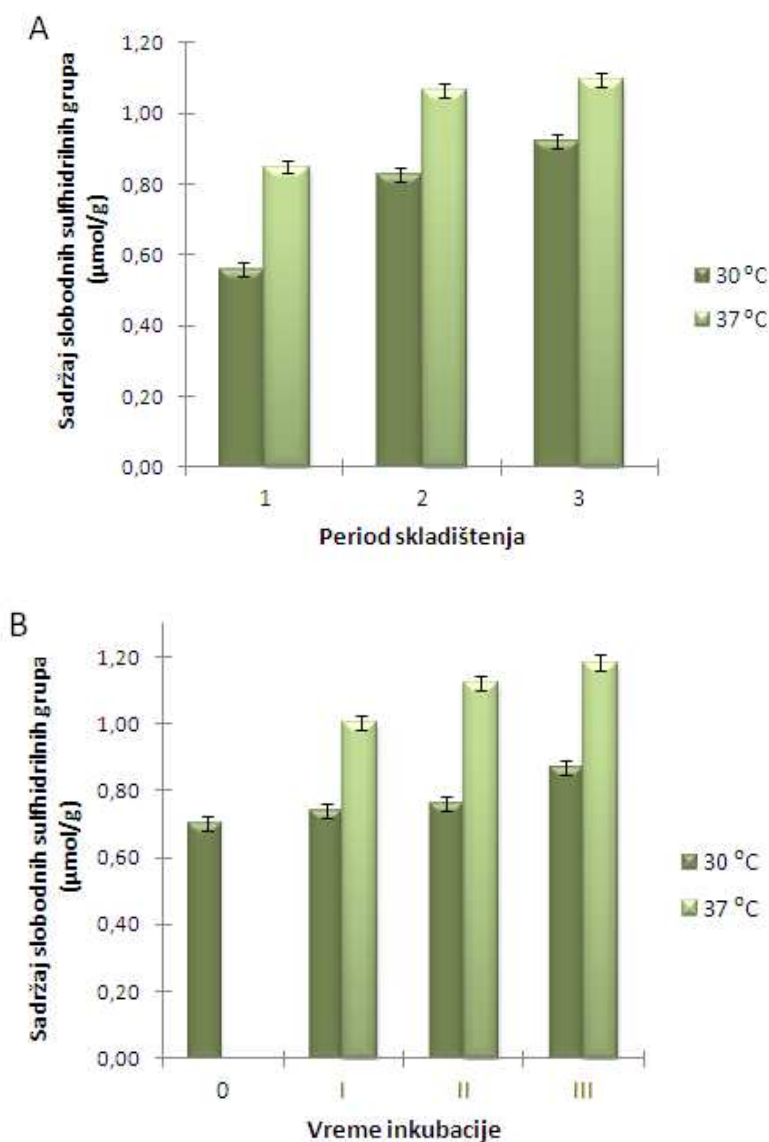
Procena promene biohemijskog statusa tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije brašna, izvedena je na osnovu promene vrednosti biohemijskih pokazatelja proteinskog kompleksa pšeničnog brašna, kao što su sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa, sadržaj slobodnih amino grupa, sadržaj albumina, vrednosti gluten indeksa i proteolitičke aktivnosti brašna. Ovi pokazatelji kvaliteta brašna koji zavise od sorte, proizvodne godine, lokaliteta gajenja, uslova žetve i mlevenja, važni su za preradu brašna i kvalitet finalnog proizvoda. Različiti autori koriste različite koncepte ispitivanja uticaja uslova životne sredine na određene pokazatelje kvaliteta pšeničnog brašna, koji podrazumevaju ispitivanje agroekoloških uslova ili korišćenje jednostavnijeg pristupa koji se odnosi na ispitivanje uticaja klimatskih uslova, karakteristika zemljišta, primenjene agrotehničke prakse ili ispitivanje uticaja godine i lokaliteta gajenja (Gibson i sar., 1998; Triboi i sar., 2003; Brandolini i sar., 2011; Vasquez i sar., 2012). U ovom istraživanju, uticaj lokaliteta je poistovećen sa uticajem mikroklimatskih uslova, jer su u interpretaciji rezultata kao i njihove diskusije, uzeti u obzir samo oni a ne i sastav zemljišta, te će ovi termini biti ravnopravno korišćeni u daljem tekstu.

Kako bi se stekao uvid u kinetiku promene sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa i sadržaja slobodnih amino grupa, eksperimenti su izvođeni na dve različite temperature, koje su odabrane tako da imitiraju uslove obrade testa u farinografu i ekstenzografu (30 °C), odnosno obezbeđuju optimalne uslove za delovanje potencijalno prisutnih proteolitičkih enzima (37 °C). Da bi se što preciznije definisali uslovi u kojima se dešavaju kvantitativne promene sulfhidrilnog statusa testa, na obe temperature su merenja izvedena u četiri tačke: 0, 45, 90 i 135 min. Sadržaj slobodnih amino grupa je određen na obe pomenute temperature (30 i 37 °C), u različitim vremenskim intervalima inkubacije glutena (0, 90 i 135 min na 30 °C i nakon toga još dodatnih 180 min inkubacije na 37 °C). Imajući u vidu značaj i ulogu ovih biohemijskih pokazatelja na osobine glutena, odnosno na reološke karakteristike testa (Bloksma, 1972), prikazani su i rezultati određivanja gluten indeksa po standardnoj i modifikovanoj metodi, kao i vrednosti reoloških pokazatelja kvaliteta ispitivanih uzoraka brašna određenih Miksolabom. U cilju utvrđivanja kakav potencijal, kao indikator proteolitičke aktivnosti, ima sadržaj slobodnih amino grupa, prikazane su i vrednosti ukupne proteolitičke aktivnosti brašna za ispitivani period skladištenja.

### **5.1.1 Promena sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna**

Rezultati ispitivanja simultanog uticaja odabranih faktora (sorte, lokaliteta, perioda skladištenja, temperature i vremena inkubacije glutena) i uticaja individualnih faktora na sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa, prikazani su na slikama (Slika 5.1 A, B, Slika 5.2 i 5.3). Statističkom analizom dobijenih rezultata utvrđeno je da je značajan uticaj, kako navedenih pojedinačnih faktora, tako i njihovih interakcija ( $p < 0,05$ ) na posmatrani biohemijski pokazatelj. Pri tome, razlikama u sadržaju slobodnih sulfhidrilnih grupa najviše doprinosi primenjena temperatura inkubacije glutena i period skladištenja pšenice. Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa se kretao u opsegu od 0,16-1,85  $\mu\text{mol/g}$ , što je u saglasnosti sa rezultatima Pèrez i sar. (2005) i Stauffer (1990). Međutim, neophodno je naglasiti da je utvrđivanje saglasnosti dobijenih rezultata sa nivoima vrednosti iz ostalih naučnih publikacija nemoguće, jer su saopšteni nivoi vrednosti sadržaja sulfhidrilnih grupa uslovljeni drugačijim metodološkim pristupima njihovog određivanja, kao i načinom izražavanja rezultata (Andrews i sar., 1995; Prasada Rao i sar., 2002; Hayta i Schofield, 2004; Puppo i sar., 2005).

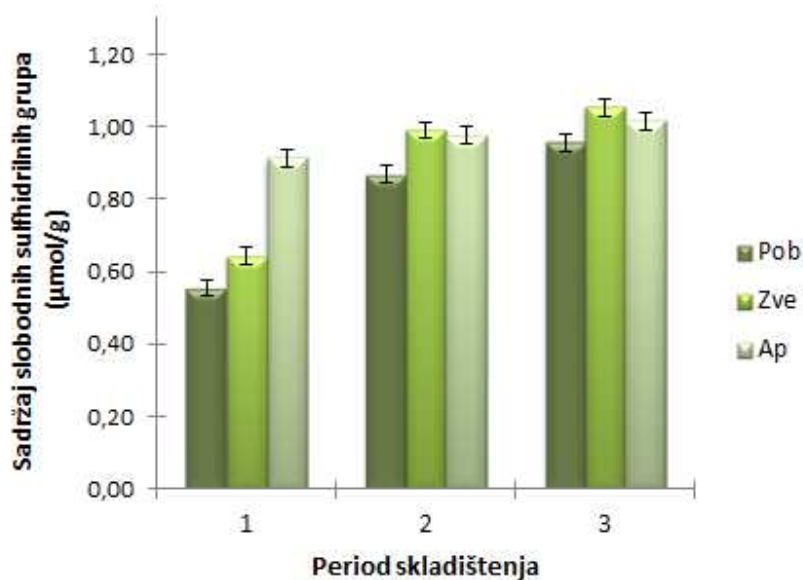
Tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i biohemijske stabilizacije brašna, primetan je skoro identičan trend promene sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa, određenih iz glutena inkubiranog na obe temperature (Slika 5.1A). Najveće razlike u sadržaju sulfhidrilnih grupa ispitivanih uzoraka, javljaju se kod uzoraka brašna od sveže požnjevene pšenice (1), nezavisno od primenjene temperature i vremena inkubacije glutena. Povećanje vremena i temperature inkubacije glutena uticalo je na povećanje sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa, što je u saglasnosti sa rezultatima Pèrez i sar. (2005) koji su ispitivali kinetiku degradacije glutena od pšenice oštećene insektima, u odnosu na gluten dobijen iz zdrave pšenice. Tumačenjem statističkih značajnosti razlika između primenjenih tretmana, može se zaključiti da se prvobitni eksperiment koji je uključivao šest tretmana, može svesti na tri tretmana a da se ne ugrozi tačnost dobijenih rezultata. Eksperiment je moguće izvesti inkubacijom glutena na temperaturi od 30 °C i vremenu inkubacije od 135 minuta, kao i inkubacijom glutena na 37 °C pri vremenu inkubacije od 45 i od 135 minuta (Slika 5.1B).



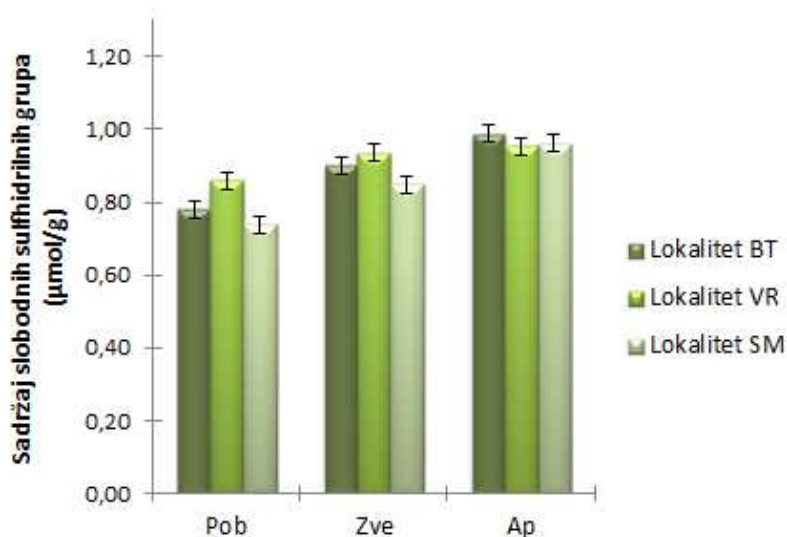
**Slika 5.1.** Promena sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa u zavisnosti od perioda skladištenja (1, 2 i 3) (A) i vremena inkubacije (0, I, II i III) glutena na dve različite temperature (B). Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm 0,95$  LSD.

Ispitivanjem kinetike promene sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i biohemijske stabilizacije brašna, utvrđeno je da je u periodu posležetvenog dozrevanja pšenice primetna značajna razlika između ispitivanih sorti u pogledu vrednosti ovog pokazatelja (Slika 5.2). Naime, sadržaj slobodnih sulfhidrilnih (SH) grupa uzoraka brašna domaćih sorti Pobede i Zvezdane je udvostručen u odnosu na brašno od sveže požnjevene pšenice (Slika 5.2). U periodu tehnološkog dozrevanja brašna razlika u sadržaju slobodnih sulfhidrilnih grupa se smanjuje. Hayta i Schofield (2004) su ustanovili da brašna slabijeg kvaliteta imaju značajno manji sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa, za razliku od brašna boljeg kvaliteta. Uzimajući u obzir ove navode, može se pretpostaviti da uzorci brašna sorti Pobeda i Zvezdana sveže požnjevene pšenice imaju bolji pecivni kvalitet, dok se tokom

ispitivanog perioda svi uzorci izjednačavaju po pecivnom kvalitetu. Ovakve promene tokom ispitivanog perioda naglašavaju neophodnost odležavanja pšenice i brašna, odnosno biohemijske stabilizacije, čime bi se omogućila lakša obrada testa i postizanje ujednačenijeg kvaliteta, kako sirovine tako i gotovog proizvoda - hleba. Posmatrajući po lokalitetima gajenja, uzorci brašna sorte Apač su ispoljili najmanje razlike u sadržaju slobodnih sulfhidrilnih grupa (Slika 5.3).



**Slika 5.2.** Promena sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa u zavisnosti od perioda skladištenja (1, 2 i 3) i ispitivanih sorti pšeničnog brašna. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

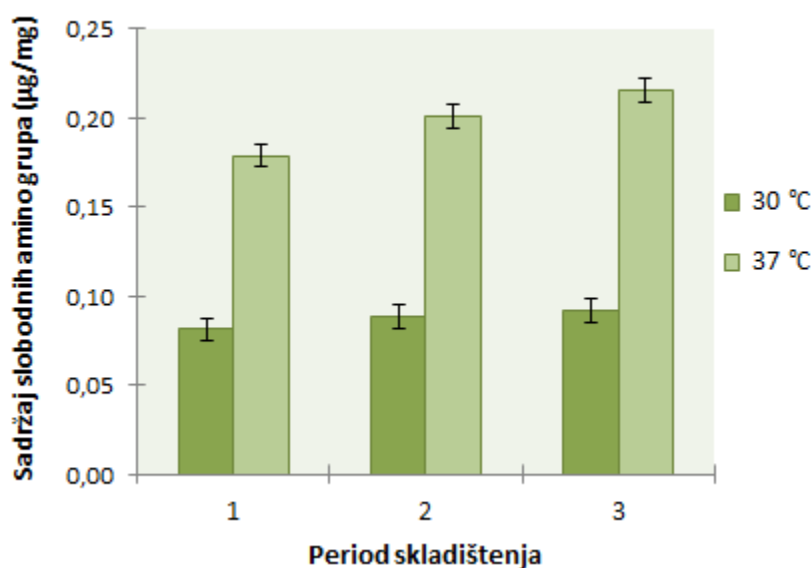


**Slika 5.3.** Promena sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa u zavisnosti od ispitivanih sorti i lokaliteta gajenja pšenice. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

### 5.1.2 Promena sadržaja slobodnih amino grupa tokom perioda posležetvenog dozreivanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna

Tokom posmatranog perioda skladištenja (period posležetvenog dozreivanja pšenice i period biohemijske stabilizacije brašna) sadržaj slobodnih amino grupa se statistički značajno ( $p < 0,05$ ) povećava (0,130-0,154  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) (Slika 5.4).

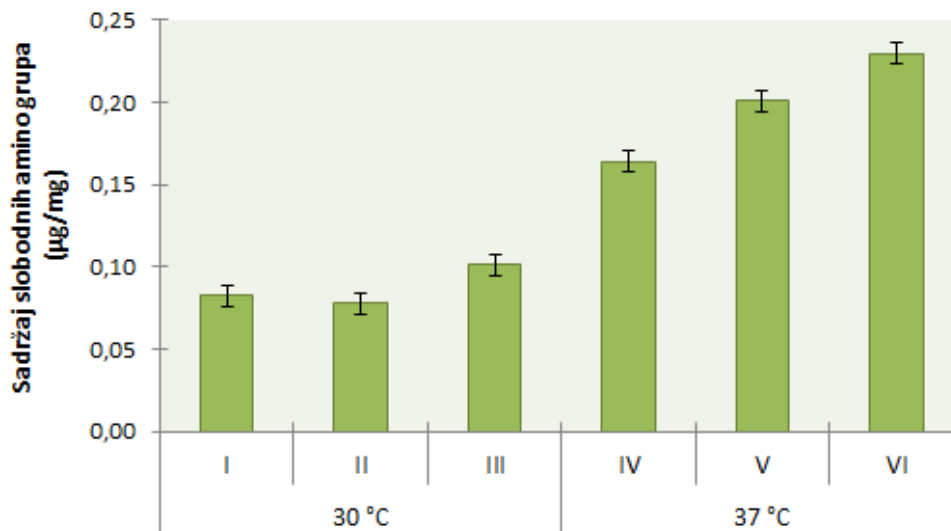
Pozivajući se na tvrdnju Shelke i sar. (1992) da se pecivni kvalitet brašna poboljšava sa posležetvenim i tehnološkim dozreivanjem pšenice i brašna, onda se povećanje sadržaja slobodnih amino grupa može smatrati faktorom koji utiče na poboljšanje kvaliteta brašna. Intenzitet povećanja sadržaja slobodnih amino grupa je veći tokom posležetvenog dozreivanja pšenice u odnosu na period stabilizacije brašna, što je u skladu sa navodima Shelke i sar. (1992) da je neposredno nakon mlevenja, brašno od sveže požnjevene pšenice podležno intenzivnim promenama.



**Slika 5.4.** Promena sadržaja slobodnih amino grupa u zavisnosti od perioda skladištenja (1, 2 i 3) i temperature inkubacije glutena. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm 0,95$  LSD.

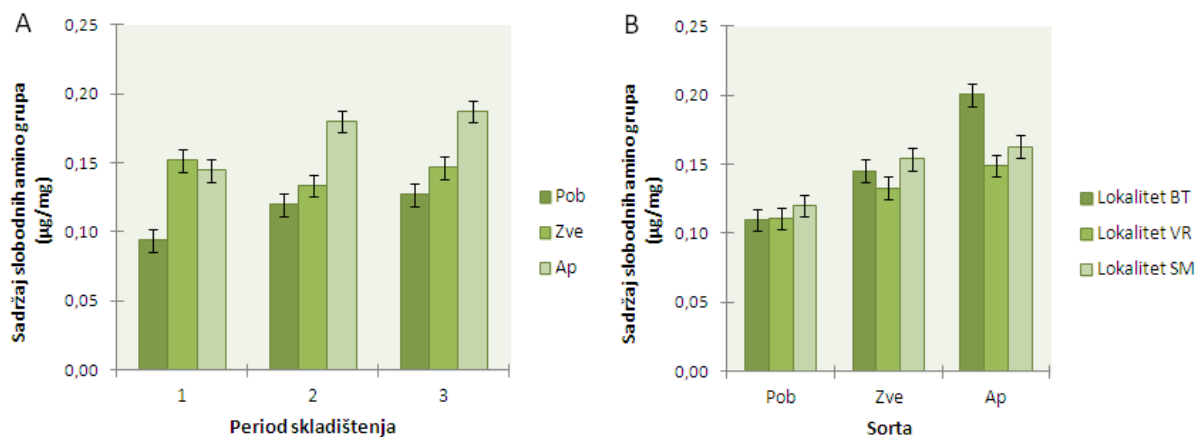
Takođe, sadržaj slobodnih amino grupa se povećava i sa povećanjem temperature inkubacije glutena sa 30 °C (0,081–0,092  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) na 37 °C (0,179–0,215  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ). Uticaj vremena inkubacije pri temperaturi od 30 °C je očigledan tek u 135-om minutu, dok u slučaju glutena inkubiranog na 37 °C, sa produžavanjem vremena inkubacije se dobijaju statistički veće vrednosti posmatranog biohemijskog pokazatelja (0,164–0,230  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) ( $p < 0,05$ ) (Slika 5.5). Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima Aja i sar. (2004) koji su utvrdili da se značajno veći sadržaj slobodnih amino kiselina i malih peptida, javlja

nakon inkubacije glutena na temperaturi od 37 °C u vremenu trajanja od 180 minuta, kao posledica hidrolize glutena usled povećane proteolitičke aktivnosti.



**Slika 5.5.** Promena sadržaja slobodnih amino grupa u zavisnosti od temperature i vremena inkubacije glutena. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

Posmatrajući kinetiku promene sadržaja slobodnih amino grupa u zavisnosti od ispitivanih sorti, može se zaključiti da su najintenzivnije promene u vrednosti ovog pokazatelja zapažene tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice (Slika 5.6A). Uzorci brašna sorti Apač i Pobeda pokazuju, za ceo posmatrani period, trend povećanja vrednosti ovog pokazatelja, što nije slučaj za sortu Zvezdana. Naime, brašno ove sorte ne pokazuje statistički značajnu razliku u sadržaju slobodnih amino grupa između početnog i krajnjeg trenutka dozrevanja, što implicira na mogućnost donošenja pogrešnog zaključka da se ovaj pokazatelj ne menja. U pogledu uticaja lokaliteta gajenja, najveće razlike u sadržaju slobodnih amino grupa su utvrđene kod ispitivanih uzoraka brašna sorte Apač (Slika 5.6B).



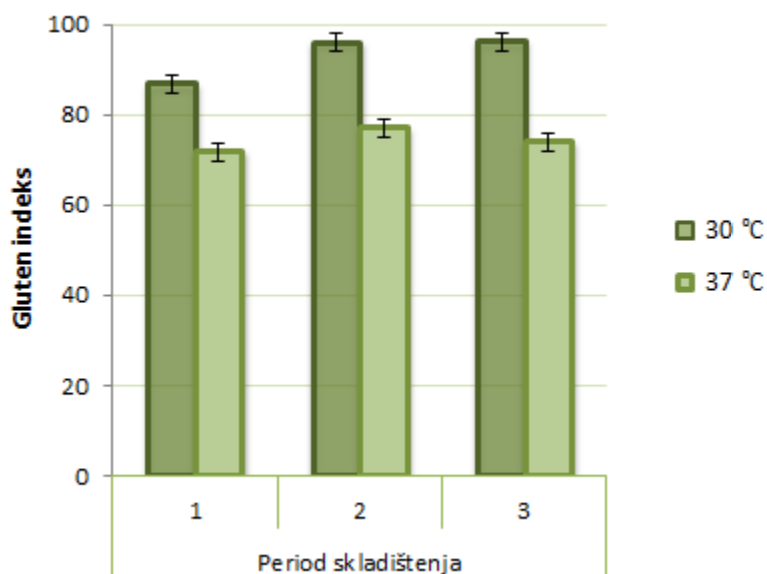
**Slika 5.6.** Promena sadržaja slobodnih amino grupa u zavisnosti od perioda skladištenja i sorti (A); Promena sadržaja slobodnih amino grupa u zavisnosti od sorti i lokaliteta gajenja (B). Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

### 5.1.3 Vrednosti gluten indeksa tokom perioda poslešetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna

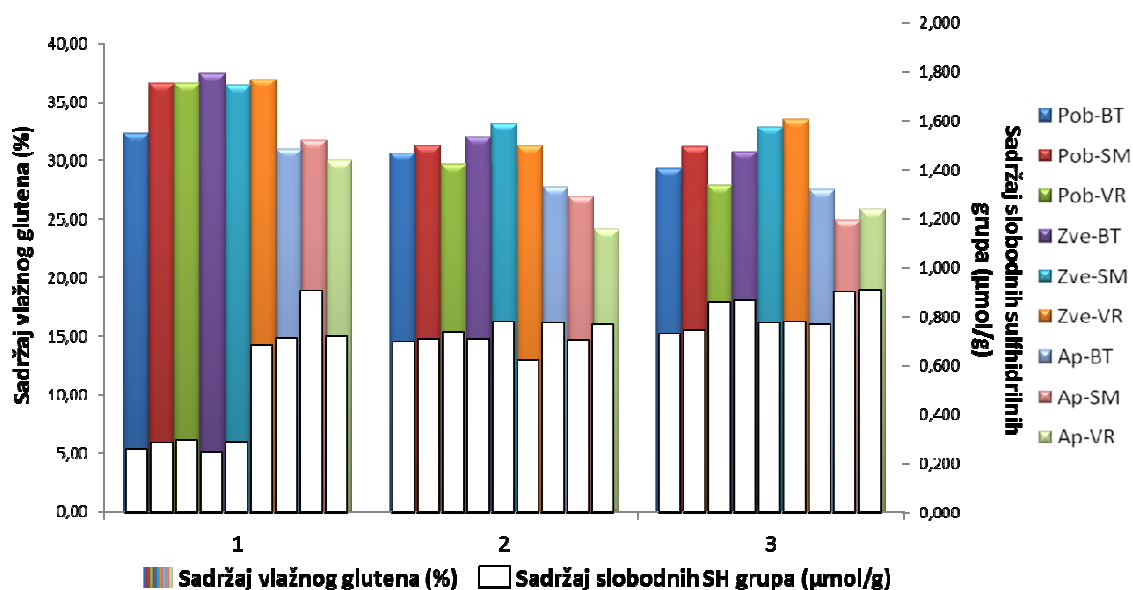
Na Slici 5.7 prikazani su rezultati određivanja gluten indeksa po standardnoj (GIS) (na 30 °C) i modifikovanoj (GIM) (na 37 °C) metodi tokom ispitivanog perioda skladištenja (1, 2, 3).

Određene vrednosti standardnog (GIS) i modifikovanog gluten indeksa (GIM) rastu tokom perioda poslešetvenog dozrevanja pšenice ( $p < 0,05$ ), ukazujući na jačanje strukture glutena (Slika 5.7). Posmatrajući vrednosti sadržaja vlažnog glutena, uočava se suprotan trend promena i u odnosu na gluten indeks (GIS) i u odnosu na sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa (Slika 5.8). Prema Johansson i sar. (2013) tokom sazrevanja pšenice u polju dolazi do reorganizacije gluteninskog makropolimera, kao posledica razmene slobodnih sulfhidrilnih grupa i disulfidnih veza (SH-SS veza), pri čemu se povećava sadržaj disulfidnih veza. Ovi mehanizmi se verovatno nastavljaju tokom poslešetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije brašna, pa se povećanje vrednosti gluten indeksa može objasniti kao posledica jačanja strukturnih veza unutar makropolimera glutenina. Pretpostavlja se da tokom obrade testa, glutenini i  $\omega$ -glijadini (sumporom siromašni) učestvuju u formiranju polimera preko nekovalentnih veza, dok  $\alpha$ -,  $\beta$ -, i  $\gamma$ -glijadini mogu biti inkorporirani u polimeru glutena intermolekularnim SS vezama (Kuktaite i sar., 2004; Johansson i sar., 2013). Stoga, može se smatrati da povećanje broja raspoloživih SH grupa nastaje usled reorganizacije gluteninskih i glijadinskih frakcija unutar/iz makropolimera glutenina.

Tokom stabilizacije pšeničnog brašna, vrednosti oba gluten indeksa (GIS i GIM) se smanjuju. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Miš (2003), koji navodi da se tokom četiri nedelje skladištenja pšeničnog brašna ne javljaju promene u karakteristikama glutena, dok tokom dužeg skladištenja dolazi do promene u njegovim reološkim karakteristikama.



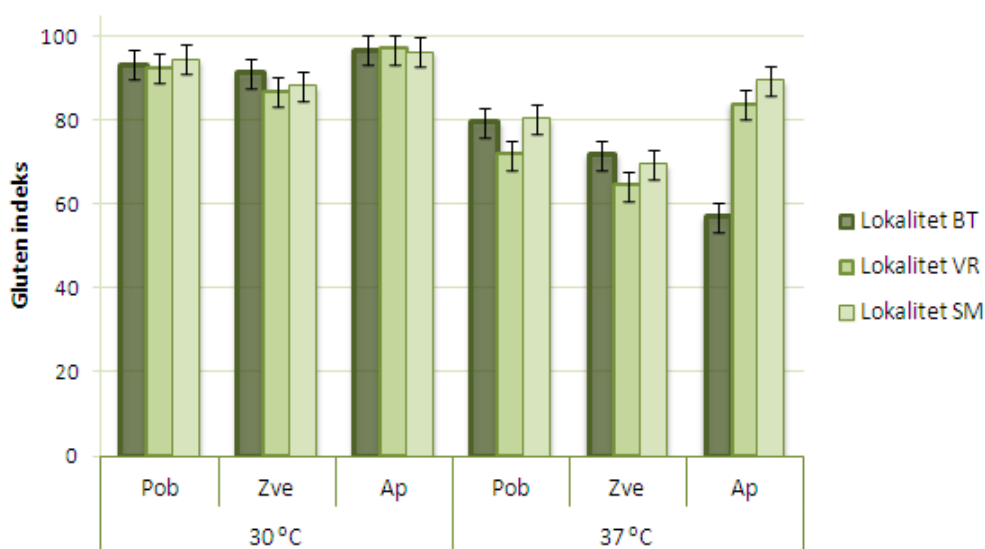
Slika 5.7. Promena vrednosti gluten indeksa u zavisnosti od vremena skladištenja i temperature inkubacije glutena. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD



Slika 5.8. Uporedni prikaz promene sadržaja vlažnog glutena i sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa u zavisnosti od vremena skladištenja.



Vrednosti gluten indeksa dobijenih uz prethodnu inkubaciju glutena na temperaturi od 37 °C, statistički su značajno niže ( $p < 0,05$ ) u odnosu na vrednosti gluten indeksa dobijenih po standardnoj metodi, što je i očekivano kao posledica primenjene optimalne temperature za aktivnost proteolitičkih enzima (Slika 5.9). Ispitivane sorte nisu pokazale razlike u pogledu gluten indeksa određenog po standardnoj metodi, dok su razlike u vrednosti gluten indeksa određenog nakon inkubacije na 37 °C evidentne. Što se tiče lokaliteta gajenja, uzorci sa lokaliteta SM su pokazali najveće vrednosti GIM. Dobijeni rezultati ukazuju kako na uticaj sorte i lokaliteta, tako i njihove interakcije na vrednost GIM, dok su Har Gil i sar. (2011) tokom trogodišnjeg eksperimenta utvrdili da je dominantan uticaj sorte (Slika 5.9).

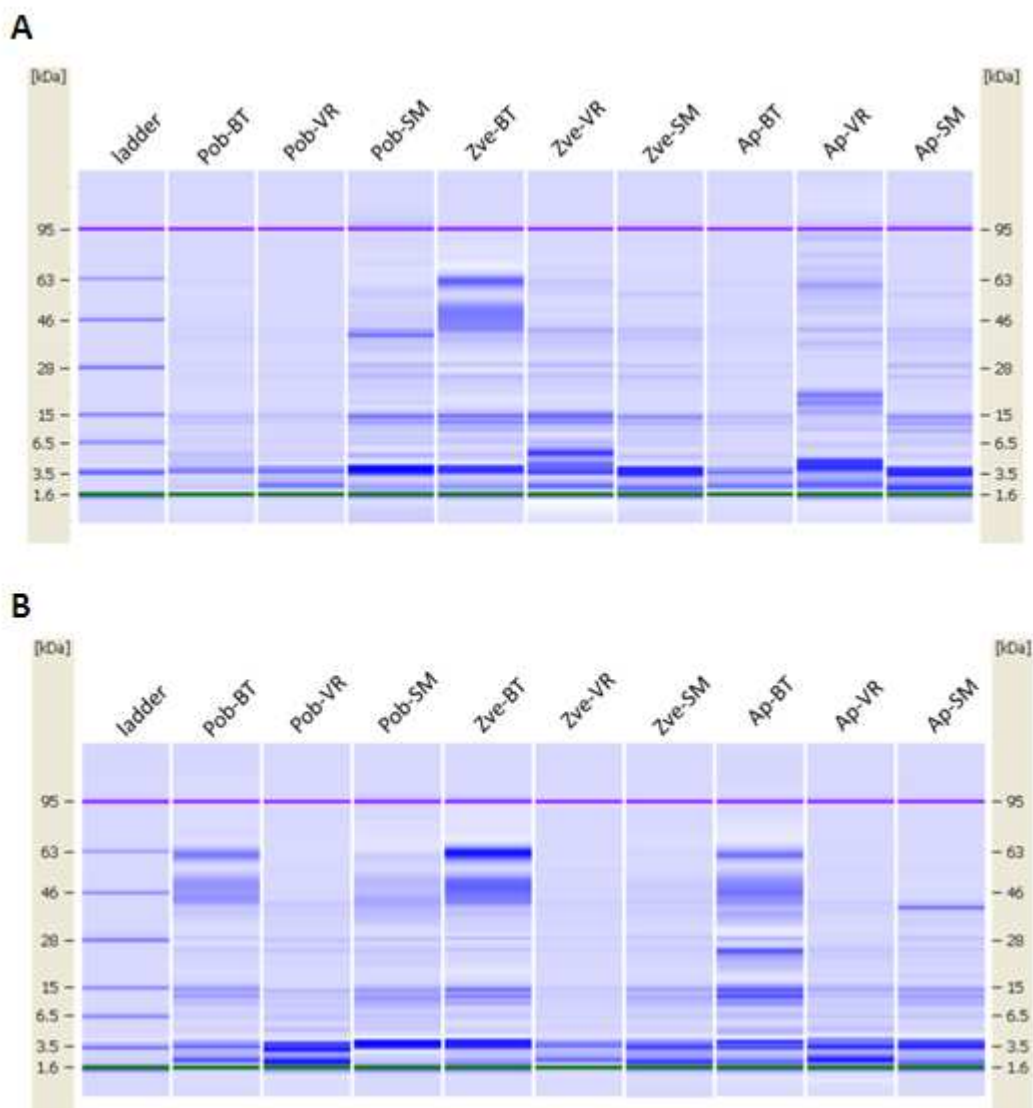


**Slika 5.9.** Vrednosti gluten indeksa u zavisnosti od temperature inkubacije, sorte i lokaliteta gajenja. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD

#### **5.1.4 Karakterizacija albumina sveže požnjevene pšenice i tehnološki dozrelog brašna**

Elektroforetskom karakterizacijom albumina dobijeni su jasni proteinski obrasci u očekivanom rasponu molekularnih masa od 4,5 do 70 kDa (Slika 5.10). Dobijeni rezultati ukazuju na variranje sadržaja albumina tokom ispitivanog perioda skladištenja. Te razlike podrazumevaju nedostatak ili pojavu pikova, odnosno podjedinica albumina u opsegu većih molekularnih masa kod određenih uzoraka, kao i razlike u intenzitetu obojenosti bendova u opsegu manjih molekularnih masa. Uzimajući u obzir da je tokom ispitivanog perioda skladištenja, pšenica bila izložena brojnim biohemijskim i koloidnim promenama (Zhou i sar., 2002), može se pretpostaviti da su razlike u sadržaju albumina

posledica njihove agregacije ili povezivanja sa drugim komponentama (Gupta i sar., 1991), što dodatno otežava postupak ekstrakcije albumina. Izdvojene frakcije albumina u intervalu molekulskih masa od 40 do 70 kDa, pokazale su da se uzorci brašna sa lokaliteta BT odlikuju značajnim kvantitativnim razlikama u pomenutom opsegu molekulskih masa, u odnosu na druge ispitivane uzorke. Ovaj lokalitet gajenja je karakterisala najmanja suma padavina za posmatrani period vegetacije.



**Slika 5.10.** Softverska simulacija izgleda gela sa razdvojenim frakcijama albumina sveže požnjevene pšenice (A) i pšeničnog brašna nakon njegove potpune stabilizacije (B)

### **5.1.5 Proteolitička aktivnost tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna**

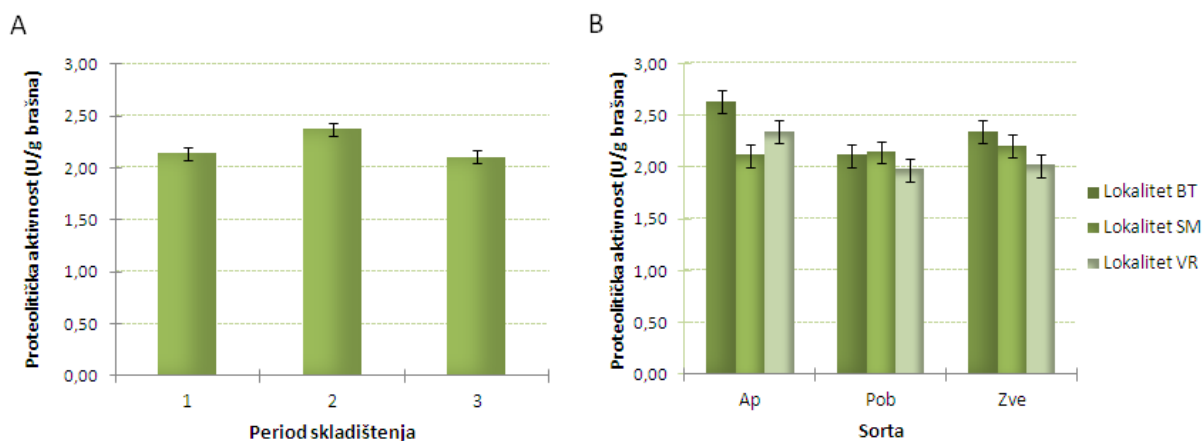
Na Slici 5.11 prikazani su rezultati određivanja aktivnosti proteolitičkih enzima tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna.

Izmerene vrednosti ukupne proteolitičke aktivnosti ispitivanih uzoraka su se kretale u opsegu od 1,75 do 3,05 U/g brašna. S obzirom da se radi o brašnu tip 500, ove vrednosti su visoke u poređenju sa rezultatima Aalami i sar. (2007) koji su ispitivali nivoe proteolitičke aktivnosti brašna od celog zrna durum i obične hlebne pšenice (1,1–5,1 U/g). Moguće objašnjenje ovih razlika u nivoima aktivnosti proteolitičkih enzima je u korišćenju različitih supstrata za enzimsku razgradnju jer je poznato da proteolitički enzimi u različitim tkivima zrna imaju različite specifičnosti. Kao supstrat, Aalami i sar. (2007) su koristili azokazein dok je u ovom radu kao supstrat korišćen hemoglobin. U endospermu su uglavnom prisutni hemoglobin degradirajući proteolitički enzimi, dok su u spoljašnjim delovima zrna prisutni enzimi koji pokazuju specifičnost prema azokazeinu (Preston i sar, 1978).

Najveće vrednosti proteolitičke aktivnosti su izmerene u tački 2 koja odgovara krajnjoj fazi dozrevanja pšenice (Slika 5.11A). U prvom periodu skladištenja (od tačke 1 do tačke 2) uzorci su čuvani u zrnu, dok drugi period obuhvata skladištenje uzoraka brašna od fiziološki dozrele pšenice, koja zbog uklonjenog aleuronskog sloja, poseduje značajno manji sadržaj enzima (Rani i sar., 2001).

Karakterističan je i trend smanjivanja ukupne proteolitičke aktivnosti ispitivanih uzoraka na kraju druge faze skladištenja, u odnosu na izmerene početne vrednosti (Slika 5.11A).

Posmatrano na nivou ispitivanih sorti i lokaliteta sa kojih potiču, izmerene vrednosti proteolitičke aktivnosti uzoraka sa lokaliteta SM se skoro međusobno ne razlikuju, dok su najveće vrednosti ukupne proteolitičke aktivnosti zabeležene kod uzoraka sorte Apač sa lokaliteta BT (Slika 5.11B). Naime, uzorci brašna ove sorte su, u odnosu na ispitivane lokalitete, pokazali najveće razlike u vrednostima ovog pokazatelja. S druge strane, uzorci brašna sorte Pobeda manifestuju vrlo male razlike u odnosu na poreklo uzoraka kako u pogledu proteolitičke aktivnosti tako i drugih ispitivanih pokazatelja (sadržaj slobodnih amino grupa, gluten indeks), što ukazuje na značajniji uticaj sorte na vrednosti ispitivanih pokazatelja, od uticaja mikroklimatskih uslova.



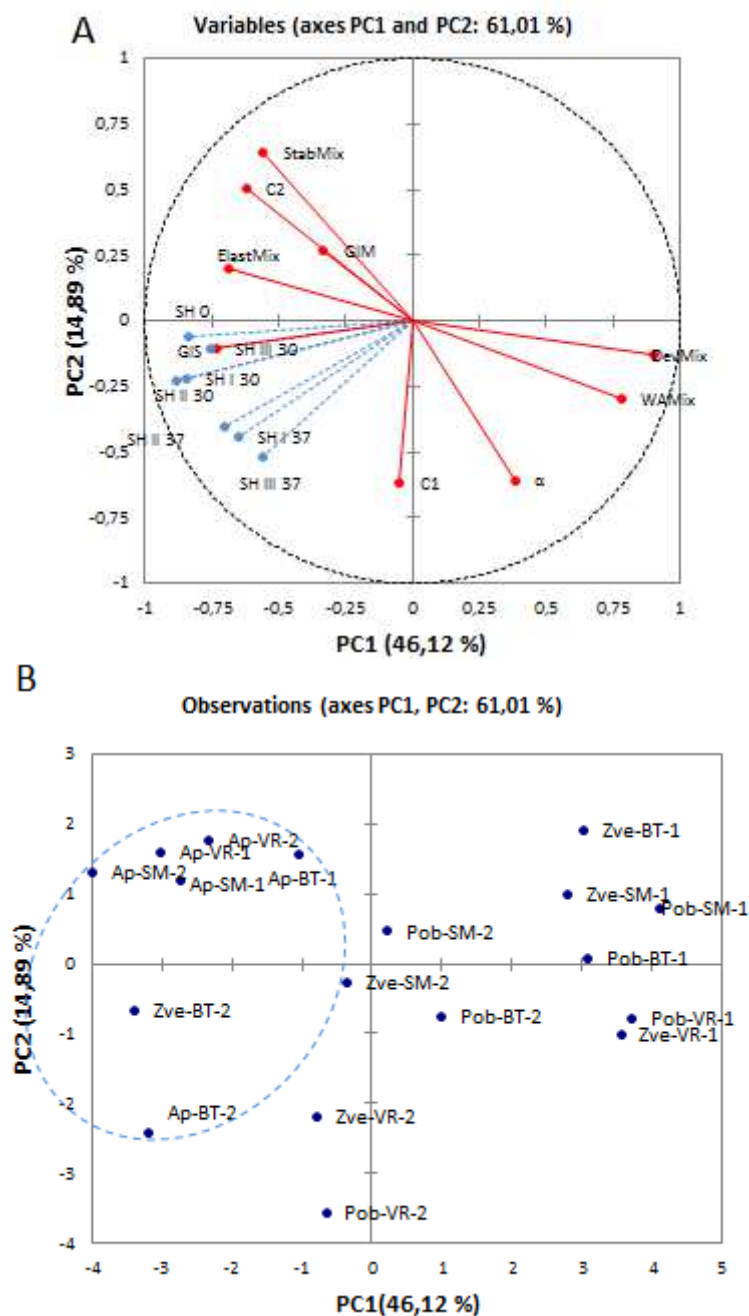
**Slika 5.11.** Aktivnost proteolitičkih enzima u zavisnosti od perioda skladištenja (A), sorte i lokaliteta gajenja (B). Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD

### 5.1.6 Analiza glavnih komponenti primenjena na rezultate odabranih biohemijskih i reoloških pokazatelja kvaliteta pšenice za ispitivani period skladištenja

Kako bi se stekao uvid u međusobne odnose ispitivanih promenljivih, primenjena je analiza glavnih komponenti (*Principal Component Analysis* –PCA). Ovom statističkom metodom obuhvaćeni su svi uzorci pšenice i brašna, kao i vrednosti odabranih biohemijskih i reoloških pokazatelja kvaliteta pšenice za ispitivani period skladištenja. U cilju vizualizacije međusobnih odnosa svih merenih veličina i jednostavnije interpretacije, rezultati su grafički predstavljeni kroz projekciju svojstvenih vektora ispitivanih promenljivih u faktorskim ravnima (*loading plot*- prikaz promenljivih, *score plot*- prikaz pozicioniranja uzoraka u odnosu na glavne komponente). Glavne komponente su linearne kombinacije izvornih promenljivih. Korelacioni matriks merenih promenljivih je zasnovan na Pearson-ovim korelacijama. Ukoliko su u korelacionom PCA krugu dve promenljive udaljene od centra i blizu jedna drugoj, one su u značajnoj pozitivnoj korelaciji ( $r$  blizak 1). Ukoliko su ortogonalno orijentisane, promenljive nisu u korelaciji ( $r$  blizak 0). Ukoliko su na suprotnim stranama centra, onda su u značajno negativnoj korelaciji ( $r$  blizu -1).

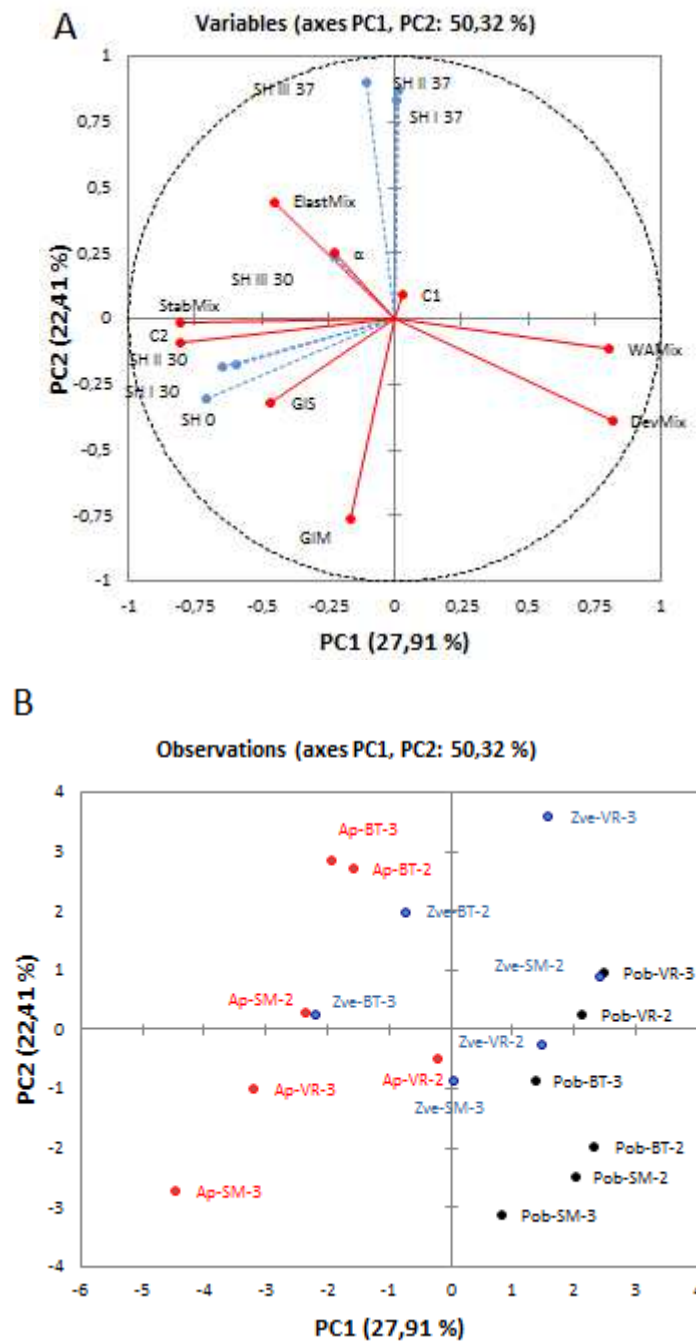
### **5.1.6.1 Analiza glavnih komponenti primenjena na rezultate određivanja sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa i odabranih reoloških pokazatelja kvaliteta tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna**

PC analiza je izvedena pojedinačno za period posležetvenog dozrevanja pšenice i period biohemijske stabilizacije brašna za sledeće pokazatelje kvaliteta: sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa određenim pri različitim tretmanima glutena, pokazatelji kvaliteta određenih Miksolabom, standardni gluten indeks i modifikovani gluten indeks. Prve četiri PC komponente objašnjavaju 80,22% od ukupne varijabilnosti osnovnog seta podataka dobijenih iz uzoraka tokom posležetvenog dozrevanja pšenice. Prva PC1 komponenta (46,12%) povezana je sa sadržajem slobodnih sulfhidrilnih grupa u svim ispitivanim uslovima tretmana vlažnog glutena, sa moći upijanja vode i vremenom razvoja testa merenih Miksolabom, i sa vrednostima gluten indeksa određenog po standardnoj metodi (Slika 5.12A). Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa (u svim ispitivanim uslovima tretmana vlažnog glutena) nalazi se gotovo pod pravim uglom u odnosu na pokazatelje kvaliteta određenih miksolabom (stabilitet StabMix i elastičnost ElastMix testa), što znači da su oni međusobno nezavisni. Takođe, sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa je u jakoj korelaciji sa gluten indeksom određenog po standardnoj metodi. Posmatrajući grafik distribucije uzoraka (*score plot*) jasno je uočljivo grupisanje uzoraka, pri čemu se sorta Apač izdvojila u odnosu na pokazatelje Miksolaba (stabilitet i elastičnost testa) (Slika 5.12B). Kod domaćih sorti ne postoji jasna podela u pogledu sortne pripadnosti, već je grupisanje posledica biohemijskih promena kroz koje pšenica prolazi tokom posležetvenog dozrevanja.



**Slika 5.12.** PCA loading plot odabranih pokazatelja kvaliteta (A) i PCA score plot distribucije uzoraka (B) za period poslešetvenog dozrevanja pšenice

Na Slikama 5.13A,B su prikazani rezultati PC analize za uzorke tokom perioda biohemijske stabilizacije brašna. Prve četiri PC komponente objašnjavaju 79,68% od ukupne varijabilnosti osnovnog seta podataka, dobijenih iz uzoraka tokom poslešetvenog dozrevanja pšenice. Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa određenih iz glutena nakon njegove inkubacije na 37 °C, je u negativnoj korelaciji sa gluten indeksom određenim po modifikovanoj metodi ( $r < -0,51$ ,  $p < 0,05$ ). Na odgovarajućem grafiku distribucije uzoraka (Slika 5.13B) primetno je njihovo jasnije diferenciranje u odnosu na sortnu pripadnost.

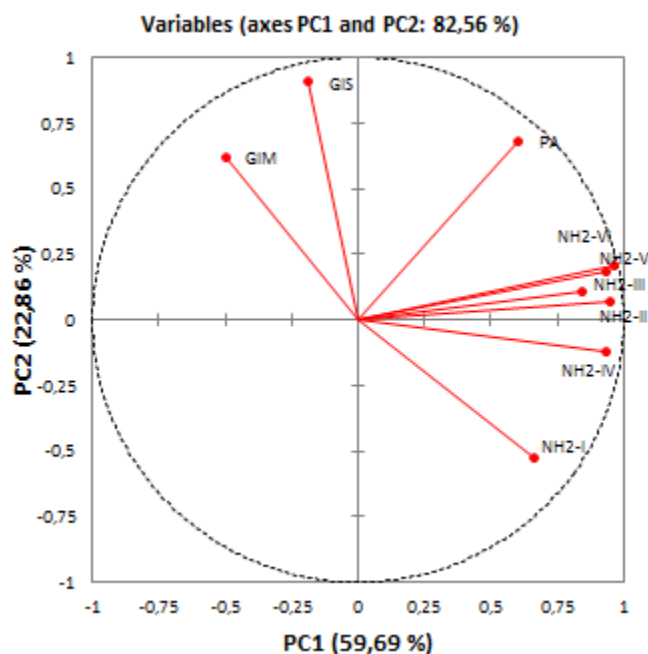


**Slika 5.13.** PCA loading plot odabranih pokazatelja kvaliteta (A) i PCA score plot distribucije uzoraka(B) tokom perioda biohemijske stabilizacije pšeničnog brašna

### 5.1.7 Analiza glavnih komponenti primenjena na rezultate određivanja sadržaja slobodnih amino grupa i odabranih biohemijskih pokazatelja kvaliteta tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije pšeničnog brašna

Radi lakšeg sagledavanja rezultata, PC analiza je urađena zasebno na vrednostima ispitivanih pokazatelja (sadržaj slobodnih amino grupa određen pri različitim tretmanima glutena, proteolitička aktivnost (PA), standardni (GIS) i modifikovani (GIM) gluten indeks) u svim ispitivanim uzorcima sveže požnjevene pšenice, zatim u uzorcima nakon sazrevanja pšenice, i konačno nakon biohemijske stabilizacije brašna.

Prve četiri PC komponente objašnjavaju 95,97% od ukupne varijabilnosti osnovnog seta podataka na ispitivanim uzorcima sveže požnjevene pšenice. Prva PC1 komponenta (59,69%) povezana je sa sadržajem slobodnih amino grupa u svim ispitivanim uslovima tretmana vlažnog glutena i sa proteolitičkom aktivnošću (Slika 5.14). Sadržaj slobodnih amino grupa određen nakon tretmana V (inkubacija vlažnog glutena 90 minuta na 30 °C i 180 minuta na 37 °C) je u značajnoj korelaciji sa proteolitičkom aktivnošću ( $r=0,74$ ,  $p<0,05$ ).

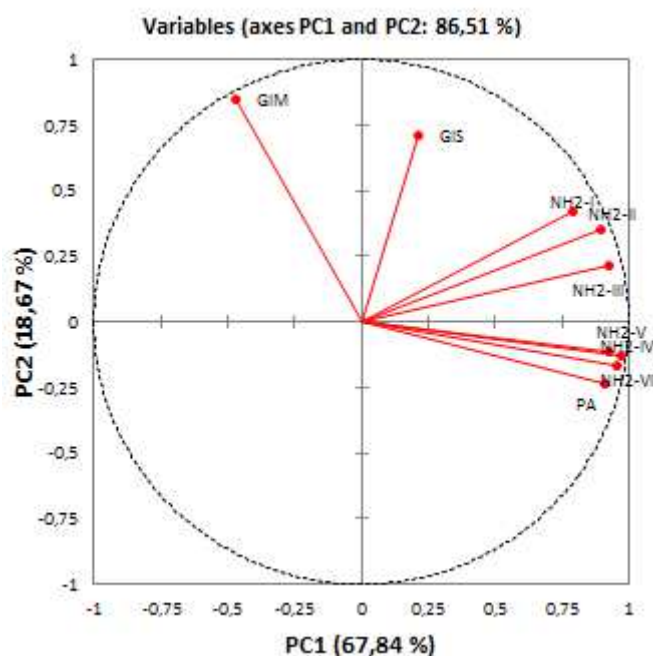


**Slika 5.14.** PCA loading plot za ispitivane pokazatelje kvaliteta pšeničnog brašna uzoraka sveže požnjevene pšenice

Slika 5.15 prikazuje rezultate PC analize ispitivanih pokazatelja kvaliteta uzoraka pšenice nakon posležetvenog sazrevanja (tačka 2). Prve dve PC komponente objašnjavaju 86,51% od ukupne varijabilnosti ispitivanog seta podataka. Prva PC1



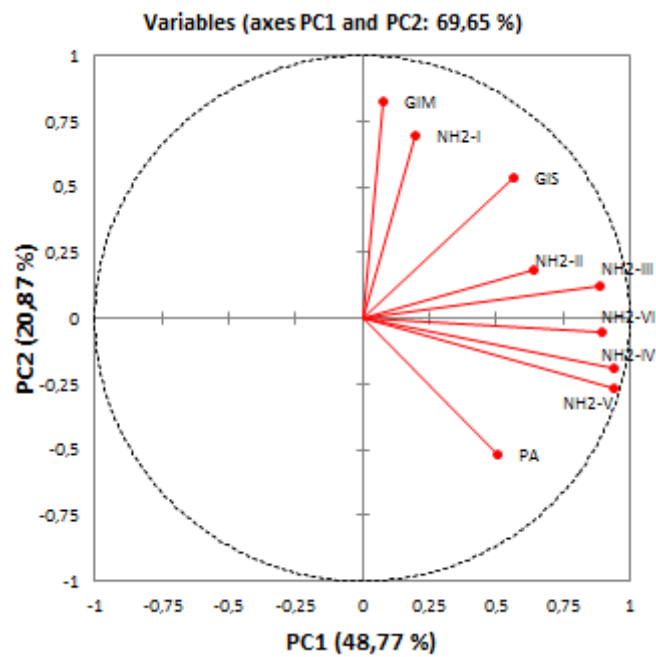
komponenta, koja objašnjava najviše varijansi (67,84%), je povezana sa sadržajem slobodnih amino grupa i proteolitičkom aktivnošću. Druga PC komponenta je u bliskoj vezi sa standardnim i modifikovanim gluten indeksom (Slika 5.15). Procesi koji su se odvijali tokom perioda dozrevanja pšenice doprineli su jačim korelacijama između sadržaja slobodnih amino grupa i proteolitičke aktivnosti (Slika 5.14 i 5.15), što se ogleda kroz bliže pozicioniranje vektora ovih promenljivih. Sadržaj slobodnih amino grupa određen nakon prethodnog tretmana glutena (NH2-II, NH2-III, NH2-IV, NH2-V i NH2-VI) je u statistički značajnoj korelaciji sa proteolitičkom aktivnošću ( $r=0,73$ ;  $0,81$ ;  $0,75$ ;  $0,91$  odnosno  $0,95$ ) ( $p<0,05$ ). Na osnovu PC analize, može se zaključiti da se određivanje sadržaja slobodnih amino grupa, kao indikatora oštećenja primarne strukture proteina usled prisutnih proteolitičkih enzima, može izvesti na glutenu samo primenom tretmana V ili VI ( $r=0,908$  i  $r=0,950$ ).



**Slika 5.15.** PCA loading plot za ispitivane pokatelje kvaliteta uzoraka brašna nakon završenog poslešetvenog dozrevanja sveže požnjevene pšenice

Slika 5.16 prikazuje rezultate PC analize ispitivanih pokazatelja kvaliteta uzoraka brašna nakon potpune biohemijske stabilizacije. Prve dve PC komponente (Slika 5.16) objašnjavaju 69,65% od ukupne varijabilnosti osnovnog seta podataka. Prva PC1 komponenta (48,77%) je povezana sa sadržajem slobodnih amino grupa u III, IV, V i VI uslovima tretmana vlažnog glutena, kao i sa vrednostima gluten indeksa po standardnoj metodi. Nisu utvrđene statistički značajne korelacije između vrednosti slobodnih amino grupa i proteolitičke aktivnosti. Razlike u koeficijentima korelacije između sadržaja slobodnih amino grupa i proteolitičke aktivnosti pre i posle biohemijske stabilizacije brašna, mogu se objasniti činjenicom da je smanjena vrednost ukupne proteolitičke

aktivnosti svih ispitivanih uzoraka nakon biohemijske stabilizacije brašna (Slika 5.15 i 5.16).



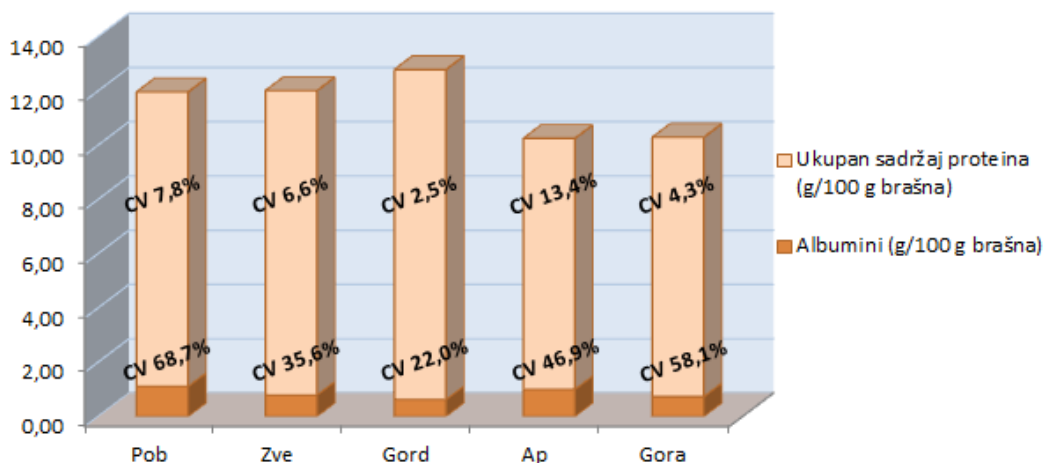
**Slika 5.16.** PCA loading plot za ispitivane pokatelje kvaliteta uzoraka brašna nakon biohemijske stabilizacije

## **5.2 Karakteristike pšeničnog brašna u proizvodnoj 2011. godini**

### **5.2.1 Karakterizacija albumina pšeničnog brašna**

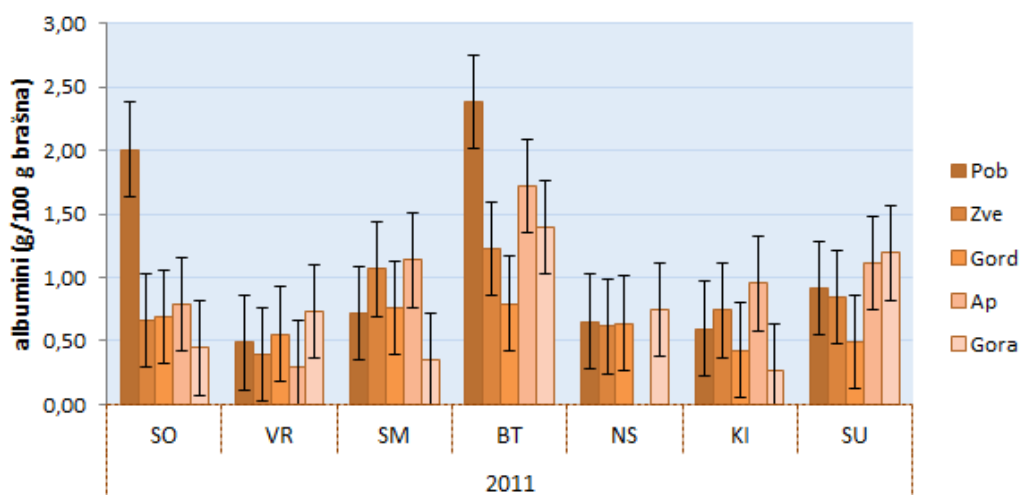
Na Slikama 5.17 i 5.18 prikazani su rezultati određivanja relativnog udela elektroforetski određenih albumina u odnosu na ukupan sadržaj proteina pšeničnog brašna, i u zavisnosti od ispitivanih sorti i lokaliteta.

U ispitivanim uzorcima pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine, ukupan sadržaj proteina se kretao od 8,0 do 13,2%, dok se sadržaj albumina kretao od 2,4% do 20,3% od ukupne količine proteina (Slika 5.17). Broj bendova albuminskih frakcija varirao je od 17 (SO-Pob) do 33 (SM-Gora) u opsegu molekulskih masa od 5 do 65 kDa, što je u saglasnosti sa rezultatima objavljenim od strane drugih autora (Chiang i sar., 2006; Balázs i sar., 2012). Široka varijabilnost dobijenih rezultata sadržaja albumina je uslovljena brojnim faktorima i prvenstveno zavisi od genetske pozadine (sorta), uslova gajenja (prvenstveno klimatski uslovi i zemljište) i primenjenog metoda ekstrakcije. Udeo albumina je uslovljen i sadržajem ukupnih proteina (DuPont i sar., 2005). Takođe, postoje indicije o prisustvu albumina u glutenskoj fazi koji ostaju zarobljeni u mreži glutena nakon uklanjanja u vodi rastvorljivih proteina, što dodatno otežava separaciju i kvantifikaciju albumina (Kuktaite i sar., 2003). Tome u prilog ide i činjenica da HMW albumini teže da formiraju polimere međusobnim povezivanjem, dok određeni HMW albumini, koji se smatraju  $\beta$ -amilazama, mogu formirati disulfidne veze sa LMW gluteninima (Gianibelli i sar., 2001). Osim toga, brojne studije, bazirane na različitim tehnikama frakcionisanja, izolacije i identifikacije proteina, navode da polimeri neglutenskih proteina čine nezanemarljiv deo ukupnih polimera pšenice (Veraverbeke i Delcour, 2002).

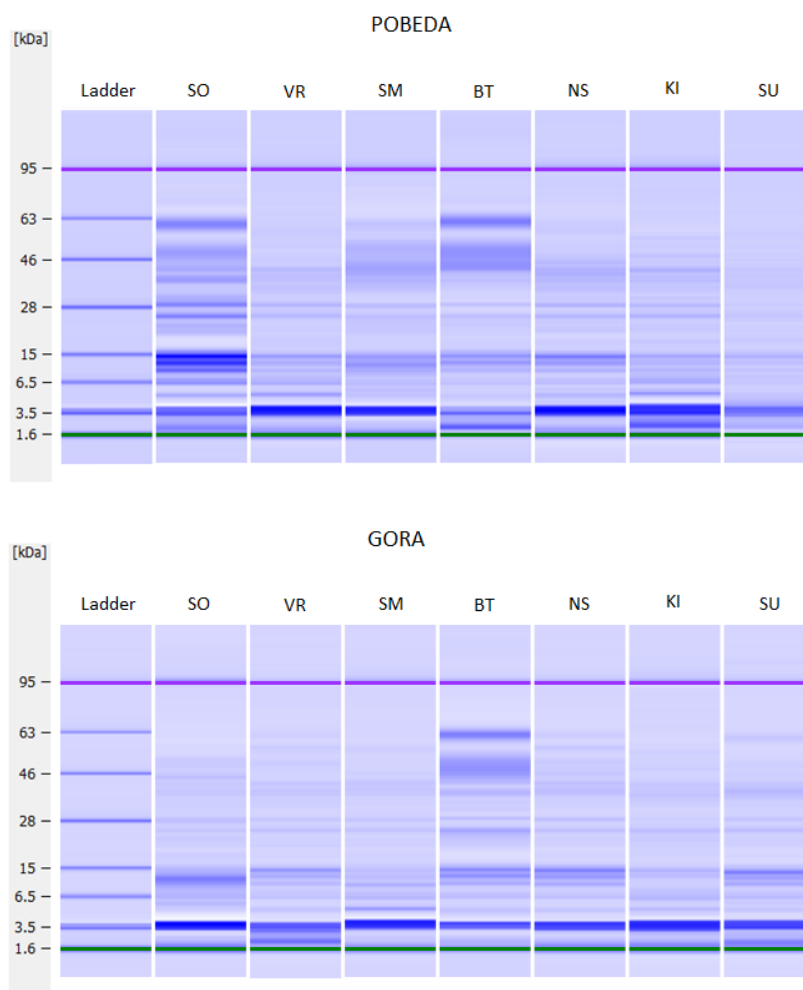


**Slika 5.17.** Relativni udeo elektroforetski određenih albumina u odnosu na ukupan sadržaj proteina brašna različitih sorti pšenice iz 2011. proizvodne godine

Dobijeni rezultati ukazuju da se udeo albuminske frakcije razlikuje i u zavisnosti od sorte i lokaliteta, pri čemu je značajniji uticaj lokaliteta, o čemu svedoče vrednosti koeficijenta varijacije (Lokalitet 0,49-1,50 g/100 g brašna; Sorta 0,62-1,11 g/100 g brašna) (Slika 5.18). Izuzetak čine uzorci brašna sorte Gordana, koja imaju najmanji i relativno ujednačen udeo albuminske frakcije na svim ispitivanim lokalitetima. Ispitivani uzorci brašna ove sorte su se odlikovali i najvećim sadržajem ukupnih proteina (Slika 5.17 i 5.18). Najveće razlike u sadržaju albumina za posmatrane lokalitete, imali su uzorci brašna sorti Pobeda i Gora, o čemu svedoči i izgled gela elektroforetski razdvojenih frakcija albumina, gde se te razlike manifestuju kroz razlike u broju proteinskih bendova, kao i u intenzitetu njihove obojenosti u celom opsegu molekulskih masa (Slika 5.19). Što se tiče lokaliteta, najveće razlike u sadržaju albumina za sve ispitivane sorte pšenice su dobijene za lokalitete SO i BT.

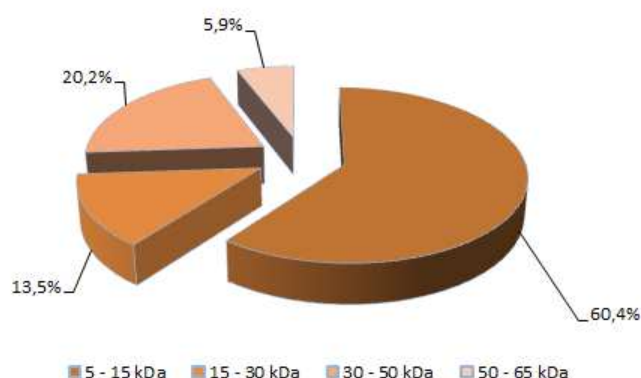


**Slika 5.18.** Uticaj sorte i lokaliteta gajenja na sadržaj elektroforetski određenih albumina uzoraka pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.



**Slika 5.19.** Softverska simulacija izgleda gela sa razdvojenim frakcijama albumina uzoraka brašna sorti Pobeda i Gora sa različitih lokaliteta gajenja (2011. proizvodna godina).

Za potrebe analiziranja povezanosti albumina sa tehnološkim kvalitetom i enzimskim statusom uzoraka pšeničnog brašna, ukupni albumini su podeljeni na frakcije koje obuhvataju proteinske bendove iz četiri intervala molekularnih masa. Intervali su odabrani na osnovu dobijenih rezultata, tj. izgleda elektroforegrama koji su imali zajednički obrazac pozicija i frekvencija molekularnih masa. Definisani su sledeći intervali molekularnih masa: 5–15 kDa; 15–30 kDa; 30–50 kDa; 50–65 kDa. Frakcija koja se nalazi u opsegu molekularnih masa 5-15 kDa (Slika 5.20) čini više od polovine ukupne količine albumina (60,4%). U ovom opsegu molekularnih masa je konstatovano da se nalaze inhibitori amilaza (Singh i Skerritt, 2001b; DuPont i sar., 2005). Najmanji sadržaj albuminskih frakcija i najveću varijabilnost, pokazali su svi ispitivani uzorci u opsegu molekularnih masa od 50-65 kDa. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Balázs i sar. (2012), koji su, takođe, ustanovili da su najznačajnije sorte razlike u pogledu koncentracije albumina ustanovljene u opsegu većih molekularnih masa. Sve sorte sa lokaliteta BT su se odlikovale najvećim prosečnim sadržajem ove frakcije.

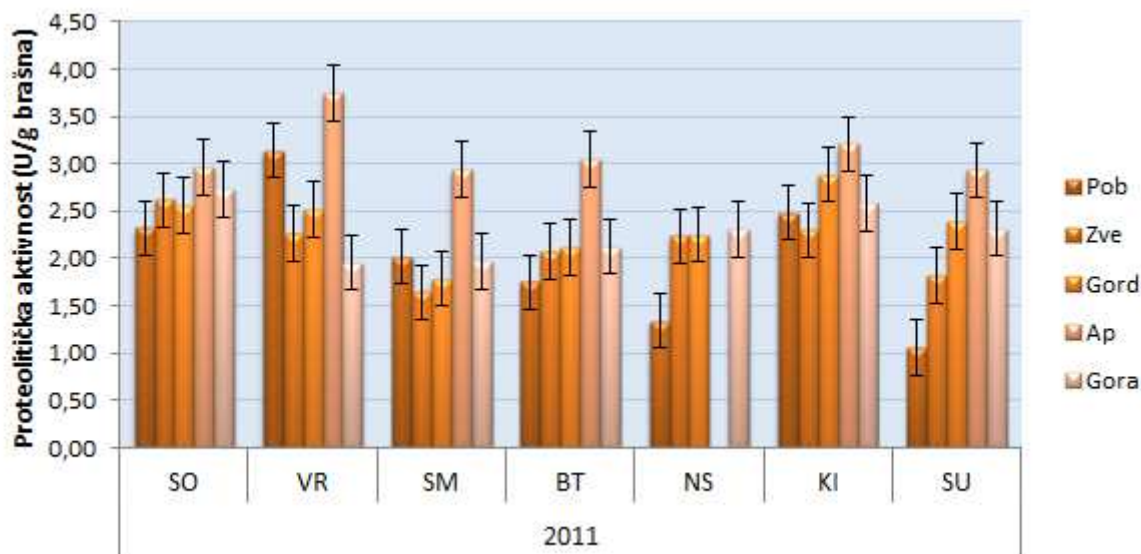


**Slika 5.20.** Udeo pojedinih frakcija albumina u odgovarajućim intervalima molekulske mase uzoraka brašna različitih sorti pšenice iz 2011. proizvodne godine

### 5.2.2 Proteolitička aktivnost pšeničnog brašna

Na Slici 5.21 prikazane su vrednosti proteolitičke aktivnosti brašna u zavisnosti od ispitivanih sorti i lokaliteta.

Vrednosti proteolitičke aktivnosti za sve ispitivane uzorke su se kretale u opsegu od 1,04 do 3,75 U/g brašna. Dobijeni rezultati ukazuju na široku varijabilnost posmatranog pokazatelja, koja je pod uticajem i sorti i lokaliteta, kao i njihove interakcije. Uzorci brašna sorte Apač su se, u odnosu na ostale ispitivane sorte, odlikovali najvećim vrednostima proteolitičke aktivnosti. Najmanje prosečne vrednosti ali i najveći uticaj lokaliteta, zabeleženi su kod uzoraka sorte Pobeda. U pogledu lokaliteta, najveće vrednosti su zabeležene na području SO, VR i KI. Za lokalitet SO je karakterističan najmanji broj tropskih dana i najmanje međusobne sortne razlike u pogledu vrednosti proteolitičke aktivnosti (Slika 4.3).

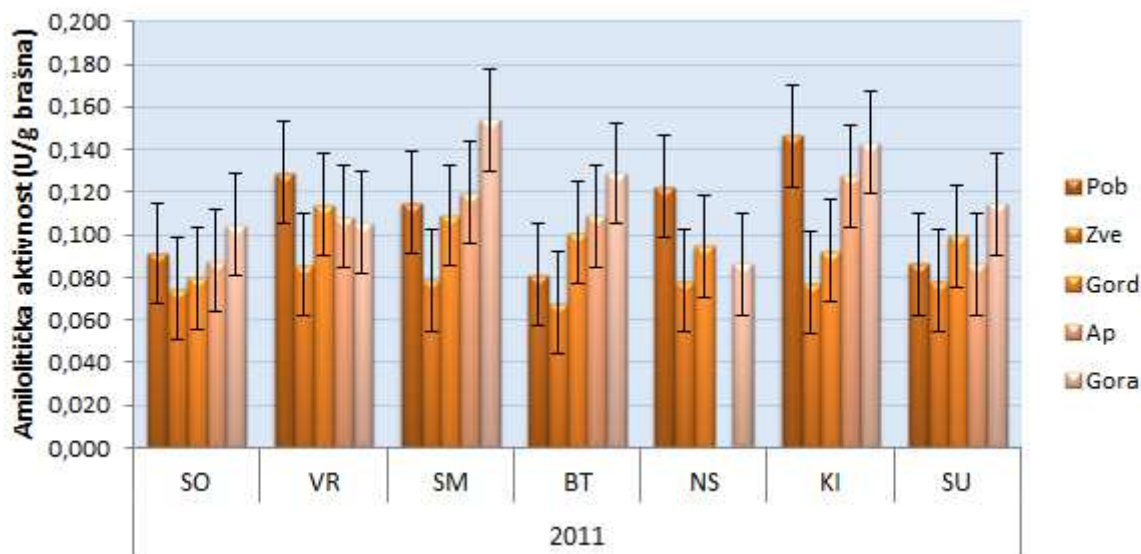


**Slika 5.21.** Uticaj sorte i lokaliteta gajenja na aktivnost proteolitičkih enzima uzoraka pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm 0,95$  LSD.

### 5.2.3 Amilolitička aktivnost pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine

Na Slici 5.22 su prikazane vrednosti amilolitičke aktivnosti brašna u zavisnosti od ispitivanih sorti i lokaliteta.

Vrednosti amilolitičke aktivnosti za sve ispitivane uzorke su se kretale u opsegu od 0,06 do 0,20 U/g brašna. Analizom rezultata statističke obrade ustanovljen je statistički značajan uticaj sorte, lokaliteta i njihove interakcije na vrednost amilolitičke aktivnosti, pri čemu je značajniji uticaj sorte. Najveće prosečne vrednosti ovog pokazatelja zabeležene su na području VR, SM i KI. Kao i u slučaju proteolitičke aktivnosti, najmanje razlike u vrednosti aktivnosti amilolitičkih enzima su zabeležene za lokalitet SO što ukazuje da je enzimska aktivnost pod jakim uticajem mikroklimatskih uslova a ne isključivo sorti (Johansson, 2002). U okviru sorti, izdvojile su se sorta Gora sa najvećim prosečnim vrednostima i sorta Zvezdana sa najmanjim vrednostima amilolitičke aktivnosti. Posmatrano po lokalitetima, uzorci brašna sorte Zvezdana su imali relativno ujednačen nivo aktivnosti, dok su se uzorci brašna sorte Pobjeda odlikovali najvećim razlikama u vrednosti ovog pokazatelja.



**Slika 5.22.** Uticaj sorte i lokaliteta gajenja na aktivnost amilolitičkih enzima ( $\alpha$ -amilaze) uzoraka pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

#### 5.2.4 Tehnološki kvalitet pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine

U cilju sagledavanja uticaja ispitivanih sorti i lokaliteta gajenja na vrednosti empirijskih reoloških pokazatelja kvaliteta (pokazatelji tehnološkog kvaliteta merenih farinografom, ekstenzografom, amilografom, alveografom, Miksolabom, standardni i modifikovani gluten indeks, pecivni i teksturni pokazatelji tehnološkog kvaliteta) primenjena je deskriptivna statistika. Statistička obrada podataka odnosila se na 5 sorte (Pobeda, Zvezdana, Gordana, Apač, Gora) gajenih na sedam lokaliteta (SO, VR, SM, BT, NS, KI, SU) sa područja Vojvodine u proizvodnoj 2011. godini. Rezultati deskriptivne statistike primenjene na vrednosti empirijskih reoloških pokazatelja kvaliteta, ukazuju na veliku varijabilnost i vrlo širok raspon vrednosti ispitivanih svojstava, posmatrano i po ispitivanim sortama i po ispitivanim lokalitetima. Shodno očekivanjima, za većinu pokazatelja varijabilnost je veća kada se posmatraju rezultati deskriptivne statistike izvedene po ispitivanim lokalitetima, što neposredno ukazuje na značajniji uticaj sorte u odnosu na mikroklimatske uslove.

Posmatrajući vrednosti pokazatelja kvaliteta određenih farinografom (Tabela 5.1), dobijen je širok raspon vrednosti za sve farinogramske pokazatelje, a najveće razlike su zabeležene u vrednostima vremena razvoja testa i stabiliteta (DDT i Stab). Po tim pokazateljima izdvojili su se uzorci brašna sorti Apač i Gora, čije visoke vrednosti standardne devijacije ukazuju na njihovu nestabilnost tj. nekonzistentni kvalitet, kao posledice različitih mikroklimatskih uslova. Obe pomenute sorte u proseku se odlikuju znatno većim vrednostima stepena omekšanja, kao i manjim vrednostima kvalitetnog broja. Uzorke pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine, u proseku karakterišu dobri



farinogramski pokazatelji u smislu manjeg stepena omekšanja testa, kao i pripadnosti višim kvalitetnim grupama brašna. U tom pogledu naročito su se izdvojili uzorci brašna sorti Gordana i Pobjeda, koji imaju izrazito veće prosečne vrednosti DDT i stabilneta testa, što znači da im je potrebno duže vreme za potpunu hidrataciju glutenskog i skrobnog kompleksa, ali i da se mogu izuzetno dugo obrađivati u procesu prerade bez pogoršanja tehnološkog kvaliteta.

U pogledu ekstenzogramskih pokazatelja kvaliteta (Tabela 5.1), širokom opsegu izmerenih vrednosti više doprinose uslovi gajenja tj. lokalitet, nego sortna pripadnost. Naime, raspon vrednosti energije kao najznačajnijeg ekstenzogramskog pokazatelja se znatno razlikuje po sortama, dok su prosečne vrednosti bliske. Kao i u slučaju vrednosti farinogramskih pokazatelja, uzorci brašna sorte Apač sa različitih lokaliteta su ispoljili najveće razlike u vrednostima ovog pokazatelja, dok se kao najstabilnija pokazala sorta Gordana. Uzorci brašna ove sorte su na svim ispitivanim lokalitetima imali najveće vrednosti odnosnog broja. Najveće razlike među sortama u pogledu ekstenzogramskih pokazatelja kvaliteta, (najveće vrednosti koeficijenta varijacije ispitivanih svojstava) zapažene su na lokalitetu SU (za razliku od ostalih, na ovom lokalitetu su izmerene značajne količine padavina u julu mesecu).

Što se tiče vrednosti maksimalnog viskoziteta (PV), primetna je široka varijabilnost i po ispitivanim sortama i lokalitetima, pri čemu je dominantan uticaj sorti (više vrednosti CV u Tabeli 5.1P). Po najpovoljnijim, za potrebe pekarstva, vrednostima maksimalnog viskoziteta (450-650 AJ, Đaković, 1997; Kaluđerski i Filipović, 1998) izdvajaju se uzorci brašna sorti Pobjeda i Gordana, dok se uzorci brašna ostalih sorti odlikuju izrazito većim vrednostima ovog pokazatelja. Neophodno je napomenuti da su se ove dve sorte izdvojile i po drugim pokazateljima tehnološkog kvaliteta brašna, što ne predstavlja iznenađenje u slučaju sorte Pobjeda koja pripada grupi odličnih hlebnih sorti kao i grupi poboljšivača. Naime, ova sorta je, zahvaljujući visokoj adaptabilnosti i odličnom pecivnom kvalitetu, u proizvodnji prisutna već više od jedne decenije (Denčić i sar., 2011b). Najmanju varijabilnost u vrednostima maksimalnog viskoziteta u odnosu na posmatrane lokalitete imala je sorta Apač, kod koje su zabeležene i najveće vrednosti pomenutog pokazatelja kvaliteta (Tabela 5.1).

Posmatrajući vrednosti alveografskih pokazatelja za sve ispitivane uzorke pšeničnog brašna, primetan je širok opseg njihovih vrednosti, pri čemu u odnosu na lokalitet, ovoj širokoj varijabilnosti više doprinosi sorta. Najveće vrednosti koeficijenta varijacije za rad deformacije (W) su zabeležene u slučaju uzoraka brašna sorte Apač. Na osnovu alveografskih pokazatelja, brašno ove sorte, zajedno sa sortom Gora, se izdvojilo kao slabije, jer su imala najmanje vrednosti rada deformacije i žilavosti testa, a najveće vrednosti rastegljivosti i izlaze iz opsega vrednosti optimalnih za preradu brašna (Tabela 5.1).

**Tabela 5.1.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine (izražene po sortama)

Sorta		Farinograf				Ekstenzograf				Amilograf		Alveograf				
		WA (%)	DDT (min)	Stab (min)	SD	QN	E (cm <sup>2</sup> )	R (BJ)	Ex (mm)	R/Ex	PV (AJ)	P (mmH <sub>2</sub> O)	L (mm)	G	W (x10 <sup>-4</sup> J)	P/L
<b>Pob</b>	<i>Mean</i>	60,4	6,1	10,4	47,9	126,0	82,3	245,7	165,1	1,5	520,7	90,1	92,3	21,3	239,4	1,0
	<i>Min</i>	58,8	1,5	4,0	25,0	45,0	34,0	110,0	144,0	0,7	280,0	68,0	65,0	17,9	158,0	0,8
	<i>Max</i>	61,9	8,5	14,5	60,0	185,0	104,0	390,0	185,0	2,7	730,0	112,0	105,0	22,8	274,0	1,7
	<i>SD</i>	1,25	2,98	3,99	11,85	51,95	26,35	90,71	13,97	0,68	200,59	14,39	14,00	1,72	40,35	0,33
	<i>CV</i>	2,06	48,55	38,30	24,77	41,23	32,02	36,92	8,46	44,40	38,52	15,97	15,17	8,06	16,85	32,67
<b>Zve</b>	<i>Mean</i>	61,8	4,1	8,4	58,6	85,0	80,4	270,0	160,0	1,7	1212,9	97,6	78,1	19,7	236,4	1,3
	<i>Min</i>	60,1	2,0	4,0	35,0	50,0	36,0	140,0	144,0	0,9	1000,0	83,0	70,0	18,6	173,0	1,1
	<i>Max</i>	64,3	6,5	16,5	80,0	110,0	115,0	370,0	183,0	2,4	1700,0	111,0	88,0	20,9	272,0	1,5
	<i>SD</i>	1,55	1,51	3,98	16,51	19,36	25,95	86,99	14,76	0,63	233,50	10,83	6,87	0,87	37,52	0,15
	<i>CV</i>	2,51	37,13	47,58	28,19	22,78	32,27	32,22	9,23	36,87	19,25	11,10	8,79	4,40	15,87	11,89
<b>Gord</b>	<i>Mean</i>	60,7	9,3	14,4	32,1	217,1	94,0	332,1	145,4	2,3	601,4	80,6	95,6	21,7	243,9	0,9
	<i>Min</i>	59,1	5,0	0,0	10,0	135,0	76,0	240,0	139,0	1,5	390,0	70,0	82,0	20,2	181,0	0,7
	<i>Max</i>	62,4	13,0	20,5	45,0	375,0	119,0	460,0	156,0	3,3	700,0	91,0	112,0	23,6	291,0	1,1
	<i>SD</i>	1,17	2,74	6,67	15,24	93,00	14,70	72,56	6,27	0,57	105,74	7,59	11,16	1,26	35,40	0,12
	<i>CV</i>	1,93	29,47	46,21	47,40	42,83	15,64	21,85	4,31	24,92	17,58	9,42	11,68	5,79	14,51	13,55
<b>Ap</b>	<i>Mean</i>	55,0	3,7	7,0	70,0	81,7	81,7	222,5	170,5	1,3	1504,2	52,5	110,7	23,3	168,7	0,5
	<i>Min</i>	53,2	1,5	1,5	50,0	30,0	15,0	65,0	154,0	0,4	1430,0	39,0	76,0	19,4	86,0	0,4
	<i>Max</i>	58,0	7,0	10,5	105,0	115,0	136,0	350,0	179,0	2,0	1585,0	66,0	134,0	25,8	227,0	0,6
	<i>SD</i>	1,74	2,42	3,30	23,66	31,41	50,31	111,43	10,41	0,61	61,52	11,40	21,35	2,34	64,13	0,06
	<i>CV</i>	3,17	66,06	47,16	33,81	38,46	61,61	50,08	6,10	47,66	4,09	21,71	19,29	10,04	38,02	13,63
<b>Gora</b>	<i>Mean</i>	53,5	1,9	2,9	80,0	37,1	87,9	317,9	147,0	2,2	857,1	50,4	104,6	22,6	156,3	0,5
	<i>Min</i>	51,2	1,5	1,5	55,0	25,0	48,0	180,0	129,0	1,2	530,0	41,0	73,0	19,0	110,0	0,3
	<i>Max</i>	55,0	2,5	6,5	105,0	65,0	120,0	430,0	158,0	3,0	1280,0	59,0	141,0	26,4	191,0	0,8
	<i>SD</i>	1,29	0,35	1,77	15,00	16,04	28,04	85,82	12,25	0,64	232,29	5,74	23,57	2,59	30,80	0,15
	<i>CV</i>	2,42	17,89	60,31	18,75	43,17	31,91	27,00	8,33	29,53	27,10	11,38	22,54	11,44	19,71	29,92

Reološko ponašanje testa ispitivanih uzoraka pšeničnog brašna tokom postupka mešenja i zagrevanja je ispitano pomoću Miksolaba. Analizom dobijenih rezultata može se zaključiti da su izmerene vrednosti ispitivanih pokazatelja kvaliteta pod snažnim uticajem sorti (Tabela 5.2 i Tabela 5.2P). Prosečne vrednosti moći upijanja vode za sve ispitivane sorte i lokalitete su se kretale u rasponu od 50,13 do 58,37%, ukazujući na široku varijabilnost apsorpcione sposobnosti proteina brašna ali i skroba. Minimalne vrednosti moći upijanja vode su zabeležene kod uzoraka brašna sorti Gora i Apač. Vreme razvoja testa, koje se definiše kao vreme potrebno za postizanje inicijalne maksimalne konzistencije C1, se kretalo između 1,15 i 7,07 min, što ukazuje na različit nivo kvaliteta i proteinske i skrobne frakcije. Uzorci brašna navedenih sorti (Apač i Gora) su imali i najkraće vreme razvoja testa. Vrednosti otpornosti testa na mešenje tj. vrednosti stabilneta su u proseku veoma bliske za sve ispitivane sorte, ukazujući na dobru toleranciju glutena na deformacije tokom mehaničke obrade testa. Najveće vrednosti koeficijenta varijacije su zabeležene kod pokazatelja Miksolaba, koji posredno ukazuju na proteolitičku i amilolitičku aktivnost brašna ( $\alpha$  i  $\gamma$ ), što znači da su vrednosti ovih pokazatelja uslovljene mikroklimatskim uslovima (lokalitetima). Uprkos malim razlikama u konzistenciji testa u tački C2, širok opseg vrednosti alfa ( $\alpha$ ) pokazuje različit stepen slabljenja proteinske mreže usled zagrevanja i/ili proteolitičke aktivnosti, a što se direktno manifestuje različitom stepenom promene viskoziteta testa (Dapčević Hadnađev i sar., 2011).

**Tabela 5.2.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti miksolabskih pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine (izražene po sortama)

Sorta		WAMix (%)	DevMix (min)	StabMix (min)	ElastMix (Nm)	C2 (Nm)	C3 (Nm)	C4 (Nm)	C5 (Nm)	C3-C4 (Nm)	C5-C4 (Nm)	$\alpha$ (Nm/min)	$\beta$ (Nm/min)	$\gamma$ (Nm/min)
Pob	Mean	57,56	7,07	9,62	0,06	0,48	1,99	1,66	2,35	0,34	0,70	-0,08	0,48	-0,05
	Min	55,20	5,63	8,82	0,05	0,45	1,88	1,39	2,04	0,13	0,60	-0,11	0,39	-0,08
	Max	60,00	8,22	11,47	0,08	0,52	2,19	1,88	2,70	0,49	0,82	-0,05	0,61	0,00
	SD	1,64	0,95	0,96	0,01	0,03	0,10	0,19	0,25	0,15	0,07	0,02	0,07	0,03
	CV	2,85	13,49	9,97	19,79	5,57	5,16	11,52	10,66	43,38	10,26	-30,33	13,93	-52,79
Zve	Mean	58,08	6,17	9,91	0,08	0,53	2,02	1,79	2,62	0,23	0,83	-0,07	0,49	-0,05
	Min	56,77	1,32	9,15	0,07	0,47	1,96	1,56	2,31	0,15	0,53	-0,09	0,45	-0,16
	Max	59,30	8,85	11,15	0,09	0,56	2,10	1,93	2,83	0,50	1,27	-0,03	0,55	-0,02
	SD	1,03	2,49	0,63	0,01	0,04	0,05	0,12	0,17	0,12	0,23	0,02	0,03	0,05
	CV	1,77	40,36	6,34	10,39	7,24	2,51	6,66	6,61	54,44	27,52	-33,34	7,05	-105,12
Gord	Mean	58,37	6,27	8,60	0,08	0,45	1,79	1,54	2,15	0,25	0,61	-0,07	0,49	-0,03
	Min	57,00	4,97	6,78	0,06	0,42	1,72	1,39	2,00	0,19	0,56	-0,09	0,46	-0,04
	Max	59,60	8,02	9,83	0,10	0,48	1,88	1,64	2,34	0,41	0,70	-0,05	0,50	-0,01
	SD	0,87	0,96	1,08	0,01	0,02	0,06	0,09	0,11	0,08	0,04	0,02	0,01	0,01
	CV	1,48	15,27	12,51	15,10	5,52	3,34	5,56	5,11	30,15	7,22	-22,80	3,06	-33,35
Ap	Mean	51,94	2,18	9,57	0,09	0,50	2,24	1,94	3,22	0,29	1,28	-0,07	0,54	-0,09
	Min	49,59	0,92	4,72	0,08	0,42	2,08	1,84	2,72	0,24	0,89	-0,10	0,45	-0,21
	Max	55,22	4,57	11,63	0,10	0,56	2,38	2,08	3,46	0,33	1,48	0,00	0,64	-0,05
	SD	2,07	1,23	2,46	0,01	0,05	0,11	0,10	0,27	0,04	0,20	0,04	0,07	0,06
	CV	3,98	56,54	25,75	8,67	9,91	4,75	5,05	8,35	12,68	15,28	-56,48	13,49	-64,34
Gora	Mean	50,13	1,15	6,75	0,09	0,48	2,36	2,25	3,27	0,11	1,01	-0,05	0,43	-0,02
	Min	48,50	0,88	3,58	0,08	0,42	2,09	1,84	2,57	0,00	0,73	-0,11	0,14	-0,04
	Max	51,97	1,25	11,10	0,10	0,53	2,49	2,37	3,54	0,25	1,22	0,02	0,65	0,00
	SD	1,02	0,13	3,32	0,01	0,04	0,13	0,19	0,32	0,09	0,16	0,04	0,16	0,01
	CV	2,03	10,88	49,17	8,34	8,65	5,38	8,37	9,86	88,04	16,13	-79,08	38,15	-71,90

Gluten indeks, određen standardnom metodom, daje uvid u međusobni odnos i kvalitet dve glavne frakcije glutena: glijadina i glutenina (Collar i sar., 2007), dok vrednosti gluten indeksa određenih nakon inkubacije na 37 °C ukazuju na stepen hidrolize glutena, koja može biti posledica aktivnosti prisutnih nativnih proteolitičkih enzima ili posledica oštećenja pšenice napadom insekata (žitnih stenica) (Aja i sar., 2004). Prosečne vrednosti gluten indeksa (83-95,7) za sve ispitivane sorte ukazuju na različitu snagu glutena (od jakog do vrlo jakog) i smatraju se pogodnim za dobijanje hleba optimalnog kvaliteta (Har Gil i sar., 2011). Takođe, dobijeni rezultati ukazuju na dominantan uticaj sorte u odnosu na lokalitet (Tabela 5.3 i Tabela 5.3P). Međutim, odgovarajuće vrednosti gluten indeksa određenog nakon prethodne inkubacije testa na 37 °C su bile znatno niže i u širokom opsegu vrednosti, ukazujući na redistribuciju (preraspodelu) po veličini proteina glutena (Aja i sar., 2004) a ne na proteolizu, jer su utvrđene vrednosti proteolitičke aktivnosti niske. U prilog ovome idu vrednosti stepena omekšanja merenog na farinografu, energija testa merena na ekstenzografu i rad deformacije meren na alveografu. Za sortu Apač je karakteristična značajno veća vrednost koeficijenta varijacije u odnosu na druge ispitivane sorte, koji potvrđuje dominantan uticaj lokaliteta na mereni pokazatelj. Na osnovu ovih rezultata moglo bi se pretpostaviti da je sorta Apač ispoljila relativnu neotpornost prema vladajućim mikroklimatskim uslovima, što je doprinelo variranju kvaliteta ispitivanog pokazatelja. U prilog ovome idu i rezultati farinografskih i ekstenzografskih merenja.

Probno pečenje je najpouzdaniji metod za procenu kvaliteta pšeničnog brašna (Gélinas i McKinnon, 2011). U cilju izbegavanja subjektivne ocene kvaliteta hleba, mereni su samo instrumentalni pokazatelji kvaliteta- masa, zapremina i tekstura hleba.

Što se tiče vrednosti specifične zapremine hleba, kao ključnog pokazatelja pecivnog kvaliteta hleba, primetne su značajne razlike između ispitivanih sorti (Tabela 5.3). Najveće vrednosti specifične zapremine hleba imala je sorta Gordana, dok su sorte Apač i Gora, imale najmanje vrednosti ovog pokazatelja, što je u skladu sa najmanjim vrednostima za rad deformacije. Naime, uzorci hleba najmanje specifične zapremine, proizvedeni od pšeničnih sorti Apač i Gora su se odlikovali najvećim vrednostima čvrstoće i otpora žvakanju. Rezultati za specifičnu zapreminu su u saglasnosti sa rezultatima teksture hleba, jer na čvrstoću hleba značajan uticaj ima njegova zapremina, kao i poroznost sredine hleba. Čvrstoća hleba i poroznost njegove sredine je pod snažnim uticajem dve glavne gradivne komponente brašna, proteina i skroba. Proteinska mreža testa mora biti dovoljna jaka da zadrži gas, ali i da omogući njegovu ekspanziju bez narušavanja procesa fermentacije. S druge strane, iako struktura sredine hleba predstavlja jedinstvenu mrežu proteina i želatiniziranih granula skroba, skrobna frakcija je ta koja primarno određuje strukturu hleba (Hug-Iten i sar., 2001; Liu i sar., 2003). Uticaj skrobne frakcije na čvrstoću hleba se manifestuje kroz kompleksni proces, kroz koji hleb prolazi neposredno nakon pečenja tj. retrogradaciju skroba (Gray i Bemiller, 2003). Tome u prilog idu i rezultati miksolabskih merenja, koji pokazuju da su sorte Apač i Gora imale i najveće iznose retrogradacije (C5-C4, Tabela 5.3).

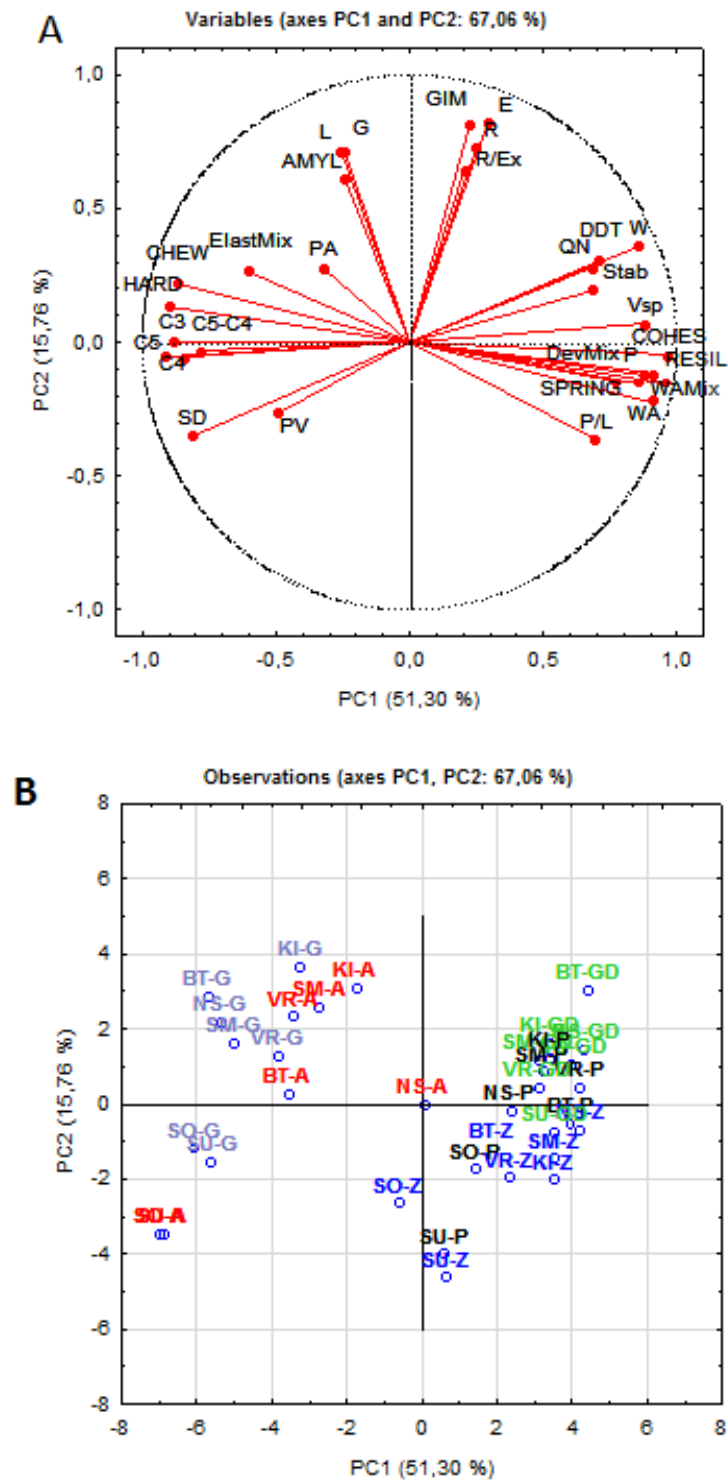
**Tabela 5.3.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti reoloških, pecivnih i teksturnih pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine (izražene po sortama)

Sorta		GIS	GIM	Vsp	Hard	Spring	Cohes	Chew	Resil
<b>Pob</b>	Mean	92,00	69,71	4,08	2585,71	0,98	0,73	1872,35	0,36
	Min	83,00	32,94	3,70	1868,37	0,96	0,72	1327,62	0,34
	Max	97,49	91,46	4,40	3116,45	1,01	0,77	2187,48	0,40
	SD	6,13	20,16	0,26	513,07	0,02	0,02	352,47	0,02
	CV	6,66	28,93	6,48	19,84	1,66	2,68	18,82	6,57
<b>Zve</b>	Mean	86,06	59,69	4,14	3371,42	1,00	0,74	2461,34	0,36
	Min	74,00	30,88	3,62	2246,11	0,98	0,67	1762,49	0,31
	Max	95,32	74,28	4,77	5070,58	1,03	0,80	3372,11	0,38
	SD	7,78	14,29	0,40	989,55	0,02	0,04	582,49	0,02
	CV	9,04	23,94	9,56	29,35	1,65	5,45	23,67	6,85
<b>Gord</b>	Mean	83,00	75,18	4,40	2574,02	0,99	0,75	1925,07	0,34
	Min	79,00	55,95	4,13	1566,85	0,98	0,71	1184,48	0,32
	Max	88,00	83,61	4,75	3180,25	1,00	0,79	2301,16	0,37
	SD	3,32	10,00	0,22	569,39	0,01	0,02	403,69	0,02
	CV	4,00	13,30	4,99	22,12	0,57	3,30	20,97	5,87
<b>Ap</b>	Mean	95,70	56,67	3,37	7149,48	0,97	0,61	4318,13	0,30
	Min	92,00	0,00	3,09	4493,67	0,95	0,54	2739,81	0,26
	Max	98,65	91,24	3,89	10266,92	0,98	0,67	5383,16	0,33
	SD	3,16	37,27	0,33	2136,95	0,01	0,05	940,46	0,03
	CV	3,30	65,76	9,91	29,89	1,24	8,81	21,78	9,02
<b>Gora</b>	Mean	94,86	77,89	3,44	8969,75	0,96	0,59	5094,13	0,28
	Min	92,00	36,02	2,96	6266,84	0,95	0,56	3460,60	0,26
	Max	98,00	91,56	3,84	12145,22	0,98	0,62	6612,62	0,29
	SD	2,34	19,91	0,33	2421,61	0,01	0,02	1257,16	0,01
	CV	2,47	25,56	9,72	27,00	1,20	3,99	24,68	4,63

### 5.2.5 Analiza glavnih komponenti primenjena na rezultate odabranih biohemijskih i reoloških pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine

Primena PC analize omogućava jednostavniju vizuelnu interpretaciju međusobnih odnosa ispitivanih promenljivih (frakcije albumina, proteolitička i amilolitička aktivnost, pokazatelji kvaliteta mereni farinografom, ekstenzografom, amilografom, alveografom, Miksolabom, standardni i modifikovani gluten indeks, pecivni i teksturni pokazatelji tehnološkog kvaliteta) na setu podataka baziranih na njihovim korelacijama. Ovom statističkom metodom obuhvaćeni su svi uzorci pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine. Rezultati su grafički predstavljeni kroz projekciju vektora ispitivanih promenljivih u faktorskim ravnima (*loading plot* -prikaz promenljivih, *score plot* -prikaz pozicioniranja uzoraka u odnosu na glavne komponente). Prve četiri PC komponente

(Slika 5.23A (*loading plot*)) objašnjavaju 83,5% ukupne varijabilnosti osnovnog seta podataka, pri čemu prve dve komponente imaju najznačajni udeo u opisivanju početnih promenljivih (67,06%), te su za vizuelnu interpretaciju korelativnih odnosa one uzete u obzir. Većina promenljivih su opisane prvom komponentom, dok su ekstenzografski pokazatelji, kao i modifikovani gluten indeks opisani drugom komponentom. Rezultati statističke obrade su pokazali da količine frakcija albumina nisu opisane nijednom od prve dve komponente i da ne postoje jasni korelativni odnosi sa drugim promenljivim. Što se tiče proteolitičke i amilolitičke aktivnosti, ustanovljen je mali broj značajnih korelacija čija se jačina kretala u rasponu od vrlo slabe ( $r \leq 0,41$ ) do osrednje ( $r \leq 0,60$ ). U slučaju proteolitičke aktivnosti, ustanovljene su umerene korelacije sa alveografskim pokazateljima (P, L i G,  $r = -0,41$ ;  $r = 0,51$ , odnosno  $r = 0,51$ ), kao i slaba negativna korelacija sa specifičnom zapreminom hleba ( $r = -0,34$ ). U slučaju amilolitičke aktivnosti, utvrđena je umereno negativna korelacija sa maksimalnim viskozitetom merenim na amilografu ( $r = -0,41$ ). Nisu utvrđene značajne korelacije između miksolabskog pokazatelja koji ukazuje na brzinu slabljenja proteinske mreže usled zagrevanja ( $\alpha$ ) i proteolitičke aktivnosti, kao i između pokazatelja Miksolaba koji ukazuje na brzinu enzimske razgradnje skroba ( $\gamma$ ) i amilolitičke aktivnosti. Imajući u vidu širok opseg vrednosti pomenutih pokazatelja Miksolaba za sve ispitivane uzorke (Tabela 5.2), nedostatak korelacija ukazuje da široka varijabilnost vrednosti pomenutih pokazatelja nije posledica različitog nivoa proteolitičke ili amilolitičke aktivnosti, već oblika i veličine molekula proteina i skroba, a što je opet direktna posledica klimatskih uslova u toku njihove biosinteze (DuPont i Altenbach, 2003). PC analiza je pokazala jake korelativne odnose između rada deformacije i određenih pokazatelja reoloških i pecivnih pokazatelja kvaliteta (stepenom omekšanja testa, energijom, vremenom razvoja testa određenog Miksolabom, specifičnom zapreminom hleba i čvrstoćom hleba,  $r > 0,65$ ). Utvrđena je pozitivna i jaka korelacija između energije testa (E) i modifikovanog gluten indeksa ( $r = 0,85$ ), kao i umereno jaka korelacija između rada deformacije i modifikovanog gluten indeksa ( $r = 0,56$ ). Može se pretpostaviti, uzimajući u obzir relativno niske vrednosti aktivnosti proteolitičkih enzima, da je poželjan veći nivo aktivnosti ovih enzima za postizanje boljih osobina testa. Takođe, jaka negativna korelacija između vrednosti konzistencije testa u tački C4 i vrednosti specifične zapremine ( $r = -0,72$ ,  $p < 0,05$ ), ukazuje na potrebu veće i amilolitičke aktivnosti u cilju proizvodnje hleba boljeg kvaliteta. Na Slici 5.23B (*score plot*) se uočava grupisanje ispitivanih uzoraka pšeničnog brašna, pri čemu dolazi do favorizacije karakteristika sorti.



**Slika 5.23.** PCA loading plot za ispitivane pokatelje kvaliteta (A) i score plot distribucije uzoraka pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine (B)

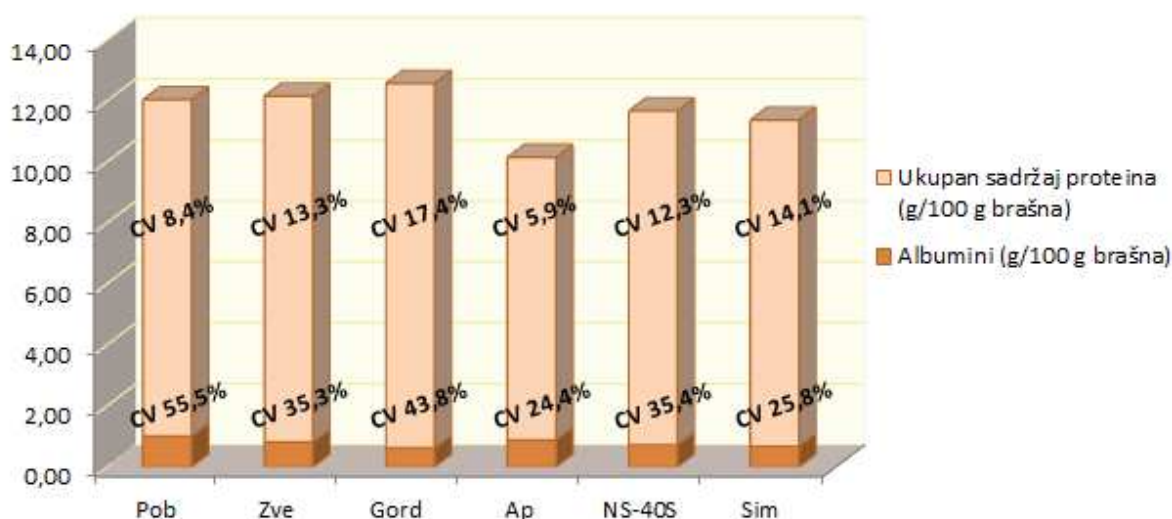


## 5.3 Karakteristike pšeničnog brašna u proizvodnoj 2012. godini

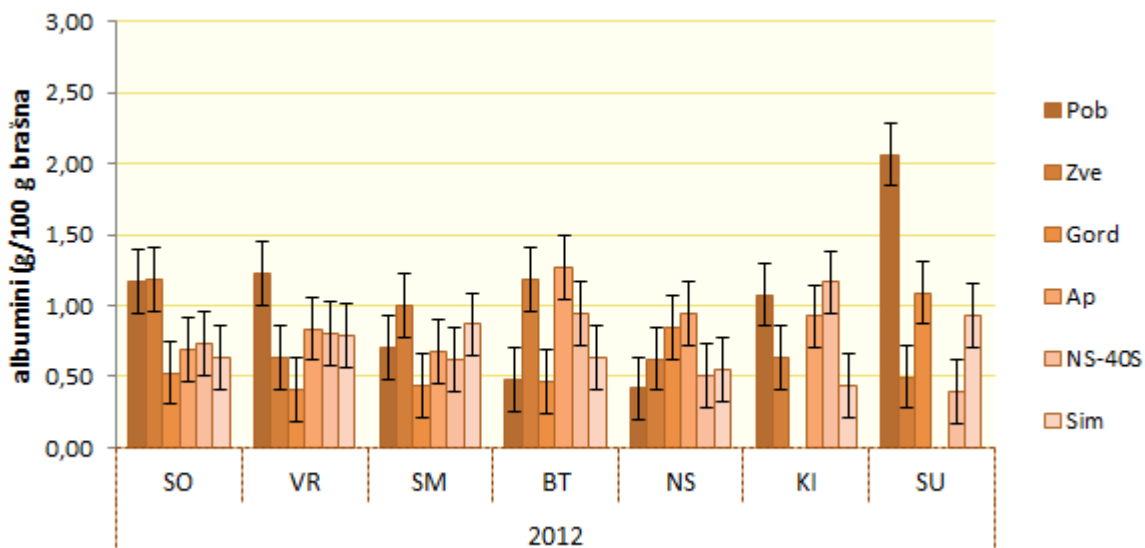
### 5.3.1 Karakterizacija albumina pšeničnog brašna

Na Slikama 5.24 i 5.25 prikazani su rezultati određivanja relativnog udela elektroforetski određenih albumina u odnosu na ukupan sadržaj proteina pšeničnog brašna, kao i u zavisnosti od ispitivanih sorti i lokaliteta.

U ispitivanim uzorcima pšeničnog brašna 2012. proizvodne godine ukupan sadržaj proteina se kretao od 8,1 do 15,4%, dok albumini čine od 2,9% do 15,3% ukupne količine proteina (Slika 5.24). Broj bendova albuminskih frakcija je varirao od 15 (SU-Pob) do 31 (SO-Gord) u opsegu molekulskih masa od 5 do 65 kDa. Posmatrajući vrednosti sadržaja albumina ispitivanih uzoraka brašna, uočljivo je da je njihova varijabilnost uslovljena i sortom i lokalitetom gajenja (Slika 5.25). Izuzetak čini sorta Apač, koja ima relativno ujednačen udeo albuminske frakcije na svim ispitivanim lokalitetima. Uzorci brašna sorti Apač i Pobeda su se odlikovali najvećim prosečnim sadržajem albumina. U pogledu drugih ispitivanih sorti, najveće razlike u sadržaju albumina za posmatrane lokalitete imale su sorte Pobeda i Gordana. Što se tiče lokaliteta, najveće razlike u sadržaju albumina među ispitivanim sortama pšenice su dobijene za lokalitete SU i BT.

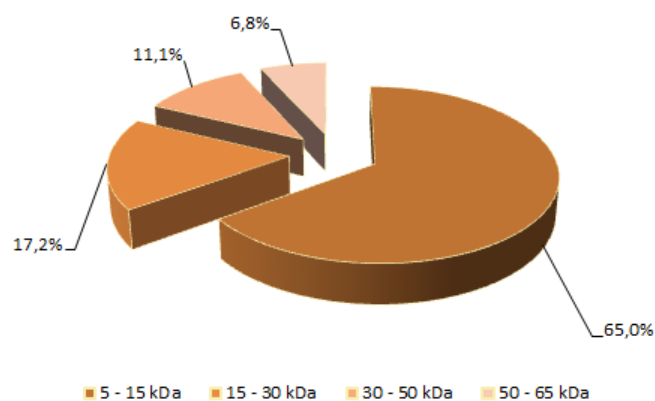


**Slika 5.24.** Relativni udeo elektroforetski određenih albumina u odnosu na ukupan sadržaj proteina brašna različitih sorti pšenice iz 2012. proizvodne godine



**Slika 5.25.** Uticaj sorte i lokaliteta gajenja na sadržaj elektroforetski određenih albumina uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

Na Slici 5.26 su prikazani relativni udeli frakcija albumina u odgovarajućim intervalima molekularnih masa. Dobijeni rezultati su pokazali da se frakcija koja se nalazi u opsegu molekularnih masa 5-15 kDa (Slika 5.26) nalazi u najvećem udelu od 65,0%. Najmanji sadržaj albuminskih frakcija se nalazi u opsegu molekularnih masa od 50-65 kDa. Kao i u slučaju uzoraka pšeničnog brašna iz 2011., i u 2012. proizvodnoj godini svi ispitivani uzorci su pokazali najveću varijabilnost u ovom opsegu molekularnih masa. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Balázs i sar. (2012), koji su, takođe, ustanovili da su najznačajnije sorte razlike u pogledu frakcija albumina očigledne u opsegu većih molekularnih masa. Uzorci brašna sorte Apač su se odlikovali najvećim sadržajem frakcije albumina u intervalu molekularnih masa od 50-65 kDa, dok je za lokalitet BT karakteristično da su sve sorte gajene na ovom lokalitetu imale najveći prosečan sadržaj ove frakcije.

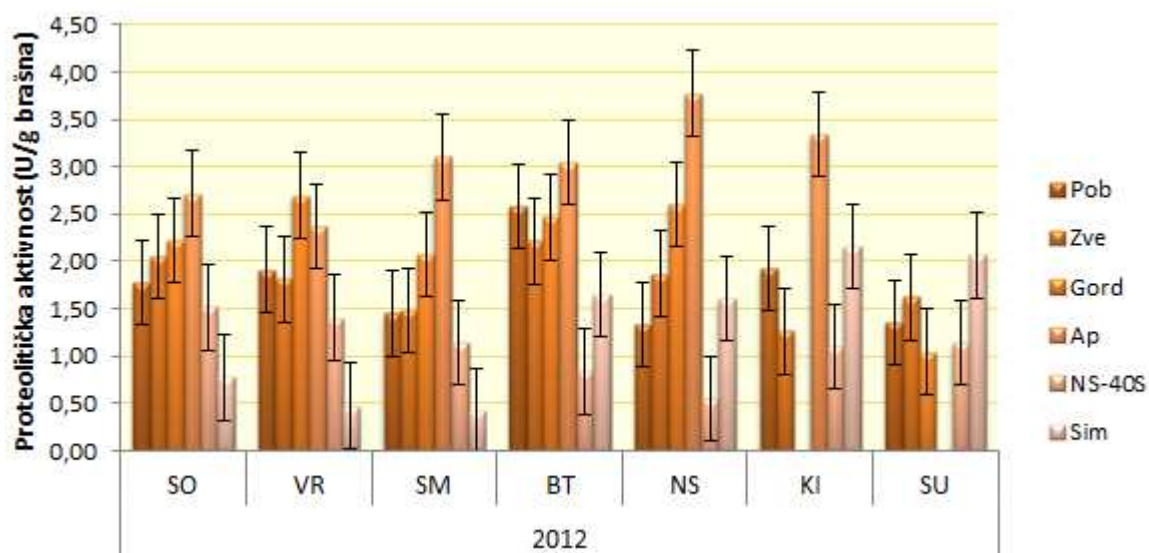


**Slika 5.26.** Udeo pojedinih frakcija albumina u odgovarajućim intervalima molekularnih masa uzoraka brašna različitih sorti pšenice iz 2011. proizvodne godine

### 5.3.2 Proteolitička aktivnost pšeničnog brašna

Na Slici 5.27 prikazane su vrednosti proteolitičke aktivnosti brašna pšenice iz 2012. proizvodne godine u zavisnosti od ispitivanih sorti i lokaliteta.

Vrednosti proteolitičke aktivnosti za sve ispitivane uzorke su se kretale u opsegu od 0,42 do 3,77 U/g brašna. Sorta Apač se u odnosu na ostale sorte odlikovala najvećim vrednostima proteolitičke aktivnosti, čak dvostruko većim, dok su najmanje prosečne vrednosti zabeležene kod sorti NS-40S i Simonida. Kod uzoraka brašna sorte Simonida su, u odnosu na ispitivane lokalitete, zabeležene najveće razlike u vrednosti proteolitičke aktivnosti, kao posledica različitih mikroklimatskih uslova. Što se tiče lokaliteta, najveće vrednosti su zabeležene na području BT, NS i KI, dok su na lokalitetu SU zapažene najmanje razlike među ispitivanim sortama.



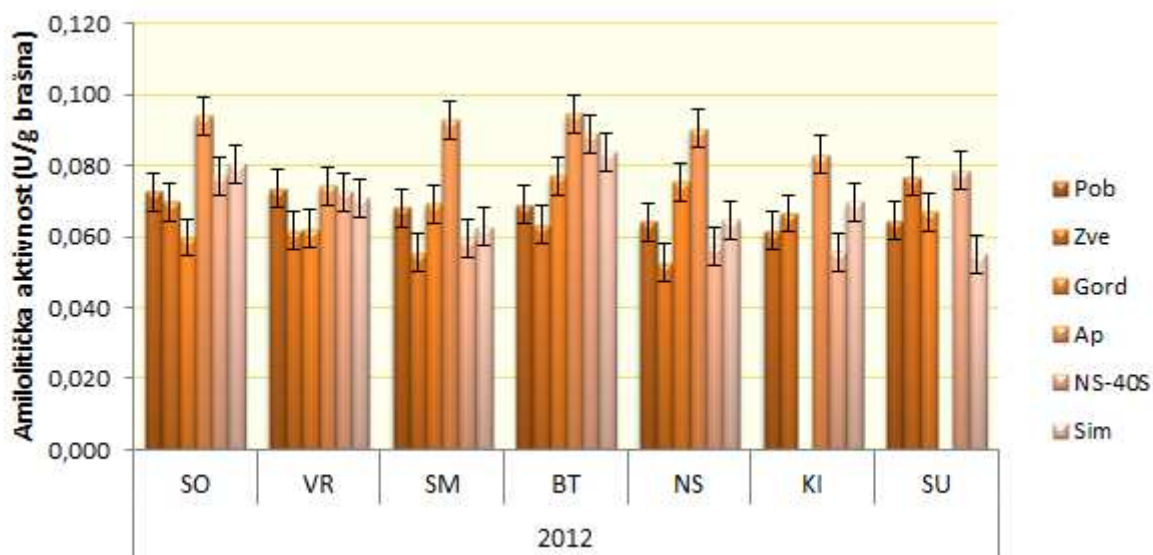
**Slika 5.27.** Uticaj sorte i lokaliteta gajenja na aktivnost proteolitičkih enzima uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

### 5.3.3 Amilolitička aktivnost pšeničnog brašna

Na Slici 5.28 prikazane su vrednosti amilolitičke aktivnosti uzoraka brašna pšenice iz 2012. proizvodne godine u zavisnosti od ispitivanih sorti i lokaliteta.

Vrednosti amilolitičke aktivnosti za sve ispitivane uzorke su se kretale u opsegu od 0,05 do 0,09 U/g brašna. Analizom rezultata statističke obrade ustanovljen je statistički značajan uticaj sorte, lokaliteta i njihove interakcije na vrednost amilolitičke aktivnosti, pri čemu je najznačajniji uticaj sorte. Ovi rezultati su u saglasnosti sa navodima Csiszár i

sar. (2010) da genetske razlike između sorti pšenice uslovljavaju i različit sadržaj amilolitičkih enzima. Najveće prosečne vrednosti ovog pokazatelja zabeležene su kod sorte Apač, dok se sorta Zvezdana odlikovala najmanjim vrednostima ovog pokazatelja. U pogledu lokaliteta, najveće prosečne vrednosti amilolitičke aktivnosti zabeležene su na području BT i SO, dok između ostalih lokaliteta nisu zabeležene statistički značajne razlike.



**Slika 5.28.** Uticaj sorte i lokaliteta gajenja na aktivnost amilolitičkih enzima ( $\alpha$ -amilaze) uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

#### 5.3.4 Tehnološki kvalitet pšeničnog brašna 2012. proizvodne godine

Deskriptivna statistička analiza odnosila se na 6 sorti (Pobeda, Zvezdana, Gordana, Apač, NS-40S, Simonida) gajenih na sedam lokaliteta (SO, VR, SM, BT, NS, KI, SU) sa područja Vojvodine, u proizvodnoj 2012. godini. Rezultati deskriptivne statistike primenjene na vrednosti empirijskih reoloških, pecivnih i teksturnih pokazatelja kvaliteta (pokazatelji tehnološkog kvaliteta merenih farinografom, ekstenzografom, amilografom, alveografom, Miksolabom, standardni i modifikovani gluten indeks, pecivni i teksturni pokazatelji tehnološkog kvaliteta) ukazuju na široku varijabilnost vrednosti ispitivanih svojstava, posmatrano i po ispitivanim sortama i po ispitivanim lokalitetima. Shodno očekivanjima, za većinu pokazatelja varijabilnost je veća kada se posmatraju rezultati deskriptivne statistike izvedene po ispitivanim lokalitetima, što neposredno ukazuje na značajniji uticaj sorte u odnosu na mikroklimatske uslove.

Posmatrajući vrednosti koeficijenta varijacije za pokazatelje kvaliteta određenih farinografom, može se zaključiti da su najveća odstupanja od srednje vrednosti

zabeležena u vrednostima vremena razvoja testa i stabiliteta, nezavisno od sorte i lokaliteta (Tabela 5.4). Po tim pokazateljima izdvojile su se sorte Apač, Gordana i NS-40S, čije visoke vrednosti standardne devijacije ukazuju na njihovu nestabilnost tj. promenljivost posmatranog pokazatelja kvaliteta, kao posledice različitih mikroklimatskih uslova. Međutim, navedene sorte se međusobno znatno razlikuju po vrednostima stepena omekšanja i kvalitetnog broja. Uprkos širokoj varijabilnosti pojedinih farinografskih pokazatelja kvaliteta, sorta Gordana se odlikovala najmanjim prosečnim vrednostima stepena omekšanja i najvećim prosečnim vrednostima kvalitetnog broja. Uopšte posmatrano, po dobrim farinografskim pokazateljima kvaliteta izdvojile su se sorte Gordana i Pobjeda, koje imaju izrazito veće prosečne vrednosti DDT i stabiliteta testa. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima iz 2011. proizvodne godine, prema kojima su pomenute sorte svrstane u sorte odličnog kvaliteta. Na osnovu vrednosti koeficijenta varijacije (Tabela 5.4P) izdvojio se lokalitet SU, u smislu znatno manje varijabilnosti farinografskih pokazatelja kvaliteta u okviru ispitivanih sorti. Za ovaj lokalitet je karakteristična znatno veća suma padavina za mesec jul od višegodišnjeg proseka, kao i u odnosu na ostale lokalitete.

Što se tiče ekstenzografskih pokazatelja kvaliteta, vrednosti energije, kao najznačajnijeg ekstenzografskog pokazatelja, se znatno razlikuju po sortama (Tabela 5.4). Sorta Apač sa različitih lokaliteta je ispoljila najveće razlike u vrednostima ovog pokazatelja, dok se kao najstabilnija pokazala sorta Gordana. Najveće prosečne vrednosti ovog pokazatelja su zabeležene kod sorti NS-40S i Apač. U poređenju sa višegodišnjim vrednostima ovog pokazatelja za sorte NS-40S i Simonida, rezultati energije za 2012. proizvodnu godinu su znatno niže (Hristov i Mladenov, 2006; Denčić i sar., 2011). Imajući u vidu da je 2012. godina bila okarakterisana višim temperaturama vazduha u poređenju sa višegodišnjim prosekom (1981–2010), može se pretpostaviti da su niže vrednosti energije posledica povećane količine glijadina usled neotpornosti sorti prema toplotnom stresu (Daniel i Triboj, 2000; Dupont i Altenbach, 2003). Prosečna vrednost odnosnog broja (R/Ex) svih ispitivanih sorti, kretala se u okviru optimalnog opsega ovog pokazatelja za potrebe pekarske proizvodnje. Izuzetak predstavljaju uzorci brašna sorte NS-40S za koje su karakteristične najveće vrednosti ovog ekstenzografskog pokazatelja. Ova sorta je na svim ispitivanim lokalitetima imala najveće vrednosti odnosnog broja.

Prosečne vrednosti maksimalnog viskoziteta (PV) svih ispitivanih sorti su bile izrazito visoke (> 1000 AJ) (Tabela 5.4). Prema Đakoviću (1997) i Kaluđerski i Filipović, (1998) optimalni maksimalni viskozitet za brašna za pekarsku proizvodnju je od 450 do 650 AJ. U tom smislu, od ispitivanih uzoraka izuzetak predstavlja sorta Gordana koju karakterišu najpovoljnije prosečne vrednosti ovog pokazatelja kvaliteta. Najmanju varijabilnost u vrednostima maksimalnog viskoziteta u odnosu na posmatrane lokalitete, imale su sorta Zvezdana i sorta Apač, kod kojih su zabeležene i najveće vrednosti maksimalnog viskoziteta.

Na osnovu vrednosti alveografskih pokazatelja, brašna sorti Apač i Simonida su se izdvojila kao slabija, jer su imala najmanje vrednosti rada deformacije i žilavosti testa (Tabela 5.4), a najveće vrednosti rastegljivosti, dok raspon vrednosti pomenutih

pokazatelja ove dve sorte, ukazuje da na pojedinim lokalitetima oni izlaze iz opsega vrednosti optimalnih za preradu brašna.

**Tabela 5.4.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine.

Sorta		Farinograf					Ekstenzograf				Amilograf		Alveograf			
		WA (%)	DDT (min)	Stab (min)	SD	QN	E (cm <sup>2</sup> )	R (BI)	Ex (mm)	R/Ex	PV (AI)	P (mmH <sub>2</sub> O)	L (mm)	G	W (x10 <sup>-4</sup> l)	P/L
<b>Pob</b>	<i>Mean</i>	64,3	5,9	11,6	54,3	131,4	57,7	247,1	142,6	1,8	1032,9	96,9	70,9	18,7	209,1	1,4
	<i>Min</i>	60,3	3,0	6,0	25,0	100,0	32,0	120,0	121,0	0,8	800,0	71,0	52,0	16,1	166,0	0,8
	<i>Max</i>	67,1	7,5	19,5	75,0	225,0	83,0	440,0	174,0	3,6	1350,0	122,0	87,0	20,8	249,0	2,4
	<i>SD</i>	2,52	1,55	4,11	17,18	44,13	20,82	104,52	18,72	0,95	198,30	18,52	12,16	1,61	30,49	0,52
	<i>CV</i>	3,93	26,41	35,49	31,65	33,58	36,08	42,29	13,13	52,50	19,20	19,13	17,16	8,60	14,58	36,23
<b>Zve</b>	<i>Mean</i>	66,4	3,9	5,9	65,0	75,7	63,1	281,4	139,0	2,1	1538,6	111,3	63,6	17,5	218,1	2,1
	<i>Min</i>	63,7	2,0	3,0	30,0	40,0	32,0	150,0	121,0	1,0	1370,0	89,0	33,0	12,8	154,0	1,0
	<i>Max</i>	71,1	5,0	8,0	90,0	110,0	92,0	390,0	152,0	2,8	1680,0	147,0	94,0	21,6	259,0	3,4
	<i>SD</i>	2,69	0,98	1,68	20,82	22,07	20,84	79,04	12,03	0,65	110,22	22,82	23,80	3,40	33,07	1,14
	<i>CV</i>	4,05	24,84	28,62	32,03	29,14	33,00	28,09	8,65	31,64	7,16	20,50	37,44	19,43	15,16	54,17
<b>Gord</b>	<i>Mean</i>	65,5	7,3	13,2	37,5	171,7	68,7	327,5	126,5	2,6	693,3	111,7	59,8	17,2	234,2	1,9
	<i>Min</i>	62,2	1,5	5,0	5,0	45,0	59,0	260,0	117,0	1,8	490,0	94,0	39,0	13,9	149,0	1,5
	<i>Max</i>	67,2	11,0	21,0	65,0	280,0	80,0	380,0	141,0	3,3	1150,0	127,0	71,0	18,8	264,0	2,4
	<i>SD</i>	1,76	4,40	5,14	21,62	89,65	6,95	46,02	9,01	0,50	246,95	11,67	12,02	1,82	42,61	0,39
	<i>CV</i>	2,69	60,01	39,07	57,66	52,22	10,12	14,05	7,12	19,03	35,62	10,45	20,10	10,63	18,20	20,15
<b>Ap</b>	<i>Mean</i>	56,5	3,3	4,9	58,3	75,8	80,8	311,7	141,0	2,2	1718,3	63,3	97,5	21,9	182,0	0,7
	<i>Min</i>	54,1	1,5	1,5	40,0	40,0	25,0	125,0	133,0	0,9	1490,0	49,0	76,0	19,4	134,0	0,4
	<i>Max</i>	57,6	4,5	6,5	70,0	90,0	144,0	460,0	150,0	3,2	2000,0	89,0	121,0	24,5	249,0	1,1
	<i>SD</i>	1,40	1,41	1,80	10,33	19,60	38,34	113,08	5,83	0,81	173,25	14,68	17,77	2,01	42,50	0,25
	<i>CV</i>	2,48	43,24	36,62	17,71	25,85	47,43	36,28	4,14	36,62	10,08	23,18	18,23	9,18	23,35	36,63
<b>NS-40S</b>	<i>Mean</i>	61,3	3,4	4,9	74,3	62,9	108,3	434,3	140,4	3,1	1477,1	104,4	65,4	17,7	254,0	1,8
	<i>Min</i>	59,8	1,5	1,5	40,0	25,0	73,0	340,0	116,0	2,3	970,0	84,0	38,0	13,7	172,0	0,8
	<i>Max</i>	62,6	8,0	13,0	95,0	140,0	126,0	550,0	160,0	4,6	1920,0	137,0	102,0	22,5	367,0	2,8
	<i>SD</i>	1,10	2,81	4,35	20,70	47,77	18,28	81,82	16,14	0,87	310,90	18,06	25,20	3,44	72,05	0,78
	<i>CV</i>	1,79	81,82	88,33	27,87	76,00	16,88	18,84	11,50	27,83	21,05	17,30	38,51	19,39	28,37	42,56
<b>Sim</b>	<i>Mean</i>	61,6	4,2	5,6	73,6	76,4	77,4	303,6	146,1	2,1	1450,0	69,0	99,6	21,9	176,7	0,8
	<i>Min</i>	57,1	1,5	1,0	45,0	25,0	51,0	200,0	125,0	1,3	1140,0	48,0	43,0	14,6	145,0	0,3
	<i>Max</i>	63,8	6,0	7,5	95,0	100,0	111,0	365,0	168,0	2,6	1750,0	88,0	148,0	27,1	196,0	2,1
	<i>SD</i>	2,61	1,55	2,28	16,00	25,12	20,58	53,13	14,71	0,44	190,96	13,08	33,33	4,00	17,41	0,58
	<i>CV</i>	4,24	36,80	40,94	21,75	32,87	26,58	17,50	10,07	21,05	13,17	18,95	33,47	18,24	9,85	67,91

Posmatrajući vrednosti miksolabskih pokazatelja kvaliteta može se zaključiti da su izmerene vrednosti ispitivanih pokazatelja pod snažnim uticajem sorti (Tabela 5.5 i Tabela 5.5P). Prosečne vrednosti moći upijanja vode za sve ispitivane sorte i lokalitete su se kretale u rasponu od 53,74 do 61,67%. Minimalne vrednosti moći upijanja vode su zabeležene kod sorti Apač i Simonida. Vreme razvoja testa se kretalo između 2,76 i 4,85 min. Sorta Apač se odlikovala najkraćim vremenom razvoja testa. Vrednosti otpornosti testa na mešenje tj. vrednosti stabiliteta, u proseku su veoma bliske za sve ispitivane sorte, ukazujući na dobru toleranciju glutena na deformacije tokom mehaničke obrade testa. Izuzetak čini sorta NS-40S kod koje su zabeležene najmanje prosečne vrednosti stabiliteta. Najveće vrednosti koeficijenta varijacije su zabeležene kod vremena razvoja testa, pokazatelja koji ukazuje na stabilnost skrobne paste (C3-C4) i pokazatelja Miksolaba, koji posredno ukazuje na amilolitičku aktivnost brašna (ugao  $\gamma$ ), što znači da su ovi pokazatelji pod značajnim uticajem ispitivanih lokaliteta.

Prosečne vrednosti gluten indeksa, za sve ispitivane sorte su se kretale u opsegu od 81,86 do 98,29, ukazujući na različitu snagu glutena (od jakog do vrlo jakog). Takođe, dobijeni rezultati ukazuju na dominantan uticaj sorte u odnosu na lokalitet (Tabela 5.6 i Tabela 5.6P). Međutim, odgovarajuće vrednosti gluten indeksa određenog nakon prethodne inkubacije testa na 37 °C su bile znatno niže i u širokom opsegu vrednosti. Prosečne vrednosti gluten indeksa na 37 °C su se kretale u rasponu od 62,43 do 89,57. Za sorte Pobeda i Apač je karakteristična značajno veća vrednost koeficijenta varijacije u odnosu na druge sorte što znači da su ove dve sorte ispoljile različit kvalitet na ispitivanim lokalitetima gajenja. Neophodno je naglasiti da su se prosečne vrednosti gluten indeksa (bez prethodne inkubacije testa) u obe proizvodne godine, za sve ispitivane sorte neznatno razlikovale ne pružajući informacije o sortnim karakteristikama. Kako bi se stekao uvid u različit kvalitet glutena, dobijeni rezultati naglašavaju neophodnost određivanja gluten indeksa nakon njegove inkubacije. Do istih saznanja su došli Aja i sar. (2004) i Torbica i sar. (2007), koji su ispitivali kvalitet glutena brašna zdrave i insektima oštećene pšenice. Naime, pri određivanju gluten indeksa ovakvih pšenica bez prethodne inkubacije, nisu uočene jasne razlike u kvalitetu glutena, čak i u slučaju različitih genotipova. Nakon njegove inkubacije, izmerene vrednosti gluten indeksa su ukazivale na intenzivan hidrolitički proces koji uključuje redistribuciju po veličini proteina glutena. Kako ispitivani uzorci brašna poreklom iz 2011. i 2012. proizvodne godine nisu oštećeni insektima, smanjenje vrednosti gluten indeksa nakon njegove inkubacije na 37 °C ukazuje na njegovu degradaciju kao posledicu dejstva nativnih proteolitičkih enzima brašna. Što se tiče vrednosti specifične zapremine hleba, primetne su značajne razlike između ispitivanih sorti. Najveće vrednosti specifične zapremine hleba imale su sorte Zvezdana i Simonida, dok su se sorte Apač i NS-40S odlikovale najmanjim vrednostima ovog pokazatelja kvaliteta. Uzorci hleba najmanje specifične zapremine, proizvedeni od pšeničnih sorti Apač i NS-40S, kao što je i očekivano, odlikovali su se najvećim vrednostima čvrstoće i otpora žvakanju. Rezultati za specifičnu zapreminu su u saglasnosti sa rezultatima teksture hleba, jer na čvrstoću hleba značajan uticaj ima njegova zapremina kao i poroznost sredine hleba (Liu i Scanlon, 2003).



**Tabela 5.5.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti miksolabskih pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine (izražene po sortama)

Sorta		WAMix (%)	DevMix (min)	StabMix (min)	ElastMix (Nm)	C2 (Nm)	C3 (Nm)	C4 (Nm)	C5 (Nm)	C3-C4 (Nm)	C5-C4 (Nm)	$\alpha$ (Nm/min)	$\beta$ (Nm/min)	$\nu$ (Nm/min)
Pob	Mean	60,69	4,22	8,07	0,07	0,49	1,83	1,67	2,41	0,16	0,74	-0,06	0,44	-0,02
	Min	57,80	1,58	5,73	0,05	0,45	1,68	1,59	2,10	0,07	0,46	-0,08	0,40	-0,06
	Max	63,85	5,78	9,44	0,09	0,52	1,95	1,82	2,70	0,28	0,88	-0,03	0,49	-0,02
	SD	2,12	1,41	1,45	0,02	0,03	0,10	0,08	0,18	0,08	0,14	0,01	0,03	0,02
	CV	3,50	33,47	17,99	21,65	5,31	5,52	4,69	7,59	50,94	18,42	-22,79	6,57	-64,86
Zve	Mean	61,19	3,19	7,27	0,09	0,50	1,79	1,56	2,62	0,23	1,06	-0,06	0,39	-0,04
	Min	56,50	1,17	4,98	0,08	0,48	1,62	1,45	2,34	0,07	0,85	-0,08	0,23	-0,07
	Max	65,15	4,98	8,60	0,10	0,57	1,98	1,68	2,94	0,50	1,34	-0,04	0,47	-0,02
	SD	3,06	1,40	1,41	0,01	0,03	0,12	0,09	0,24	0,13	0,21	0,01	0,08	0,02
	CV	5,00	43,79	19,37	10,19	6,50	6,46	5,67	9,27	57,07	19,42	-21,88	21,73	-43,14
Gord	Mean	61,67	4,20	7,92	0,08	0,46	1,65	1,43	2,12	0,22	0,69	-0,06	0,42	-0,03
	Min	57,60	1,08	5,82	0,06	0,41	1,54	1,29	1,86	0,11	0,56	-0,08	0,36	-0,06
	Max	64,65	6,15	9,50	0,09	0,50	1,85	1,61	2,58	0,30	0,98	-0,05	0,45	-0,01
	SD	2,61	1,77	1,31	0,01	0,03	0,12	0,14	0,26	0,07	0,14	0,01	0,03	0,02
	CV	4,24	42,02	16,48	14,48	7,39	7,05	9,91	12,34	31,75	20,42	-16,95	6,81	-61,87
Ap	Mean	53,74	2,76	9,27	0,09	0,48	2,08	1,78	2,91	0,30	1,12	-0,07	0,48	-0,09
	Min	50,40	1,23	7,62	0,07	0,46	1,85	1,60	2,58	0,25	0,93	-0,10	0,43	-0,14
	Max	58,51	5,29	10,54	0,10	0,51	2,21	1,89	3,25	0,33	1,48	-0,04	0,53	-0,04
	SD	2,94	1,79	1,19	0,01	0,02	0,12	0,10	0,22	0,03	0,20	0,02	0,04	0,03
	CV	5,48	64,79	12,85	13,10	3,70	5,99	5,70	7,49	10,17	17,60	-28,33	8,15	-34,97
NS-40S	Mean	58,27	3,57	5,32	0,08	0,48	1,89	1,69	2,72	0,20	1,03	-0,06	0,41	-0,05
	Min	56,80	1,10	2,18	0,06	0,47	1,81	1,60	2,28	0,05	0,64	-0,09	0,30	-0,10
	Max	60,40	8,38	10,15	0,11	0,50	1,97	1,84	2,98	0,32	1,29	0,00	0,45	-0,01
	SD	1,10	3,10	3,62	0,02	0,01	0,06	0,09	0,23	0,11	0,23	0,03	0,05	0,04
	CV	1,89	86,78	68,06	22,28	2,45	3,24	5,33	8,62	52,20	21,82	-51,11	12,42	-76,54
Sim	Mean	55,51	4,85	7,87	0,07	0,49	1,86	1,49	2,73	0,37	1,24	-0,06	0,44	-0,03
	Min	54,30	1,10	2,38	0,05	0,45	1,79	1,29	2,59	0,29	1,16	-0,09	0,39	-0,09
	Max	57,10	6,47	9,17	0,09	0,55	1,97	1,68	2,88	0,50	1,34	-0,04	0,49	0,00
	SD	0,91	1,84	2,45	0,01	0,04	0,06	0,12	0,12	0,07	0,07	0,01	0,03	0,03
	CV	1,65	37,94	31,17	17,21	7,65	3,19	8,16	4,48	19,47	5,97	-22,68	6,93	-109,34

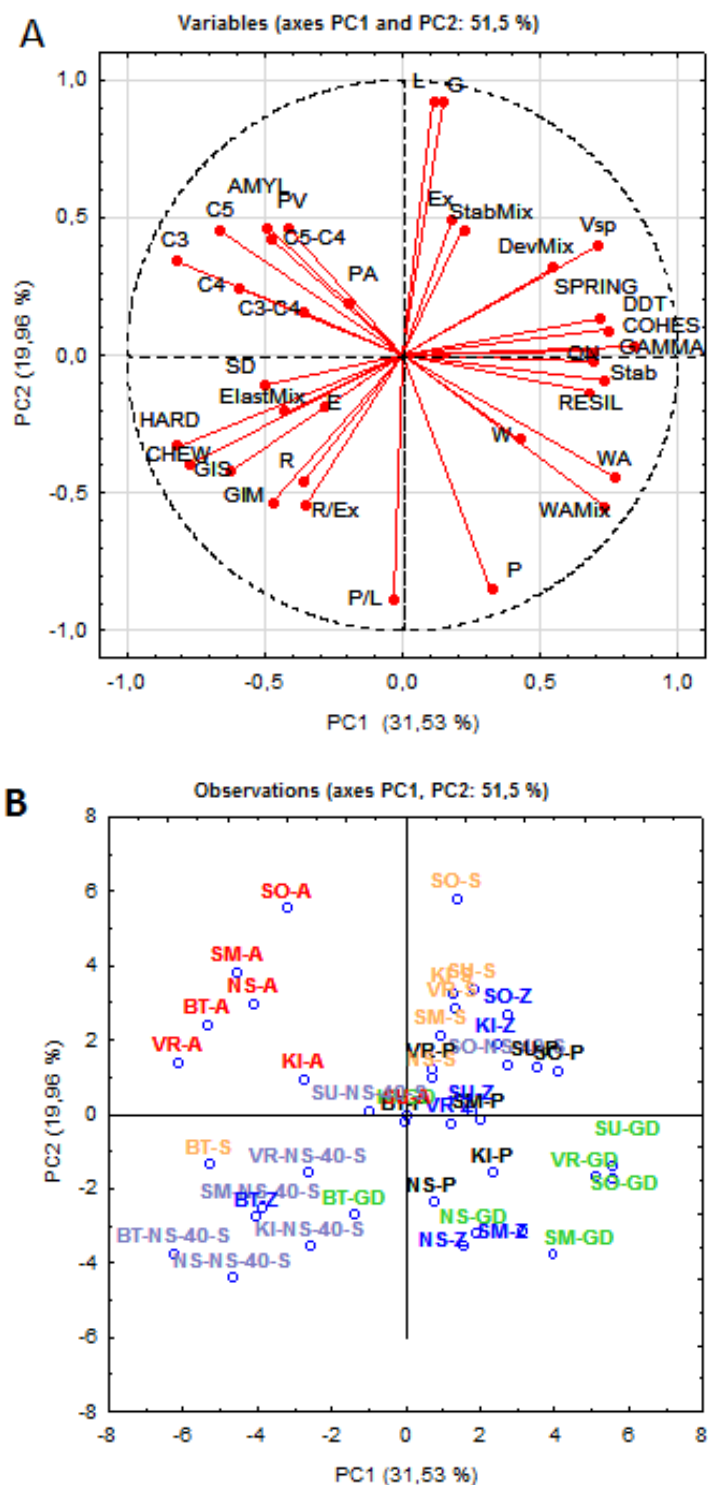
**Tabela 5.6.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti reoloških, pecivnih i teksturnih pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine (izražene po sortama)

Sorta		GIS	GIM	Vsp	Hard	Spring	Cohes	Chew	Resil
Pob	<i>Mean</i>	87,57	62,43	3,99	2866,24	1,00	0,73	2071,46	0,34
	<i>Min</i>	78,00	34,00	3,43	1766,07	0,99	0,70	1442,83	0,32
	<i>Max</i>	93,00	82,00	4,30	3535,21	1,01	0,80	2607,95	0,37
	<i>SD</i>	5,41	18,98	0,31	712,04	0,01	0,03	467,53	0,02
	<i>CV</i>	6,18	30,40	7,65	24,84	0,89	4,47	22,57	6,56
Zve	<i>Mean</i>	81,86	62,57	4,05	2544,39	1,00	0,77	1918,20	0,36
	<i>Min</i>	65,00	36,00	3,27	1319,33	0,98	0,65	1015,88	0,31
	<i>Max</i>	96,00	72,00	4,66	5289,46	1,03	0,83	3602,86	0,40
	<i>SD</i>	10,95	12,35	0,43	1332,12	0,02	0,06	839,12	0,04
	<i>CV</i>	13,37	19,74	10,72	52,36	1,70	7,92	43,75	9,89
Gord	<i>Mean</i>	91,70	76,17	3,95	2545,30	1,00	0,76	1914,50	0,36
	<i>Min</i>	83,00	57,00	3,45	1045,88	0,97	0,66	904,80	0,31
	<i>Max</i>	98,00	92,00	4,85	3930,31	1,03	0,84	3031,20	0,38
	<i>SD</i>	5,44	12,63	0,48	1029,86	0,02	0,06	679,86	0,03
	<i>CV</i>	5,93	16,58	12,05	40,46	1,69	8,46	35,51	7,66
Ap	<i>Mean</i>	95,85	70,89	3,65	4458,54	0,98	0,66	2836,87	0,32
	<i>Min</i>	89,93	24,00	3,18	3371,26	0,96	0,61	2367,79	0,27
	<i>Max</i>	99,00	90,00	3,90	6039,28	1,00	0,73	3655,98	0,35
	<i>SD</i>	3,16	21,95	0,26	848,73	0,01	0,04	423,10	0,03
	<i>CV</i>	3,29	30,97	7,24	19,04	1,22	6,67	14,91	9,89
NS-40S	<i>Mean</i>	98,29	89,57	3,60	5548,44	0,98	0,69	3753,37	0,32
	<i>Min</i>	96,00	76,00	2,82	2117,06	0,96	0,65	1648,30	0,29
	<i>Max</i>	100,00	100,00	4,55	8974,82	1,02	0,76	5569,76	0,37
	<i>SD</i>	1,70	9,07	0,51	2152,68	0,02	0,04	1249,29	0,03
	<i>CV</i>	1,73	10,13	14,19	38,80	2,38	6,35	33,28	9,86
Sim	<i>Mean</i>	84,29	65,57	4,07	2264,63	1,00	0,78	1712,37	0,34
	<i>Min</i>	76,00	46,00	3,51	1471,07	0,97	0,64	1240,69	0,27
	<i>Max</i>	100,00	78,00	4,70	4257,69	1,04	0,85	2610,66	0,37
	<i>SD</i>	8,28	12,93	0,36	940,17	0,02	0,07	482,08	0,03
	<i>CV</i>	9,82	19,72	8,89	41,52	2,10	9,17	28,15	9,89

### **5.3.5 Analiza glavnih komponenti primenjena na rezultate odabranih biohemijskih i reoloških pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine**

Analizom glavnih komponenti obuhvaćeni su svi uzorci pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine i primenjena je na sledeće promenljive: frakcije albumina, proteolitička i amilolitička aktivnost, pokazatelji kvaliteta mereni farinografom, ekstenzografom, amilografom, alveografom, Miksolabom, standardni i modifikovani gluten indeks, pecivni i teksturni pokazatelji tehnološkog kvaliteta. Rezultati su grafički predstavljeni kroz projekciju vektora ispitivanih promenljivih u faktorskim ravnima (*loading plot* -prikaz promenljivih, *score plot*-prikaz pozicioniranja uzoraka u odnosu na glavne komponente). Prve četiri PC komponente (Slika 5.29A (*loading plot*)) objašnjavaju 70,17% ukupne varijabilnosti osnovnog seta podataka, pri čemu prve dve komponente imaju najznačajni udeo u opisivanju početnih promenljivih (51,49%), te su za vizuelnu interpretaciju korelativnih odnosa one uzete u obzir. Rezultati statističke obrade su pokazali da su količine frakcija albumina pokazale veoma mali broj slabih korelacija. Frakcija albumina molekulske mase od 15-30 kDa je u slaboj korelaciji sa modifikovanim gluten indeksom a albuminska frakcija 50-60 kDa je u slaboj korelaciji sa pokazateljem Miksolaba C5, koji ukazuje na retrogradaciju skroba tokom perioda hlađenja. Što se tiče proteolitičke i amilolitičke aktivnosti, ustanovljen je mali broj značajnih korelacija čija se jačina kretala u rasponu od vrlo slabe do umerene ( $r < 0,41$ , odnosno  $r = 0,41 - 0,60$ ,  $p < 0,05$ ). Ustanovljena je slaba negativna korelacija proteolitičke aktivnosti sa stepenom omekšanja. Za dalju analizu uzete su u obzir samo one promenljive za koje su ustanovljeni jači korelativni odnosi ( $r > 0,5$ ). Za amilolitičku aktivnost utvrđena je umereno pozitivna korelacija sa miksolabskim pokazateljem kvaliteta C3, koji ukazuje na želatinizaciju skroba ( $r = 0,49$ ,  $p < 0,05$ ). Nisu utvrđene značajne korelacije između miksolabskog pokazatelja brzine slabljenja proteinske mreže usled zagrevanja ( $\alpha$ ) i proteolitičke aktivnosti. Utvrđena je umerena negativna korelacija između amilolitičke aktivnosti i miksolabskog pokazatelja brzine enzimske razgradnje skroba ( $\gamma$ ) ( $r = -0,53$ ,  $p < 0,05$ ). PC analiza je pokazala statistički značajne korelativne odnose između rada deformacije i određenih reoloških pokazatelja kvaliteta. Kao i u slučaju ispitivanih uzoraka brašna iz 2011. proizvodne godine, pronađena je negativna korelacija između rada deformacije ( $W$ ) i stepena omekšanja, s tim da je kod 2012. proizvodne godine ona manjeg intenziteta ( $r = -0,40$ ,  $p < 0,05$ ). Utvrđene su statistički značajne pozitivne korelacije ovog alveografskog pokazatelja kvaliteta sa energijom testa ( $E$ ) i vremenom razvoja testa određenog Miksolabom (DevMix) ( $r > 0,41$ ,  $p < 0,05$ ). Za razliku od prve proizvodne godine, nisu utvrđeni korelativni odnosi sa pecivnim karakteristikama ispitivanih uzoraka brašna. Utvrđena je pozitivna statistički značajna korelacija između energije testa modifikovanog gluten indeksa ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,05$ ). Za specifičnu zapreminu hleba kao najvažnijeg direktnog pokazatelja kvaliteta, utvrđena je jaka negativna korelacija sa pokazateljem teksture- čvrstoćom ( $r = -0,82$ ,  $p < 0,05$ ). Na Slici

5.29B (score plot) uočava se grupisanje ispitivanih uzoraka pšeničnog brašna, pri čemu dolazi do favorizacije karakteristika sorti.



**Slika 5.29.** PCA loading plot za ispitivane pokatelje kvaliteta (A) i score plot distribucije uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine (B)

### **5.3.6 Vrednosti odabranih pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna u ispitivanim proizvodnim godinama u odnosu na prethodni višegodišnji period**

U cilju sagledavanja frekvencije pojedinih nivoa kvaliteta po proizvodnim godinama svih analiziranih uzoraka pšeničnih brašna, grafički su predstavljene udeli odabranih opsega kvaliteta, kao i njihove prosečne vrednosti za svaku godinu posebno za sledeće pokazatelje: SD- stepen omekšanja određen farinografom (B), E- energija testa određena ekstenzografom- E (cm<sup>2</sup>), PV- maksimalni viskozitet određen amilografom- PV (AJ) i W- rad deformacije određen alveografom- W (x10<sup>-4</sup> J) (Slika 5.30).

Uzorke brašna iz 2012. u odnosu na 2011. proizvodnu godinu karakterišu lošiji farinogramski i ekstenzogramski pokazatelji, u smislu većeg stepena omekšanja i nižih vrednosti energije. U odnosu na višegodišnji prosek (Slika 5.31), prosečne vrednosti energije su bile znatno veće dok se vrednosti stepena omekšanja bile nešto manje.

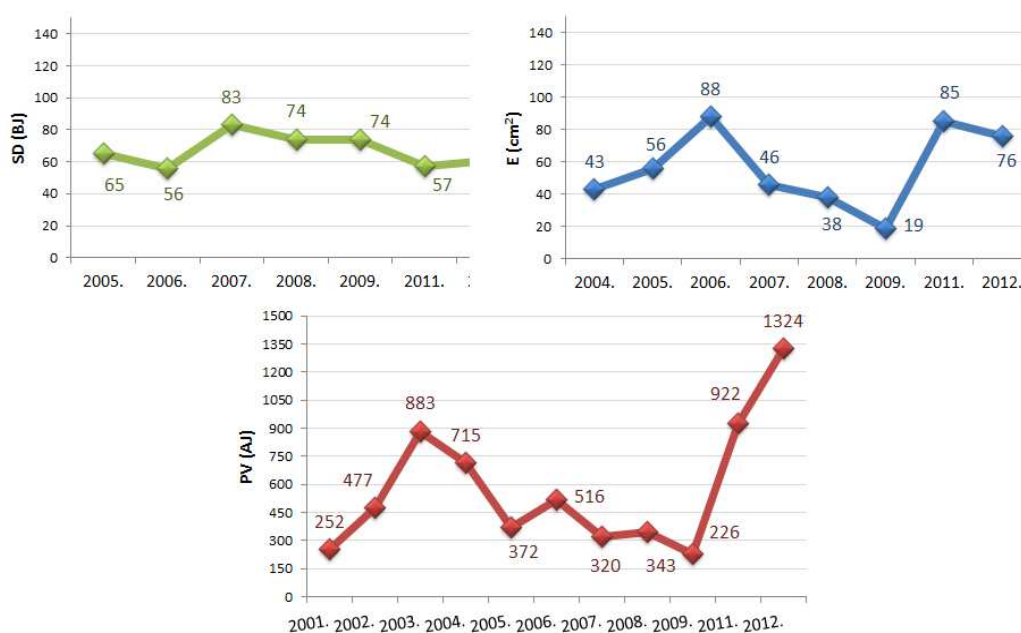
U pogledu vrednosti rada deformacije (W-pokazatelja alveografa), razlike između uzoraka brašna koji potiču iz dve proizvodne godine su mnogo manje, ali uopšte posmatrano prosečne vrednosti ovog pokazatelja ukazuju na dobar tehnološki kvalitet (više od 50% ispitivanih uzoraka brašna su imale vrednosti rada deformacije iznad 200) (AbuHammad i sar., 2012).

Za obe proizvodne godine karakteristične su izrazito visoke vrednosti maksimalnog viskoziteta na amilogramu, koje su bile daleko iznad optimuma pogodnog za pekarsku proizvodnju. U okviru ispitivanih proizvodnih godina, značajno većim PV vrednostima su se odlikovali uzorci iz 2012. proizvodne godine, tj. čak 75% ispitivanih uzoraka brašna su imali vrednosti PV >1000 AJ. Obzirom da se 2012. proizvodna godina odlikovala višim prosečnim temperaturama i većim brojem tropskih dana u odnosu na 2011. proizvodnu godinu, može se pretpostaviti da su vladajući nepovoljni uslovi narušili sintezu enzima, pre svega amilaza. Ovo je potvrđeno i rezultatima određivanja aktivnosti  $\alpha$ -amilolitičkih enzima, koje su bile značajno niže za pomenutu proizvodnu godinu. Usled toplotnog stresa moguće je da je došlo i do različitog stepena skraćivanja biosinteze proteina i skroba. Izmenjene osobine skrobno-amiloznog kompleksa se ogledaju kroz razlike u veličini granula skroba i njihovoj morfologiji, kao i načinu njihovog pakovanja u endospermu, što bi moglo imati uticaja na vrednosti maksimalnog viskoziteta (Thitisaksakul i sar., 2012). Na osnovu iznetog, može se pretpostaviti da su visoke vrednosti maksimalnog viskoziteta posledica načina pakovanja granula skroba i njihove veličine, a ne isključivo posledica amilolitičke aktivnosti. Usled izmenjenih klimatskih uslova, iste vrednosti standardnih pokazatelja kvaliteta pšenice i pšeničnog brašna danas imaju drugačije značenje nego pre par decenija (PV, broj padanja po Hagbergu, gluten indeks) (Aja i sar., 2004, Gélinas i McKinnon, 2011). U prilog hipotezi da maksimalni viskozitet (PV) nije više realan indirektni pokazatelj nivoa amilolitičke

aktivnosti zrna, idu i rezultati Ichinose i sar. (2001), koji pokazuju da su i pored relativno niskih vrednosti PV, ispitivani uzorci pšeničnog brašna ispoljili relativno dobar pecivni potencijal. Međutim, kako ostali pokazatelji kvaliteta ukazuju na relativno dobar tehnološki kvalitet ispitivanih uzoraka pšeničnog brašna (iz 2011. i 2012. proizvodne godine), redefinisane značaja uobičajenih tehnoloških pokazatelja postaje neophodno.



**Slika 5.30.** Frekvencije pojedinih nivoa kvaliteta po proizvodnim godinama svih analiziranih uzoraka pšeničnih brašna



**Slika 5.31.** Višegodišnji prosek odabranih pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna

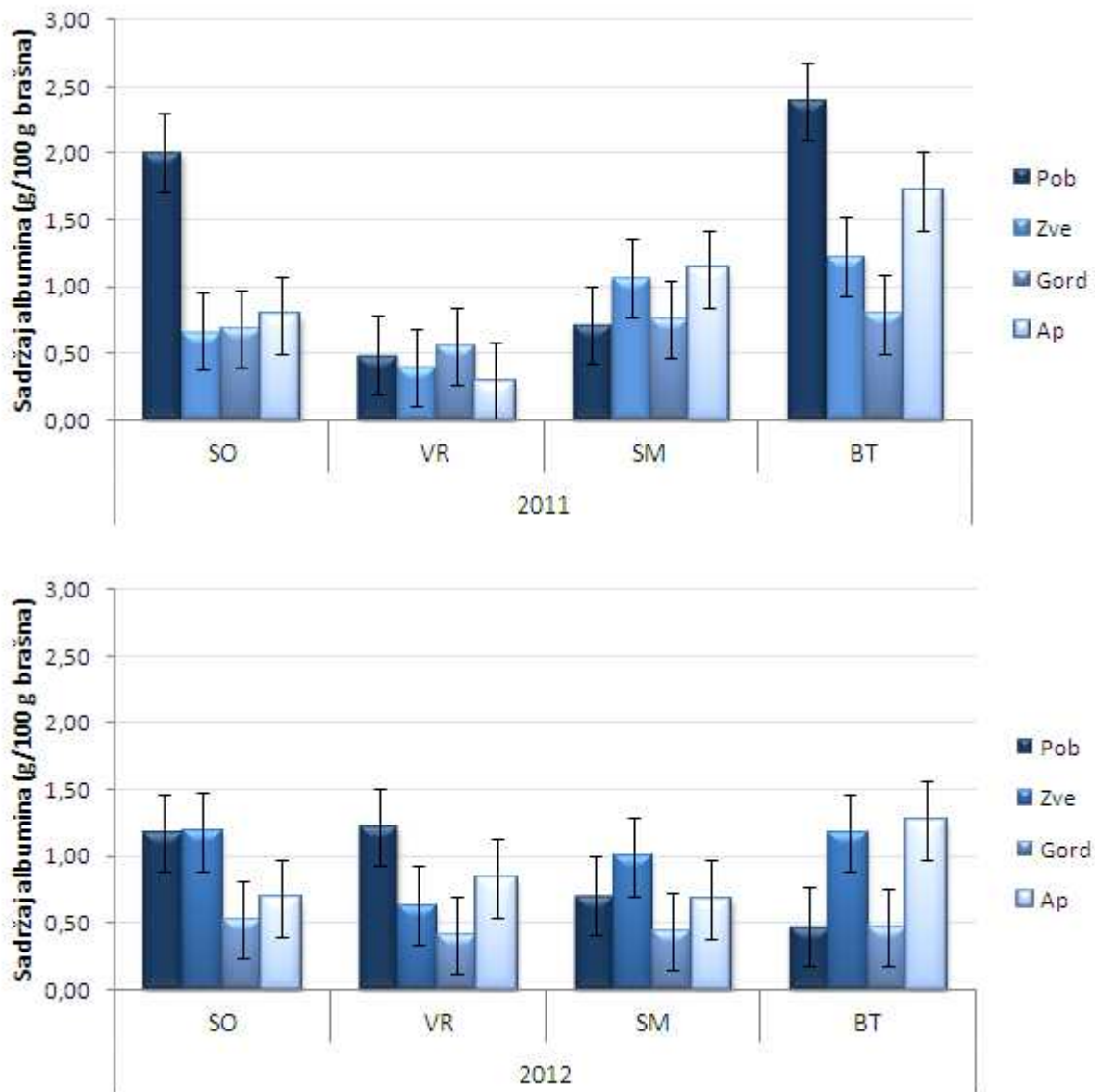
## **5.4 Uticaj proizvodne godine, sorte i lokaliteta na kvalitet pšeničnog brašna**

U ovom poglavlju doktorske disertacije razmatran je uticaj proizvodne godine, sorte i lokaliteta na odabrane biohemijske i kvalitativne pokazatelje uzoraka pšeničnog brašna, koji su po sortnoj pripadnosti i lokalitetu gajenja zastupljeni u obe proizvodne godine. Ispitivani uzorci pšeničnog brašna obuhvataju - četiri sorte (Pobeda, Zvezdana, Gordana i Apač) poreklom sa četiri lokaliteta (Sombor, Vršac, Sremska Mitrovica i Bačka Topola).

### **5.4.1 Karakterizacija albumina uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine**

Sadržaj albumina pšeničnog brašna, određen pomoću automatske kapilarne čip (LoaC) elektroforeze, uslovljen je sa sva tri ispitivana faktora (proizvodna godina, sorta i lokalitet) kao i njihovim interakcijama (Slika 5.32). Za 2011. proizvodnu godinu sadržaj albumina se kretao u rasponu od 0,29% do 2,39%, preračunato na brašno. Do sličnih rezultata su došli Chiang i sar. (2006). Varijabilnosti dobijenih rezultata doprinose interakcije ispitivanih faktora, međutim ukupan doprinos interakcija je manji i varijabilnosti sadržaja albumina najviše doprinose pojedinačni faktori. Sadržaj albumina za 2012. proizvodnu godinu je bio značajno manji ( $p < 0,05$ ), u odnosu na 2011. proizvodnu godinu i kretao se od 0,41 do 1,27%, preračunato na brašno. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Yang i sar. (2011), koji su, takođe, ustanovili smanjenje sadržaja albumina kao posledice toplotnog stresa tokom razvoja zrna, u periodu od cvetanja pa sve do pune zrelosti. Međutim, kako je već ranije navedeno, HMW albumini pokazuju tendenciju međusobnog povezivanja u polimere kao i povezivanja sa LMW gluteninima pomoću disulfidnih veza (Gianibelli i sar., 2001) što dodatno otežava postupak njihovog razdvajanja i kvantifikovanja (Kuktaite et al., 2003). Svi ovi faktori doprinose širokoj varijabilnosti dobijenih rezultata. Rezultati velikog broja istraživanja novijeg datuma ukazuju da toplotni stres u toku razvoja zrna utiče na akumulaciju i glutenskih i neglutenskih proteina (Ciaffi i sar., 1996; Johansson i sar., 2003; Moldestad i sar., 2011). Od neglutenskih proteina, nekoliko različitih studija navodi da su promene u sadržaju proteina, kao posledica visokih temperatura, najintenzivnije kod proteina koji imaju odbrambenu ulogu u biljci (Hurkman i sar., 2009; Majoul i sar., 2004). Uopšte posmatrano, promene neglutenskih proteina kao odgovor na nepovoljne klimatske uslove su relativno male i pre svega su sortno specifične (Stehno i sar., 2008; Irmak i sar., 2008). Rezultati ove doktorske disertacije takođe ukazuju na značajan uticaj sorte na sadržaj albumina. Uzorci brašna sorte Gordana su pokazali najmanje promene, dok su uzorci sorte Pobeda pokazali široku varijabilnost sadržaja albumina u odnosu na druga dva ispitivana faktora (proizvodnu godinu i lokalitet).

Prosečne vrednosti sadržaja albumina u okviru ispitivanih godina, jedino se ne razlikuju u slučaju sorte Apač (0,98 g/100 g brašna  $\pm$  0,58, za 2011. proizvodnu godinu; 0,87 g/100 g brašna  $\pm$  0,26, za 2012. proizvodnu godinu).



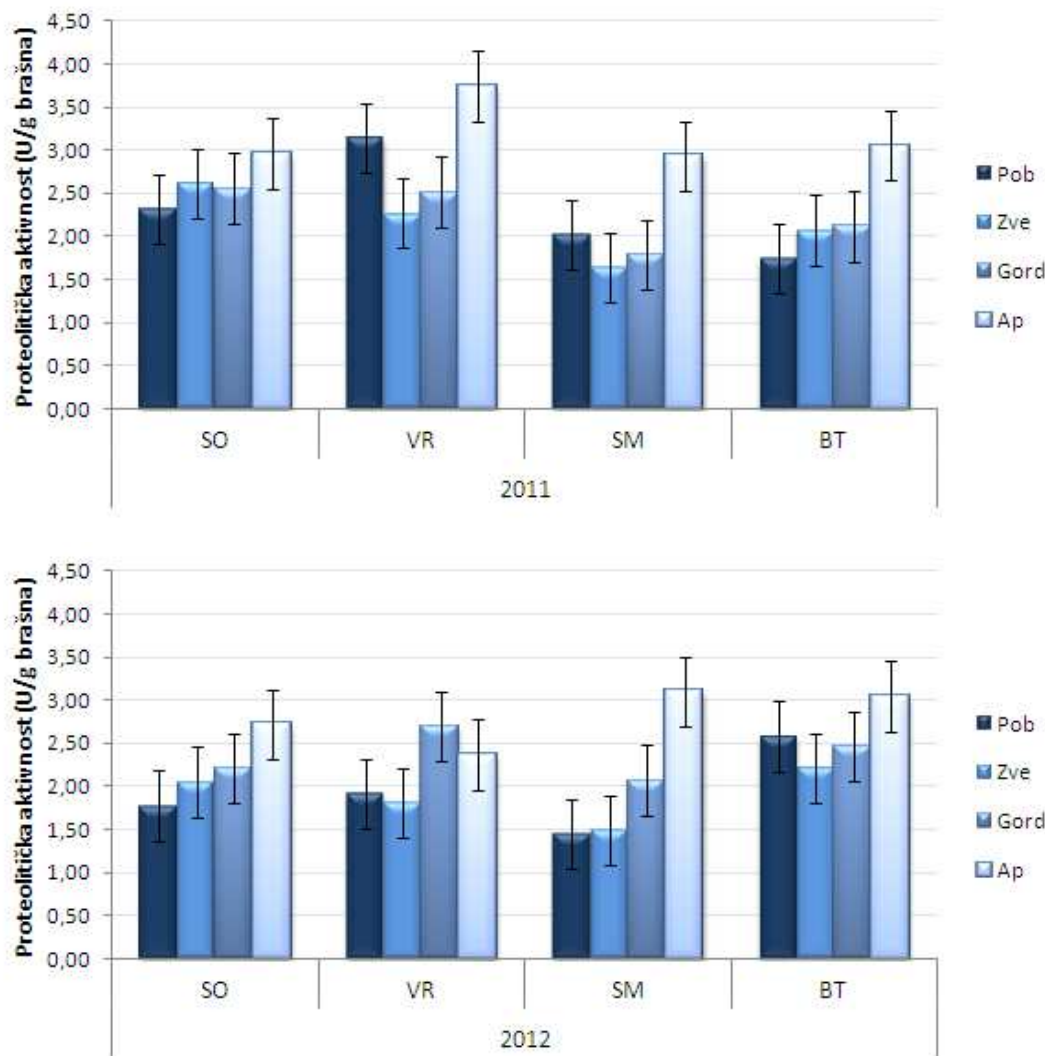
**Slika 5.32.** Uticaj proizvodne godine, lokaliteta gajenja i sorte na sadržaj albumina. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.



### **5.4.2 Proteolitička aktivnost uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine**

Pšenično brašno sadrži različite enzime, od kojih su najvažniji za obradu testa i kvalitet krajnjeg proizvoda- hleba, amilaze i proteaze (Dojczew i Sobczik, 2007). Proteolitička aktivnost zdrave pšenice je vrlo niska i ovi enzimi nisu aktivni sve do momenta dodavanja vode. Međutim, postoje studije u kojima se navodi povezanost proteolitičkih enzima brašna sa glutenom (Bleukx i sar., 1996). Njihova povećana aktivnost uzrokuje dekompoziciju glutena i promenu njegovih reoloških svojstava (Rani i sar., 2001).

Slika 5.33 prikazuje rezultate određivanja proteolitičke aktivnosti pšeničnog brašna u zavisnosti od proizvodne godine, sorte i lokaliteta gajenja. Proteolitička aktivnost ispitivanih uzoraka brašna za obe proizvodne godine se kretala u opsegu od 1,45-3,75 U/g. Dobijene vrednosti proteolitičke aktivnosti su uslovljene sa sva tri ispitivana faktora i njihovim interakcijama, pri čemu najveći doprinos varijabilnosti pokazuje sorta. Karakterizacija i procena nivoa ovih tehnološki važnih enzima je otežana zbog problema u njihovoj izolaciji i prečišćavanju, jer su prisutni u veoma maloj količini i imaju tendenciju formiranja agregata sa drugim proteinima (Chua i Bushuk, 1969). Generalno posmatrano, ukupna proteolitička aktivnost uzoraka iz 2011. proizvodne godine je bila statistički značajno veća u odnosu na 2012. proizvodnu godinu ( $p < 0,05$ ). U poređenju sa drugim sortama, sorta Apač se odlikovala najvećim vrednostima proteolitičke aktivnosti i bila je na približno istom nivou bez obzira na lokalitet sa kojeg sorta potiče.

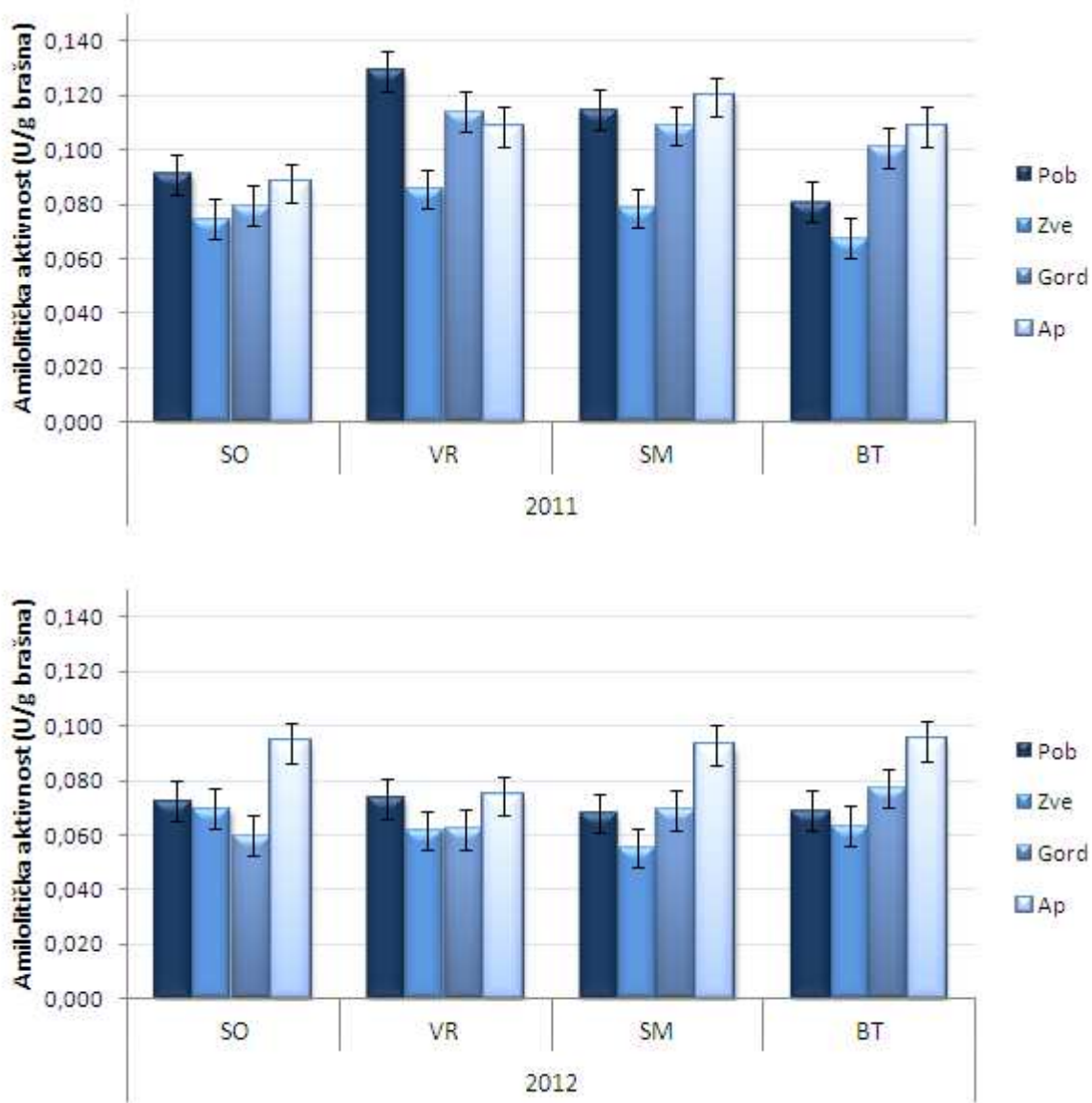


**Slika 5.33.** Uticaj proizvodne godine, lokaliteta gajenja i sorte na aktivnost proteolitičkih enzima. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

### 5.4.3 Amilolitička aktivnost uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine

Vrednosti amilolitičke aktivnosti ispitivanih uzoraka brašna iz obe proizvodne godine se kretala od 0,06 do 0,13 U/g (Slika 5.34). Rezultati amilolitičke aktivnosti, koja je pre svega sortna karakteristika, pokazali su široku varijabilnost u odnosu na sorte, ali je takođe pod uticajem i druga dva ispitivana faktora. U svom istraživanju, Johansson (2002) navodi da je nivo amilolitičke aktivnost pod snažnim uticajem genotipa i okoline (proizvodne godine, lokaliteta, sastava zemljišta, primenjenih agrotehničkih mera). U poređenju sa vrednostima amilolitičke aktivnosti uzoraka brašna iz 2011., uzorke brašna iz 2012. proizvodne godine karakterišu manje vrednosti amilolitičke aktivnosti (minimalne i maksimalne vrednosti su 0,06, odnosno 0,09 U/g brašna) i manje razlike uslovljene sortom i lokalitetom gajenja. Slično su uočili Gooding i sar. (2003) koji su,

ispitujući uticaj temperature i suše na razvoj i kvalitet zrna, utvrdili da su vrednosti broja padanja kao indirektnog pokazatelja amilolitičke aktivnost povećane (naročito usled povišene temperature). U pogledu sorti, dobijeni rezultati su pokazali da je najveća aktivnost zabeležena kod sorte Apač, naročito za 2012. proizvodnu godinu.



**Slika 5.34.** Uticaj proizvodne godine, lokaliteta gajenja i sorte na amilolitičku aktivnost. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm 0,95$  LSD.

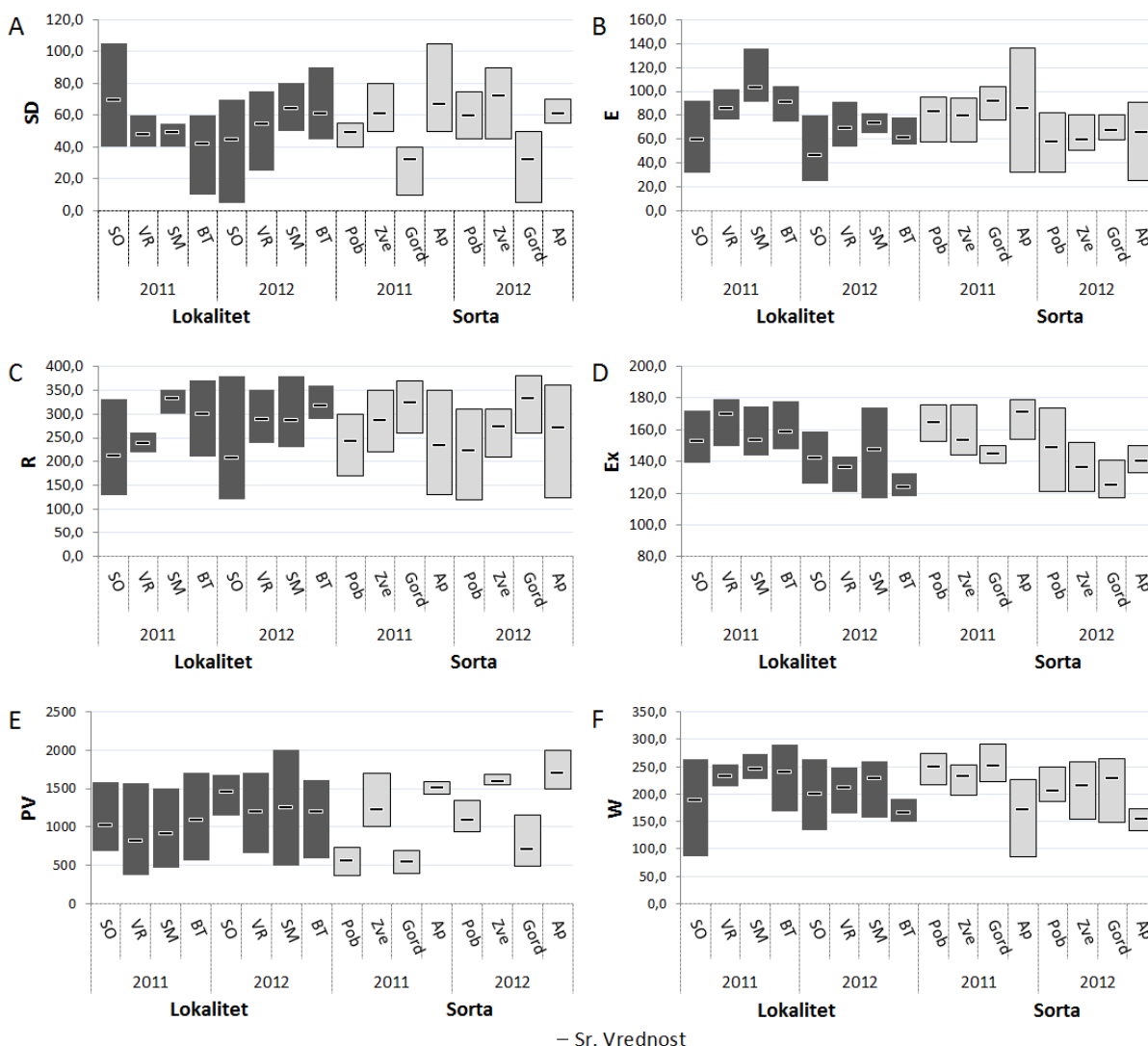
#### **5.4.4 Deskriptivna statistička analiza rezultata odabranih pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine**

U cilju ilustracije varijabilnosti odabranog seta podataka pokazatelja tehnološkog kvaliteta (stepen omekšanja određen farinografom, energija testa, otpor testa i rastegljivost testa određena ekstenzografom, maksimalni viskozitet određen amilografom, rad deformacije određen alveografom), primenjena je deskriptivna statistika i rezultati su prikazani na Slici 5.35. Ovom statističkom analizom su obuhvaćeni uzorci pšeničnog brašna četiri sorte (Pobeda, Zvezdana, Gordana i Apač) s područja četiri lokaliteta (SO, VR, SM, BT) iz dve proizvodne godine. Među brojnim pokazateljima empirijskih reoloških metoda, akcenat je stavljen na one pokazatelje koji se uobičajeno koriste za procenu kvaliteta pšeničnog brašna za određenu namenu.

Za sve merene pokazatelje kvaliteta uočljiva je široka varijabilnost, kojoj doprinose sva tri ispitivana faktora (godina proizvodnje, sorta i lokalitet), pri čemu je najznačajniji doprinos sorti. Uticaj sorte je naročito uočljiv kod alveografskog pokazatelja kvaliteta, što je u suprotnosti sa rezultatima objavljenim od strane Vázquez i sar. (2012), koji navode da su vrednosti alveografskih pokazatelja pod jačim uticajem okoline u odnosu na sortu. Posmatrano sa aspekta uticaja proizvodne godine, može se zaključiti da su nepovoljni klimatski uslovi u 2012. u različitoj meri doprineli pogoršanju pokazatelja tehnološkog kvaliteta.

Vrednosti farinografskog pokazatelja- stepena omekšanja su se kretale između 5 i 105 BJ, pri čemu je za većinu sorti karakterističan stepen omekšanja između 40 i 60 BJ. Sorta Gordana se odlikovala najmanjim vrednostima ovog pokazatelja, što ukazuje na dobru kohezivnost testa pšeničnog brašna ove sorte tokom postupka mešenja.

Vrednosti ekstenzografskih pokazatelja, rastegljivosti i otpora, kao indikatora kvaliteta testa tokom njegove obrade, bili su u širokom opsegu, ukazujući na različit nivo kvaliteta ispitivanih uzoraka pšeničnog brašna. Takođe, jasno je uočljiv uticaj sva tri ispitivana faktora na pomenute ekstenzografske pokazatelje, posebno uticaj proizvodne godine na vrednosti energije. Ispitivani uzorci pšeničnog brašna iz druge proizvodne godine su se odlikovali značajno nižim vrednostima ovog pokazatelja, tj. registrovana količina energije utrošena na rastezanje testa bila je manja u proseku za oko 25%. Smanjenje energije testa je, prema nekim autorima, povezano sa povećanjem količine glijadina (Ciaffi i sar., 1996; Moldestad i sar., 2011) ili po drugim autorima sa promenjenim tokom sinteze glutenina usled neotpornosti sorti prema toplotnom stresu (Blumenthal i sar. 1993; Castro i sar., 2007).



**Slika 5.35.** Opsezi i srednje vrednosti odabranih pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine: Stepen omekšanja određen farinografom-SD (BJ) (A); Energija testa određena ekstenzografom- E (cm<sup>2</sup>) (B); Otpor testa određen ekstenzografom- R (BJ) (C); Rastegljivost testa određena ekstenzografom- Ex (mm) (D); Maksimalni viskozitet određen amilografom- PV (A) (E); Rad deformacije određen alveografom- W (x10<sup>-4</sup> J) (F)

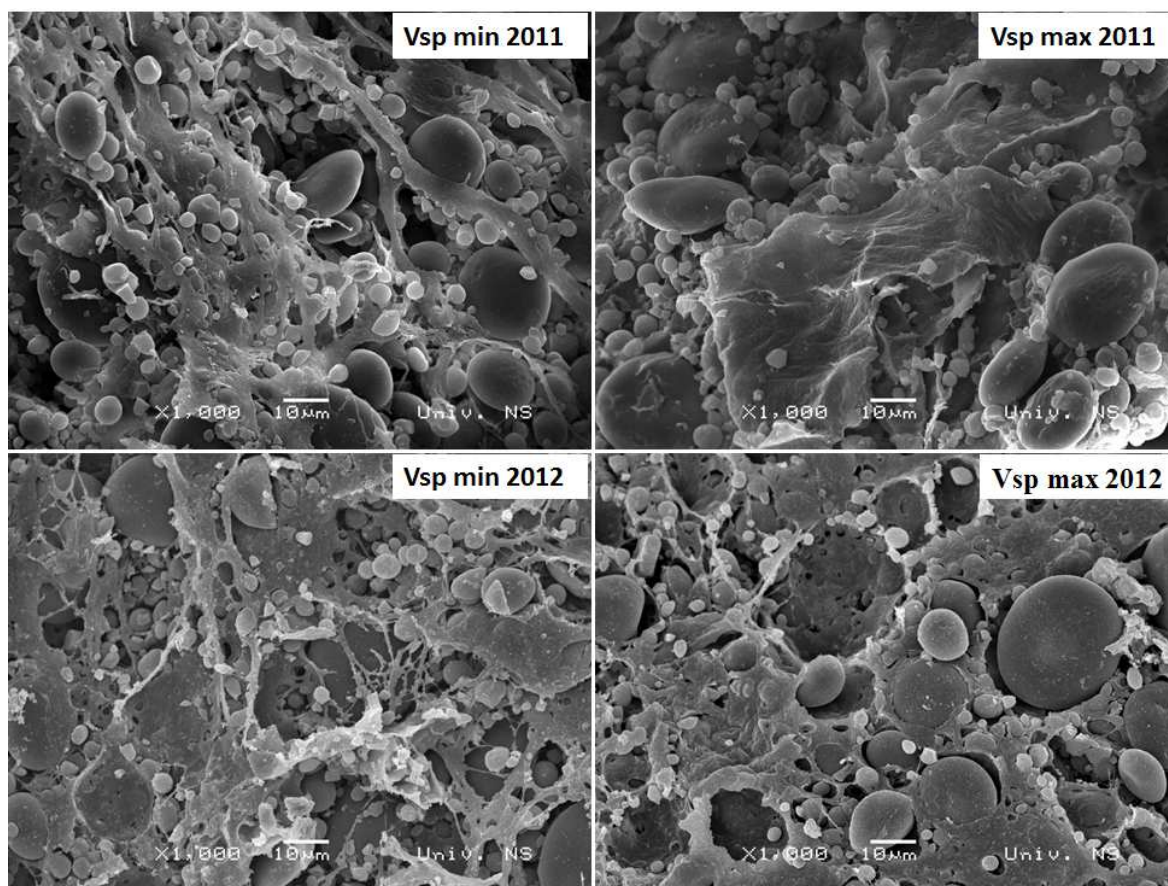
U pogledu amilografskog pokazatelja kvaliteta, značajno većim vrednostima maksimalnog viskoziteta, odlikovali su se uzorci iz 2012. proizvodne godine. Za obe proizvodne godine karakteristične su izrazito visoke vrednosti maksimalnog viskoziteta na amilogramu (>650 AJ). Izuzetak predstavljaju sorte Pobeda i Gordana iz 2011. proizvodne godine čije su vrednosti ovog pokazatelja odgovarale optimalnim vrednostima za pekarsku proizvodnju (450-650 AJ, Kaluđerski i Filipović, 1998). Uzorci brašna sorti Zvezdana i Apač su se odlikovali najvećim vrednostima maksimalnog viskoziteta, nezavisno od proizvodne godine i lokaliteta gajenja. Izrazito visoke vrednosti maksimalnog viskoziteta su u saglasnosti sa rezultatima amilolitičke aktivnosti. Međutim, pored navedenog, ove visoke vrednosti su posledica i načina pakovanja granula skroba i njihove veličine (Singh i Kaur, 2004).

Posmatrajući vrednosti alveografskog pokazatelja, rada deformacije, uticaj različitih klimatskih uslova je izražen u mnogo manjoj meri. Brašno sorte Apač se može okarakterisati kao slabije, sa najmanjom prosečnom vrednošću, dok su ostale sorte imale približno isti nivo vrednosti ovog pokazatelja kvaliteta ( $>200 \cdot 10^{-4}$  J) ukazujući na dobar tehnološki kvalitet ispitivanih uzoraka brašna (AbuHammad i sar., 2012). U 2011. proizvodnoj godini, sorta Apač je imala širok opseg vrednosti rada deformacije, koji se kretao od 86 do  $227 \cdot 10^{-4}$  J, i ove vrednosti su bile značajno manje od genetskog potencijala pomenute sorte (Schäfer i Ferret, 2005).

#### **5.4.5 Mikrostruktura testa uzoraka pšeničnog brašna**

U cilju iznalaženja objašnjenja uticaja gradivnih komponenti čestica brašna na reološke pokazatelje i kvalitet testa, odnosno hleba, na elektronskom mikroskopu snimljeni su uzorci testa od kojih je proizveden hleb, sa najmanjom i najvećom specifičnom zapreminom poreklom iz obe proizvodne godine (Slika 5.36).

Uzorci testa pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine se odlikuju većim brojem velikih granula skroba. U ovim uzorcima formirani matriks glutena je u obliku lamela i fibrila i struktura testa izgleda više rastresito, što znači da je u testu bilo više slobodne vode, u poređenju sa uzorcima testa iz 2012. proizvodne godine. Uzorci testa pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine su imali veće vrednosti moći upijanja vode, tako da je voda verovatno većim delom vezana unutar nabubrelih skrobnih granula, koje deluju čvršće uklopljene unutar kontinualnog proteinskog matriksa. Takođe, neophodno je naglasiti da su se uzorci testa pšeničnog brašna iz obe proizvodne godine, sa maksimalnim vrednostima specifičnih zapremina hleba, međusobno razlikovali isključivo po vrednostima maksimalnog viskoziteta (PV određen amilografom). Stoga se može zaključiti da su ove razlike u vrednostima maksimalnog viskoziteta, verovatno posledica načina pakovanja skrobnih zrna i njihovih veličina, jer rezultati ukazuju da nisu posledica razlika u amilolitičkoj aktivnosti.



**Slika 5.36.** Mikrostruktura testa od uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine sa minimalnim i maksimalnim vrednostima specifične zapremine hleba

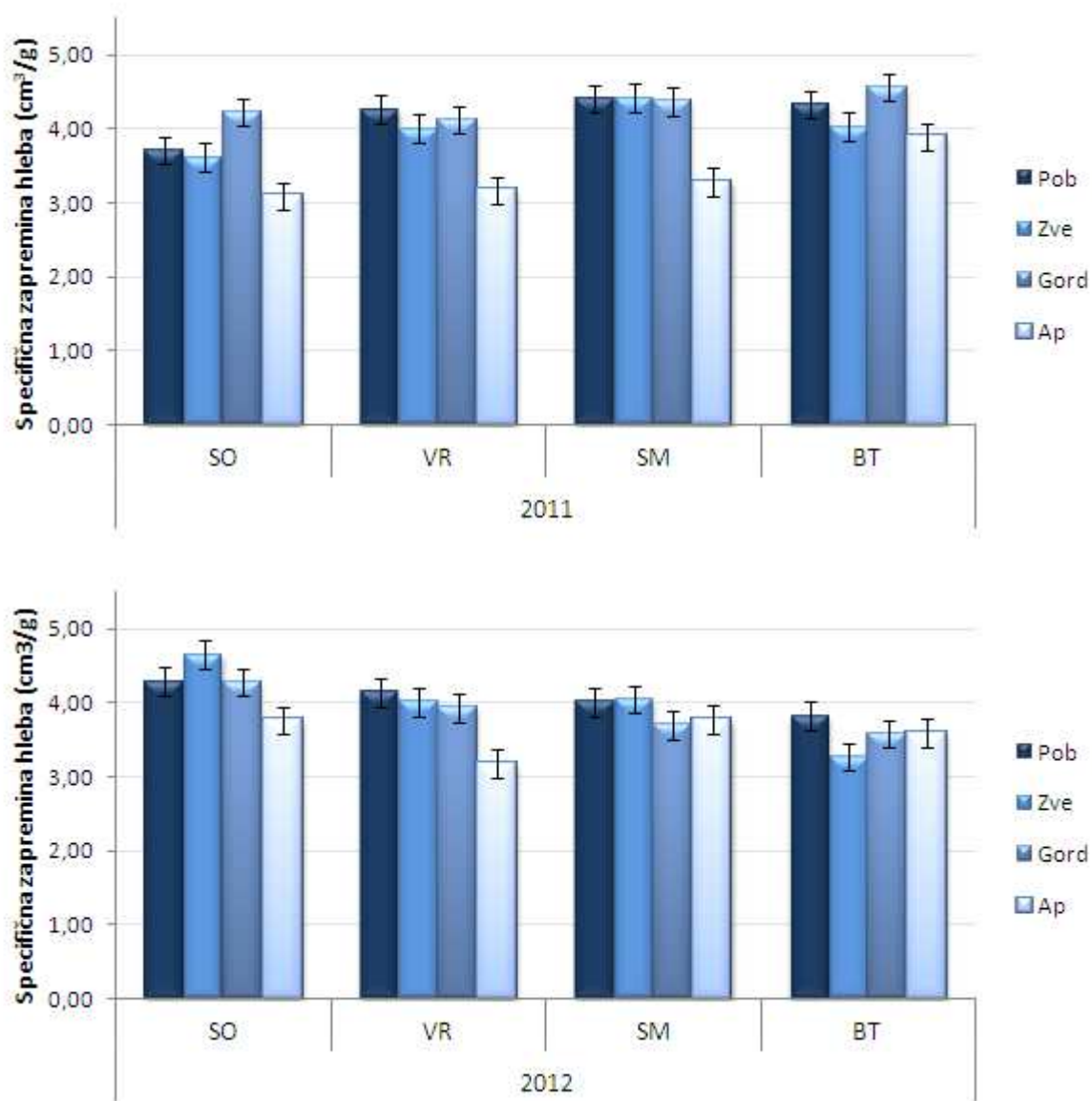
#### ***5.4.6 Pecivne karakteristike uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine***

Rezultati specifične zapremine hleba kao najvažnijeg direktnog pokazatelja kvaliteta su prikazani na Slici 5.37.

U poređenju sa uzorcima iz 2011. proizvodne godine, uzorci iz 2012. su imali znatno niže vrednosti ovog pokazatelja (Slika 5.37). Prema Blumenthal i sar. (1993), temperaturni stres menja tok biosinteze proteina u smislu ubrzavanja sinteze glijadina i narušavanja balansa proteina. Ovo za posledicu ima povećanje odnosa glijadini/glutenini što se negativno odražava na reološka svojstva testa i kvalitet krajnjeg proizvoda- hleba. Naime, ovi autori navode da temperaturni stres doprinosi smanjenju zapremine hleba. Kako su 2012. proizvodnu godinu karakterisale značajno više temperature, za koje je karakteristično da uzrokuju promene u sastavu i kvalitetu proteina (Panozzo i Eagles, 2000; Triboi i sar., 2003), moguće je da su ove razlike u specifičnoj zapremini upravo posledica toplotnog stresa. U prilog ovome idu i vrednosti drugih pokazatelja kvaliteta, koji ukazuju na različit stepen pogoršanja tehnološkog kvaliteta ispitivanih uzoraka brašna kao posledice nepovoljnih klimatskih uslova.

Najveće vrednosti specifične zapremine hleba imali su uzorci poreklom iz SO (najmanji broj tropskih dana i najveća suma padavina u junu). Hleb proizveden od brašna pšenične sorte Apač se odlikovao najnižim vrednostima specifične zapremine.

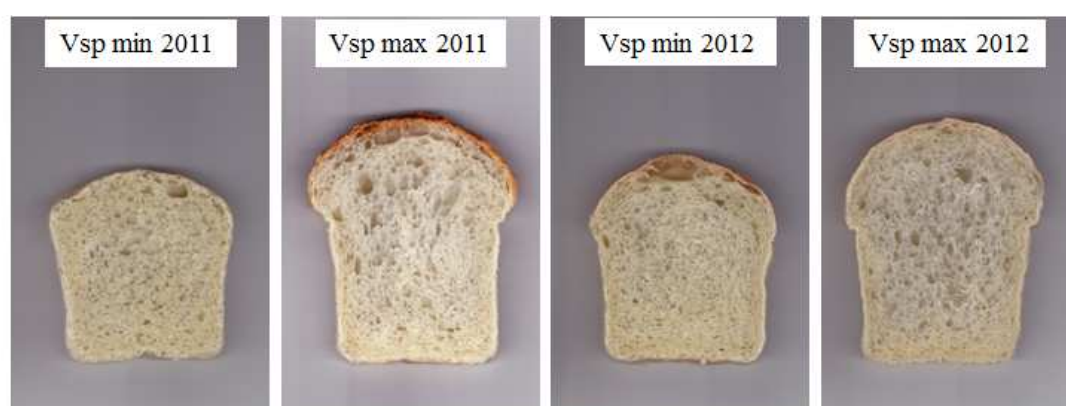
Upoređujući vrednosti reoloških pokazatelja kvaliteta, aktivnosti enzima i specifične zapremine hleba, može se zaključiti da je nivo ispitivanih enzima bio ispod optimalnog za proizvodnju kvalitetnog hleba što upućuje i na njegovu nedovoljnu količinu da bi mogao uzrokovati značajniji pad tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna. U stvari, dobijeni rezultati impliciraju da bi povećanje aktivnosti ovih enzima moglo biti od koristi za kvalitet hleba. Povećanje proteolitičke aktivnosti može da deluje povoljno na svojstva glutena, u smislu poboljšanja fleksibilnosti proteinske mreže i na kraju povećanja specifične zapremine Edwards i sar., 1989; Bombara i sar., 1997; Renzetti i Arendt; 2009).



**Slika 5.37.** Uticaj proizvodne godine, lokaliteta gajenja i sorte na specifičnu zapreminu hleba. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.



Kao ilustracija uticaja proizvodne godine tj. klimatskih uslova na pecivna svojstva, u tabeli u okviru Slike 5.38 su, pored fotografije preseka uzoraka hleba sa minimalnim i maksimalnim vrednostima specifične zapremine, navedene vrednosti odabranih pokazatelja kvaliteta (stepen omekšanja određen farinografom, energija testa određena ekstenzografom, maksimalni viskozitet određen amilografom, rad deformacije određen alveografom, specifična zapremina hleba, proteolitička i amilolitička aktivnost). Vrednosti odabranih pokazatelja kvaliteta testa od pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine, jasno pokazuju da razlike u specifičnim zapreminama hleba potiču od razlika u osobinama i proteinskog i skrobnog kompleksa brašna. S druge strane, u 2012. proizvodnoj godini, ove razlike se mogu pripisati isključivo osobinama proteinske komponente, jer se vrednosti maksimalnog viskoziteta praktično ne razlikuju.

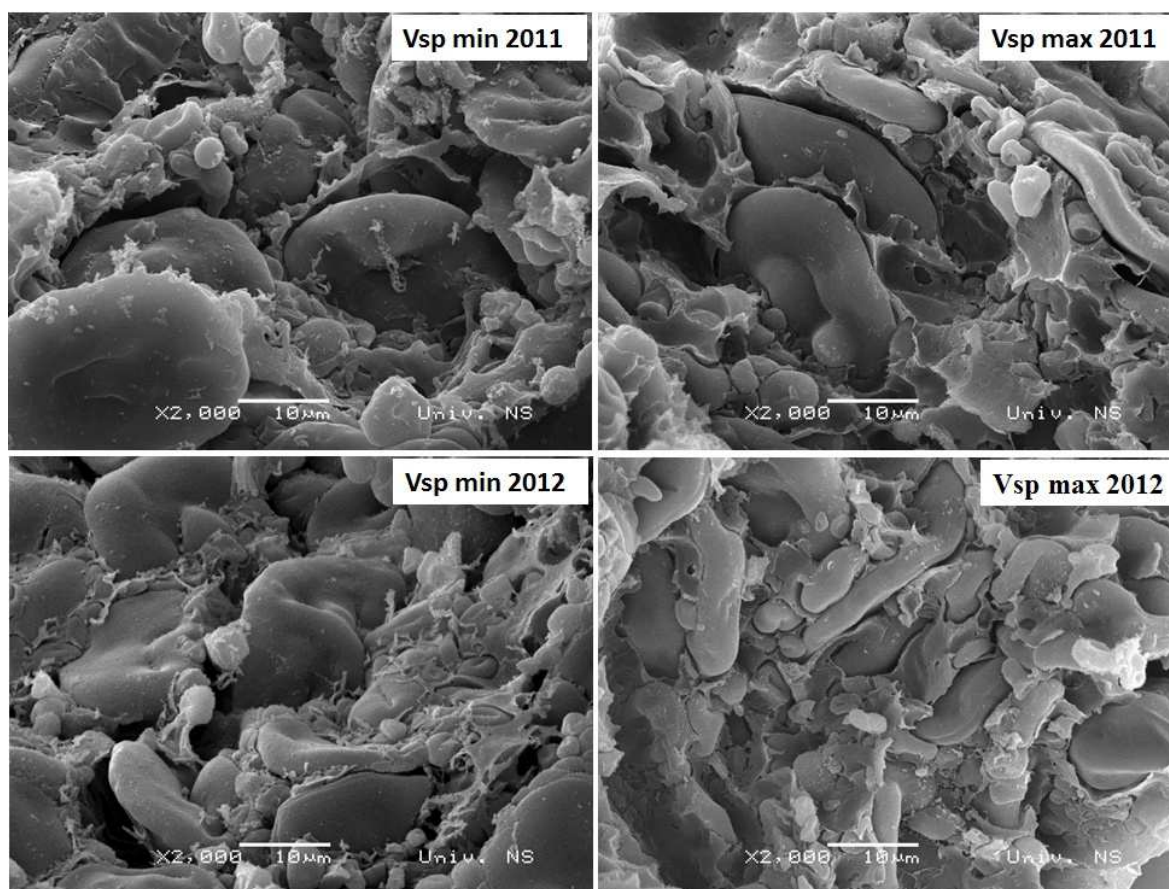


Sample	Vsp min 2011	Vsp max 2011	Vsp min 2012	Vsp max 2012
SD	105	10	90	45
E	32	104	55	51
PV	1585	560	1610	1680
W	86	291	154	223
Vsp	3.1	4.6	3.3	4.7
Proteolitička aktivnost	2.96	2.11	2.21	2.05
Amilolitička aktivnost	0.088	0.101	0.063	0.07

**Slika 5.38.** Fotografije poprečnih preseka uzoraka hleba proizvedenih od pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine sa minimalnim i maksimalnim vrednostima specifične zapremine i vrednosti odabranih pokazatelja tehnološkog kvaliteta i enzimske aktivnosti.

Slika 5.39 prikazuje mikrostrukturu uzoraka hleba proizvedenih od pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine sa minimalnim i maksimalnim specifičnim zapreminama. Razlike u strukturi zidova sredine hleba su jasno uočljive. Kod uzoraka sa maksimalnim vrednostima specifične zapremine hleba, delimično želatinizirane granule skroba su međusobno slepljene i deluju čvršće uklopljene u mrežu proteina i želatiniziranog skroba. U slučaju uzoraka sa minimalnim vrednostima specifične zapremine hleba, zidovi pora sredine hleba su sačinjeni od delimično nabubrelih granula skroba, koje nisu u potpunosti uklopljene u mrežu denaturisanog glutena i želatiniziranog skroba. Razlike

u strukturi zidova pora mogu biti posledica razlika u osobinama proteina, koje merimo radom deformacije na alveografu (biaksijalna naprezanja) i stepenom omekšanja merenog na farinografu.



**Slika 5.39.** Mikrostruktura hlebova uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine sa minimalnim i maksimalnim specifičnim zapeminama hleba

#### **5.4.7 Korelaciona analiza odabranih pokazatelja kvaliteta uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine**

Korelaciona analiza je primenjena na određene pokazatelje kvaliteta (frakcije albumina, proteolitička i amilolitička aktivnost, pokazatelji kvaliteta mereni farinografom, ekstenzografom, amilografom, alveografom, Miksolabom, standardni i modifikovani gluten indeks, pecivni i teksturni pokazatelji tehnološkog kvaliteta) pšeničnog brašna za svaku godinu posebno, kako bi prikazali različite međusobne odnose ispitivanih pokazatelja kvaliteta, koji indirektno ukazuju na značajni uticaj proizvodne godine.

Za potrebe analiziranja povezanosti albumina sa tehnološkim kvalitetom i pecivnim svojstvima uzoraka pšeničnog brašna, ukupni albumini su podeljeni na frakcije koje obuhvataju proteinske bendove iz četiri intervala molekulskih masa (5–15 kDa; 15–30 kDa; 30–50 kDa; 50–65 kDa). U Tabelama 5.7 i 5.8 prikazani su samo oni pokazatelji koji su pokazali statistički značajnu međusobnu povezanost.

U 2011. proizvodnoj godini, od albuminskih frakcija samo albuminska frakcija od 15-30 kDa je pokazala najveći broj statistički značajnih korelacija sa odabranim pokazateljima kvaliteta koji uključuju moć upijanja vode (WA i Wamix,  $r=-0,52$ , odnosno  $r=-0,55$ ,  $p<0,05$ ) i otpor rastegljivosti testa meren i uniaksijalno (R i R/Ex,  $r=-0,59$ , odnosno  $r=-0,65$ ,  $p<0,05$ ) i biaksijalno (P i P/L,  $r=-0,68$ , odnosno  $r=-0,64$ ,  $p<0,05$ ). Sve dosad navedene zavisnosti se odnose na proteinsku komponentu brašna. Takođe, ova albuminska frakcija je pokazala statistički značajan koeficijent korelacije sa ukupnom proteolitičkom aktivnošću ( $r=0,75$ ,  $p<0,05$ ). Vrednosti ukupne proteolitičke aktivnosti pokazuju statistički značajnu zavisnost, sa istim pokazateljima tehnološkog kvaliteta sa kojima i albuminska frakcija 15-30 kDa.

Rezultati obrade podataka su pokazali da udeli albuminskih frakcija 5-15 kDa i 50-65 kDa imaju značajne koeficijente korelacije sa miksolabskim pokazateljem kvaliteta C3-C4, koji ukazuje na stabilnost tople paste ( $r=-0,52$ , odnosno  $r=0,55$ ,  $p<0,05$ ). Prema nekim autorima, inhibitori amilaza se nalaze upravo u ovom opsegu molekulskih masa od 5-15 kDa (Singh i Skerritt, 2001b; Gao i sar., 2009).

Kako nisu utvrđeni jači korelativni odnosi između albuminske frakcije 5-15 kDa i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti, može se zaključiti da su klimatski uslovi za ispitivanu proizvodnu godinu bili nepovoljni, jer su vrednosti amilolitičke aktivnosti bile manje od potrebnih za postizanje optimalnog tehnološkog kvaliteta hleba.

S druge strane, korelacije između pokazatelja pecivnog kvaliteta i odabranih biohemijskih pokazatelja, prvenstveno albuminske frakcije od 15-30 kDa su negativne, ukazujujući na njihovu ulogu u smanjenju vrednosti ovog ključnog pokazatelja kvaliteta hleba. Weegels i sar. (1995) su ustanovili da LMW neglutenski proteini imaju nekonzistentan efekat na zapreminu hleba, koji je prvenstveno uslovljen sortnom pripadnošću. Kod sorti sa jakim glutenom, taj uticaj se manifestuje tako da dodatak LMW neglutenskih proteina povećava zapreminu hleba, dok kod sorti sa slabijim glutenom, taj uticaj nije izražen ili je negativan na isti pokazatelj kvaliteta. Pozitivna i značajna korelacija je nađena između proteolitičke aktivnosti i teksturnog pokazatelja kvaliteta hleba- čvrstoće ( $r=0,66$ ,  $p<0,05$ ). Moguće objašnjenje ove korelacije je da nivo proteolitičke aktivnosti nije bio dovoljno visok da izazove slabljenje glutena i smanjenje čvrstoće hleba. Za razliku od njih, vrednosti amilolitičke aktivnosti pokazuju statistički značajnu zavisnost samo sa pokazateljima tehnološkog kvaliteta merenih pomoću alveografa (L, G i P/L). Postojanje samo ovih korelacija podrazumeva da je nivo amilolitičke aktivnosti bio veoma nizak, i da je povećana aktivnost koja bi pozitivno uticala na obradu testa poželjna.

**Tabela 5.7.** Vrednosti koeficijenta korelacije između pokazatelja kvaliteta uzoraka pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine

<i>Pokazatelji kvaliteta</i>	ALB1	ALB2	ALB3	ALB4	PA	AMYL
WA		-0,50			-0,65	
R		-0,60				
Ex		0,61			0,60	
R/Ex		-0,65			-0,56	
P		-0,68			-0,68	
L					0,55	0,70
G					0,53	0,71
W		-0,55				
P/L		-0,64			-0,71	-0,60
WAMix		-0,55			-0,59	
DevMix		-0,65			-0,66	
C5					0,54	
C3-C4	-0,51			0,52		
C5-C4					0,57	
$\beta$					0,52	
$\gamma$		-0,55				
Vsp		-0,56			-0,72	
Hard		0,52			0,66	
Spring					-0,55	
Cohes		-0,59			-0,66	
Chew					0,68	

Za razliku od 2011. proizvodne godine, korelativna analiza izvedena za pokazatelje kvaliteta uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine je pokazala manji broj drugačijih korelacija. Među nekoliko korelacija sa  $r > 0,5$ , najinteresantnije su značajne korelacije između albuminskih frakcija 5-15 kDa i 50-65 kDa sa pokazateljima kvaliteta hleba. Pokazatelji kvaliteta dobijeni reološkim metodama nisu pokazali tako visoke korelacije sa ovim albuminskim frakcijama, kao oni pokazatelji koji se odnose na krajnji proizvod- hleb, verovatno zato što su ovi reološki pokazatelji u jakoj vezi sa drugim klasama proteina brašna, prvenstveno gluteninima i glijadinima. Naime, Gupta i sar. (1994) navode da su upravo proteini glutena u iznosu od oko 70% odgovorni za varijaciju kvaliteta hleba.

Kao i u slučaju 2011., u 2012. proizvodnoj godini vrednosti amilolitičke aktivnosti su pokazale statistički značajnu zavisnost sa pokazateljima tehnološkog kvaliteta merenih pomoći alveografa (P,L, G, W i P/L,  $r = -0,87$ ;  $r = 0,67$ ;  $r = 0,63$ ;  $r = -0,72$ , odnosno  $r = -0,66$ ,  $p < 0,05$ ). Brojne studije navode različite korelacione koeficijente između broja padanja po Hagbergu, kao indirektna mere za aktivnost  $\alpha$ -amilaze i određenih pokazatelja Miksolaba, koji se odnose na skrobnu komponentu brašna (Codinã i sar., 2010; Collar i sar., 2007; Szafrãnska, 2014). Rezultati korelacione analize za uzorke iz 2012. proizvodne godine su pokazali značajne pozitivne korelacije između amilolitičke

aktivnosti i pokazatelja miksolaba, koji ukazuju na želatinizaciju skroba (C3,  $r=0,67$ ), amilolitičku aktivnost (C4,  $r=0,62$ ) i retrogradaciju skroba (C5,  $r=0,60$ ). Uzimajući u obzir činjenicu da što je manja amilolitička aktivnost to je stabilnost tople paste veća (C4) (Collar i sar., 2007; Szafranska, 2014), pozitivna korelacija amilolitičke aktivnosti sa pokazateljem C4 je očekivana, s obzirom na niske vrednosti amilolitičke aktivnosti. Uprkos niskom nivou amilolitičke aktivnosti, značajne korelacije su dobijene sa teksturnim pokazateljima kvaliteta hleba, kao što su naknadna elastičnost (*springiness*), kohezivnost (*cohesiveness*) i inicijalna elastičnost (*resilience*) ( $r=-0,83$ ;  $r=-0,74$ , odnosno  $r=-0,72$ ,  $p<0,05$ ). To znači da je od uzoraka brašna većih vrednosti amilolitičke aktivnosti proizveden hleb lošijih teksturnih osobina.

**Tabela 5.8.** Vrednosti koeficijenta korelacije između pokazatelja kvaliteta uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine

Pokazatelji kvaliteta	ALB1	ALB2	ALB3	ALB4	PA	AMYL
WA					-0,71	-0,80
P					-0,69	-0,87
L						0,67
G						0,63
W					-0,58	-0,72
P/L						-0,66
WAMix					-0,75	-0,79
DevMix	0,53			-0,52		
ElastMix	-0,59			0,57		
C3						0,67
C4						0,62
C5				0,56		0,60
C5-C4				0,58		
$\alpha$	0,66			-0,55		
$\gamma$					-0,56	-0,65
GI					0,60	
Vsp	0,65			-0,51		
Hard	-0,63			0,53		0,50
Spring					-0,65	-0,83
Cohes	0,52			-0,55	-0,59	-0,74
Resil	0,52			-0,61	-0,56	-0,72

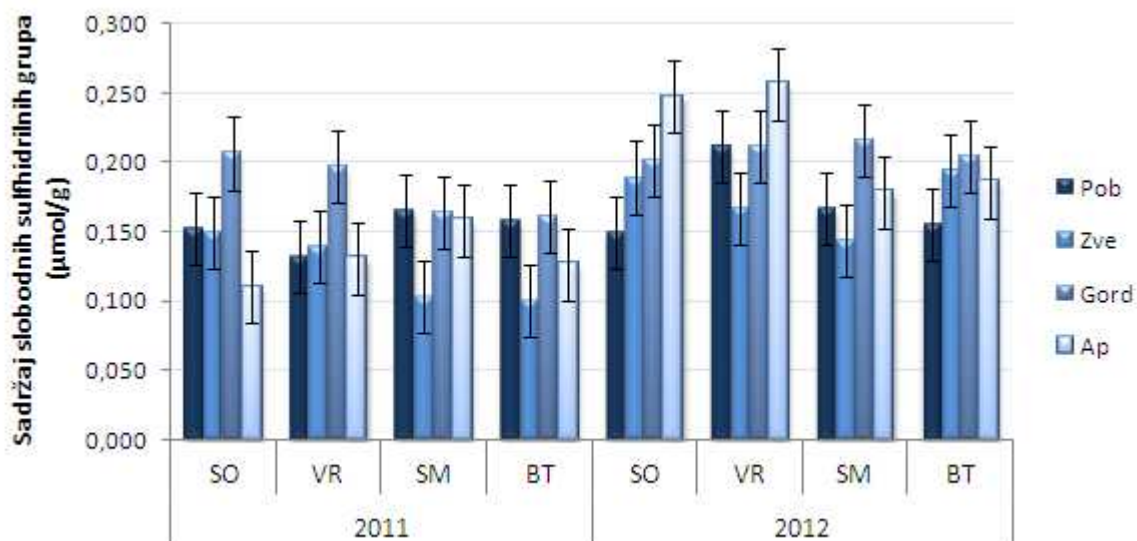
Takođe, neophodno je naglasiti da su korelacione analize izvedene za obe proizvodne godine pojedinačno, pokazale drugačije korelacije, kao i nepostojanje pojedinih korelacija između ispitivanih pokazatelja kvaliteta. Naročito zanimljive korelacije su one vezane za pokazatelje koji se uobičajeno koriste u praksi za ocenu kvaliteta pšeničnog brašna (Tabela 5.7P i 5.8P). Prema Codina i sar. (2011) mnogi pokazatelji Miksolaba mogu se uspešno koristiti za predviđanje vrednosti alveografskih pokazatelja, što je u suprotnosti sa dobijenim rezultatima. Jedini pokazatelj Miksolaba koji je pokazao visoku korelaciju sa alveografskim pokazateljem (P) u obe ispitivane godine, a što je potvrđeno

od strane navedenih autora, je moć upijanja vode. Dapčević i sar. (2009) su ispitujući korelativne odnose između miksolabskih pokazatelja i pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna, određenih farinografom i amilografom, utvrdili brojne visoke statistički značajne korelacije. Korelativna analiza sprovedena za svaku godinu zasebno je takođe pokazala statistički značajne korelacije istih pokazatelja kvaliteta, ali manjeg intenziteta. Naime, pronađena su statistički značajne korelacije između sledećih pokazatelja kvaliteta: moći upijanja vode određene farinografom i Miksolabom (WA, WAMix;  $r=0,96$  i  $r=0,95$  za svaku proizvodnu godinu zasebno), vremena razvoja testa određenim farinografom i Miksolabom (Dev, DevMix;  $r=0,56$  i  $r=0,57$  za svaku proizvodnu godinu zasebno) i pokazatelja Miksolaba C3 i maksimalnog viskoziteta određenog amilografom (C3, PV;  $r=0,82$  i  $r=0,68$  za svaku proizvodnu godinu zasebno). Kako je razlika u intenzitetu korelativnih odnosa evidentna u pogledu proizvodnih godina, može se zaključiti da su korelacije pod jakim uticajem kako sorte pripadnosti uzoraka koji se ispituju, tako i klimatskih uslova (Mastilović i sar., 2014).

#### **5.4.8 Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa i disulfidnih veza uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine**

Na Slikama 5.40 i 5.41 prikazane su vrednosti sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa i disulfidnih veza u zavisnosti od proizvodne godine, sorte i lokaliteta gajenja. Razlikama u sadržaju slobodnih sulfhidrilnih grupa najviše doprinose sorta i proizvodna godina, dok u slučaju disulfidnih veza, varijabilnosti dobijenih rezultata najviše doprinosi proizvodna godina i interakcija proizvodna godina x lokalitet. Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa za 2012. proizvodnu godinu je bio značajno veći ( $p<0,05$ ) ( $0,14-0,26$   $\mu\text{mol/g}$ ) u odnosu na 2011. proizvodnu godinu ( $0,10-0,21$   $\mu\text{mol/g}$ ).

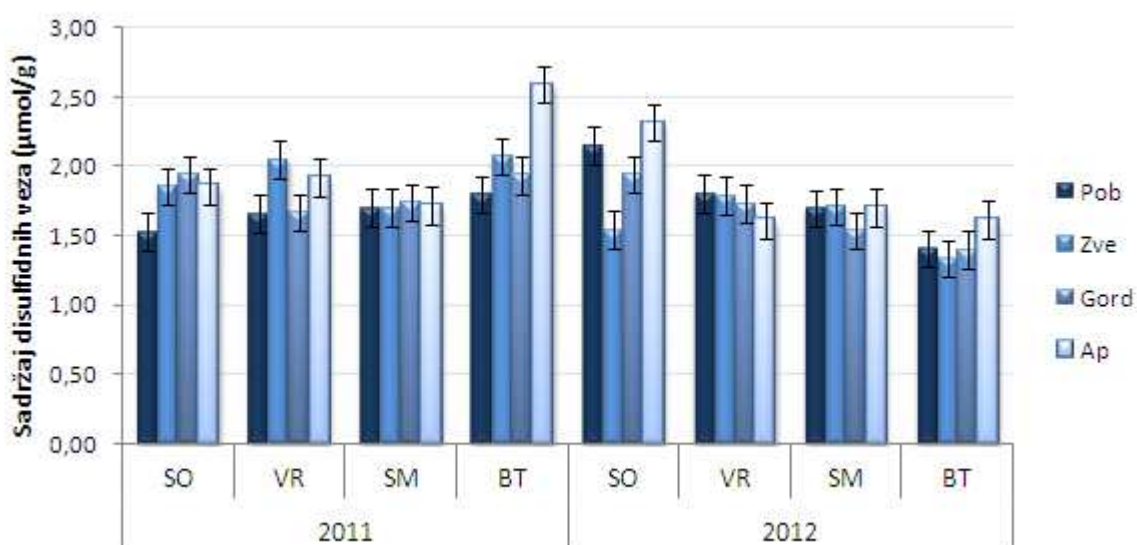
Moguće je da je značajno veći sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa za uzorke brašna iz 2012. proizvodne godine, uslovljen vrednostima maksimalnih temperatura i broja tropskih dana tokom perioda od cvetanja do žetve. Visoke temperature uzrokuju promene u sastavu i kvalitetu proteina, koje se manifestuju i kroz redukciju veličine gluteninskog polimera (Castro i sar., 2007, Irmak i sar., 2008, Naeem i sar., 2012). S druge strane, imajući u obzir osetljivost enzima na visoke temperature (Johansson i sar., 2013), pa samim tim i enzima disulfid izomeraze, koji učestvuje u formiranju polimera glutena (DuPont i sar., 1998, Hajheidari i sar., 2007; Hurkman i sar., 2009; Naeem i sar. 2012), može se pretpostaviti da je ovo značajno povećanje slobodnih sulfhidrilnih grupa posledica isključivo klimatskih uslova.



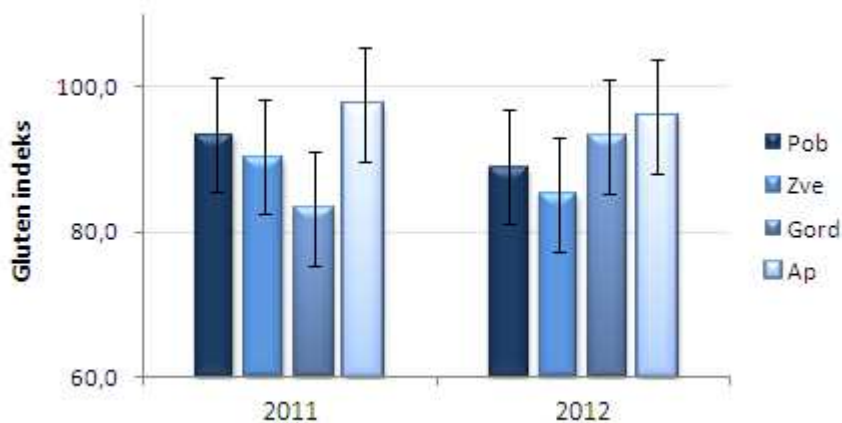
**Slika 5.40.** Uticaj proizvodne godine, lokaliteta gajenja i sorte na sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

Što se tiče sadržaja disulfidnih veza, posmatrajući po godinama značajno veći sadržaj je zabeležen za 2011. proizvodnu godinu. Vrednosti su se kretale u opsegu 1,33- 2,59  $\mu\text{mol/g}$ . Posmatrajući prosečne vrednosti, najveće vrednosti sadržaja sulfhidrilnih grupa i disulfidnih veza su zabeležene kod sorte Apač, dok je za sortu Gordana u 2012. proizvodnoj godini karakteristično najmanje variranje sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa, bez obzira na lokalitet sa kojeg sorta potiče (Slika 5.41).

Kako sadržaj disulfidnih veza ukazuje na kvalitet glutena, tj. veći sadržaj disulfidnih veza odgovara glutenu boljih reoloških karakteristika (Hayta i Schofield, 2004), dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima gluten indeksa (Slika 5.42).



**Slika 5.41.** Uticaj proizvodne godine, lokaliteta gajenja i sorte na sadržaj disulfidnih veza. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.



**Slika 5.42.** Vrednosti gluten indeksa ispitivanih sorti pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

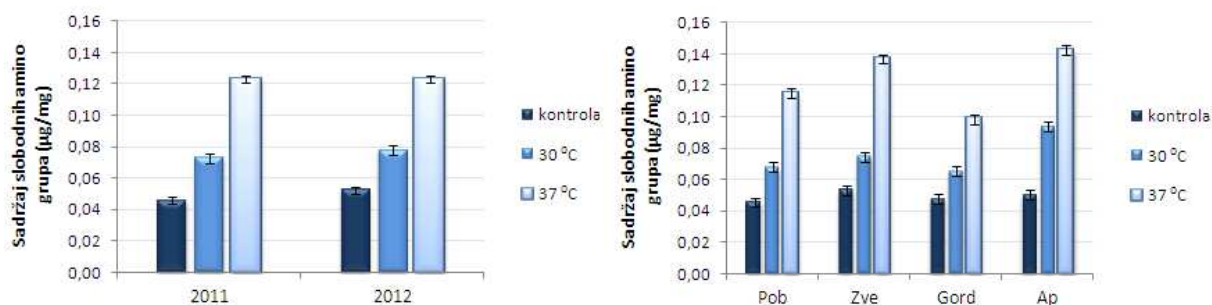
#### 5.4.9 Sadržaj slobodnih amino grupa uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine

Prosečne vrednosti sadržaja slobodnih amino grupa (NH<sub>2</sub>) imaju istovetan trend u obe proizvodne godine, tj. vrednosti rastu sa povećanjem temperature inkubacije glutena (Slika 5.43). Prosečne vrednosti na 37 °C iz obe godine su ujednačene. S obzirom da je ovaj pokazatelj indikator proteolitičke aktivnosti (Nielsen i sar., 2001), to znači da različite prosečne vrednosti za broj slobodnih NH<sub>2</sub> grupa izmerenih u netemperiranom glutenu i glutenu temperiranom na 37 °C, nisu prouzrokovane proteolitičkom aktivnošću enzima pšenice. Međutim, postoje izrazite razlike između vrednosti u netemperiranim uzorcima i onih u temperiranim na 30 °C- temperaturi obrade pšeničnog testa. Ove razlike opravdavaju primenu oba temperaturno-vremenska tretmana inkubacije glutena, pre određivanja sadržaja slobodnih NH<sub>2</sub> grupa, jer nas upućuju na razlike u kvalitetu pšeničnog testa koje se javljaju u realnom sistemu.

Razlike u sadržaju slobodnih NH<sub>2</sub> grupa koje su evidentne među ispitivanim sortama (Slika 5.43) u pogledu sva tri primenjena tretmana, ukazuju na uticaj sorte na kvalitet proteina (MacRitchie, 1992; Hayta i Schofield, 2004; Sliwinski i sar., 2004). Osim toga, postoje značajne razlike između vrednosti izmerenih na 37 °C, koje ukazuju na različitu proteolitičku aktivnost ispitivanih uzoraka pšeničnih sorti, što je koristan podatak u praksi.

Bez obzira na proizvodnu godinu i lokalitet gajenja, sorta Gordana se odlikuje najmanjim stepenom povećanja sadržaja slobodnih amino grupa, kao posledice različitog tretmana glutena. Sortu Apač karakterišu najveće vrednosti sadržaja slobodnih amino grupa, što je u saglasnosti sa rezultatima proteolitičke aktivnosti.





**Slika 5.43.** Uticaj proizvodne godine i sorte na sadržaj slobodnih amino grupa. Izmerene vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  0,95 LSD.

#### 5.4.10 Definisane nivoa enzimske aktivnosti pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine

Opsezi izmerenih vrednosti proteolitičke (PA) i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti (AMYL) brašna u proizvodnim godinama 2011 i 2012 prikazani su u Tabeli 5.9.

**Tabela 5.9.** Vrednosti proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti brašna u proizvodnim godinama 2011 i 2012

Svi uzorci	Proteolitička aktivnost (PA)			Amilolitička aktivnost (AMYL)		
	Min	Max	Sr. Vrednost	Min	Max	Sr. Vrednost
2011	1,06	3,75	2,36	0,068	0,154	0,102
2012	0,42	3,77	1,82	0,053	0,095	0,071

Kako bi se stekao uvid u to šta je optimalan nivo vrednosti za aktivnost proteolitičkih i amilolitičkih enzima, postavljeni su dodatni eksperimenti. U tom cilju broj ukupnih uzoraka pšeničnog brašna, iz obe godine, je sveden na broj uzoraka koji se po pripadnosti sortama i lokalitetima podudaraju u obe godine. Na taj način eksperiment je sveden na ukupno 16 uzoraka u svakoj godini - četiri sorte (Pobeda, Zvezdana, Gordana i Apač) i četiri lokaliteta (Sombor, Vršac, Sremska Mitrovica i Bačka Topola). U Tabeli 5.10 prikazani su opsezi proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti, izmereni u uzorcima brašna iz eksperimenta sa redukovanim brojem uzoraka (4x4).

**Tabela 5.10.** Vrednosti proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti redukovano broja uzoraka brašna u proizvodnim godinama 2011 i 2012

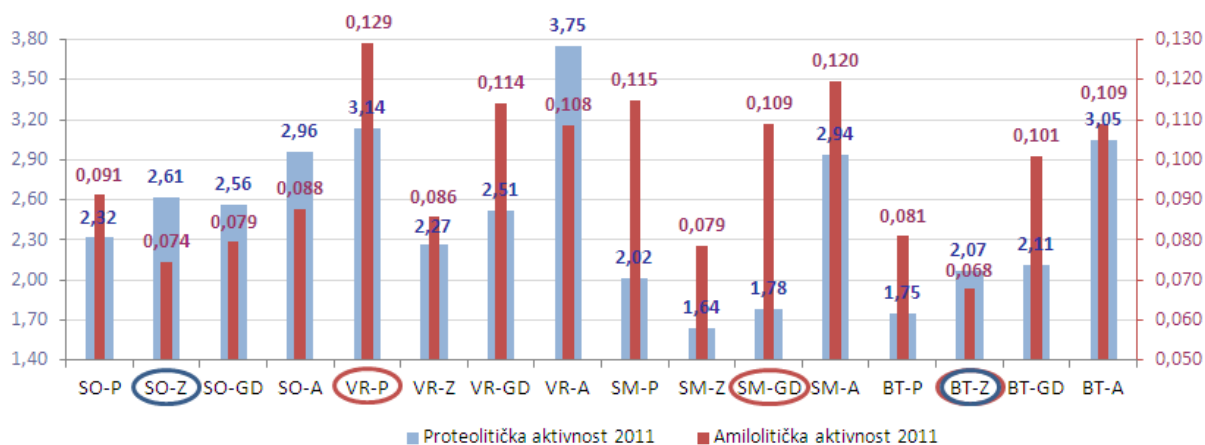
4x4	Proteolitička aktivnost (PA)			Amilolitička aktivnost (AMYL)		
	Min	Max	Sr. Vrednost	Min	Max	Sr. Vrednost
2011	1,64	3,75	2,47	0,068	0,129	0,10
2012	1,45	3,10	2,25	0,055	0,095	0,07

Za detaljniji eksperiment radi utvrđivanja uticaja proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti na tehnološki kvalitet pšenice, napravljena je selekcija uzoraka koji su sadržali međusobno različite kombinacije nivoa proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti. To je urađeno na sledeći način: sve vrednosti enzimske aktivnosti su izražene kao procenat od maksimalne vrednosti, pri čemu su odabrane sledeće kombinacije (Tabela 5.11):

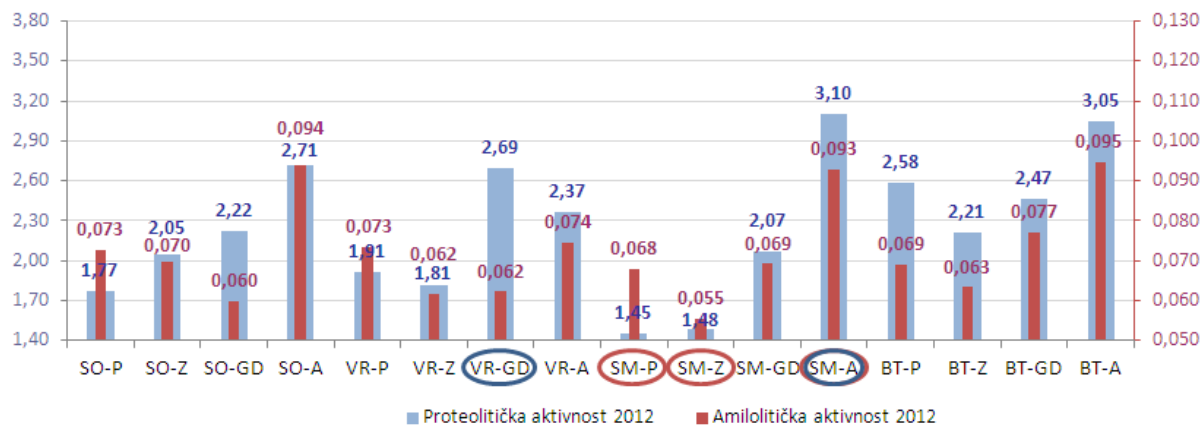
**Tabela 5.11.** Selekcija uzoraka na osnovu različitog nivoa proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti

		% od max AMYL	% od max PA
2011	SO-Z	57,7	69,7
	VR-P	100,0	83,6
	SM-GD	84,5	47,5
	BT-Z	52,5	55,2
2012	VR-GD	65,4	86,8
	SM-P	71,6	46,8
	SM-Z	58,2	47,8
	SM-A	97,8	100,0

Na Slikama 5.44 i 5.45, grafički su predstavljene vrednosti proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti odabranih uzoraka brašna koji su sadržali međusobno različite kombinacije nivoa proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti (Slike 5.44 i 5.45):



**Slika 5.44.** Selekcija uzoraka iz 2011. proizvodne godine na osnovu različitog nivoa proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti



**Slika 5.45.** Selekcija uzoraka iz 2012. proizvodne godine na osnovu različitog nivoa proteolitičke i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti

Radi ispitivanja uticaja povećanja količine ispitivanih enzima, u testu odabranih uzoraka pšeničnog brašna dodali smo ekstrahirane liofilizirane albumine, poreklom iz brašna istih uzoraka. Postupak je obuhvatao vodenu ekstrakciju ukupnih albumina iz 600 g brašna svakog uzorka, koji su kasnije liofilizirani dodati u zames testa od 200 g matičnog pšeničnog brašna. Na taj način je u obogaćenim uzorcima pšeničnog testa polazna koncentracija proteolitičkih i amilolitičkih enzima u svakom od 8 odabranih uzoraka, teoretski povećana 4 puta. Međutim, metodom po Lowry-u utvrđeno je da je sadržaj proteina u testu sa dodatim liofilizatima približno udvostručen.

Za definisanje poželjnog i nepoželjnog nivoa ispitivanih enzima, odabrali smo najočigledniji tehnološki pokazatelj kvaliteta hleba- specifičnu zapreminu hleba (Vsp). Poređenje uzoraka hleba proizvedenih sa povećanom količinom ukupnih albumina, sa kontrolnim uzorcima iz obe proizvodne godine, prikazano je na Slikama 5.46 i 5.47.

Pokazatelj kvaliteta/Uzorak	SO-Zve 2011	SO-Zve 2011 + ALB	VR-Pob 2011	VR-Pob 2011 + ALB	SM-Gord 2011	SM-Gord 2011 + ALB	BT-Zve 2011	BT-Zve 2011 + ALB
SD	80	-	40	-	40	-	60	-
E	58	-	89	-	97	-	94	-
PV	1120	-	370	-	590	-	1700	-
W	197	-	254	-	233	-	246	-
Prot. aktivnost	2,61	-	3,14	-	1,78	-	2,07	-
Amil. aktivnost	0,074	-	0,129	-	0,11	-	0,068	-
Vsp	3,5	3,9	4,1	4,2	4,4	4,7	4,0	4,0
Čvrstoća	5070,6	2241,7	2774,9	2120,0	2629,5	2081,6	3924,8	2285,9

**Slika 5.46.** Fotografije poprečnih preseka kontrolnih uzoraka hleba i uzoraka hleba sa povećanom količinom ukupnih albumina i odgovarajuće vrednosti odabranih pokazatelja tehnološkog kvaliteta i enzimske aktivnosti (2011. proizvodna godina)

Kvalitet hleba sa dodatkom liofiliziranih albumina se poboljšao u malom stepenu u smislu povećana specifične zapremine, za razliku od postignutog značajnijeg poboljšanja teksture sredine hleba (u smeru omekšavanja) (Slika 5.46). Dobijeni rezultati potvrđuju prethodno izvedene zaključke da je ispitivana enzimska aktivnost bila na niskom nivou i da je povećanje ovih aktivnosti poželjno. Za određene sorte je, čak utvrđeno da je sa povećanjem nivoa aktivnosti proteolitičkih i amilolitičkih enzima, kao posledice proklijavanja pšenice, poboljšan pecivni kvalitet (Edwards i sar., 1989). Seguchi i sar. (2009) takođe navode da dodatak mekinja proklijale pšenice u cilju povećanja amilolitičke aktivnosti deluje pozitivno na pecivni kvalitet pšeničnog brašna. Naime, dejstvom amilaza dolazi do hidrolize amiloze i amilopektina u glukozu, maltozu i

oligosaharide koje su manje sklone retrogradaciji. Produkti hidrolize male molekulske mase interferiraju sa lancima amilopektina ometajući proces njihove rekristalizacije prilikom starenja hleba. Na taj način  $\alpha$ -amilaze, modifikujući strukturu skroba, smanjuju iznos retrogradacije a samim tim brzinu starenja i čvrstoću sredine hleba (Defloor i Delcour, 1999).

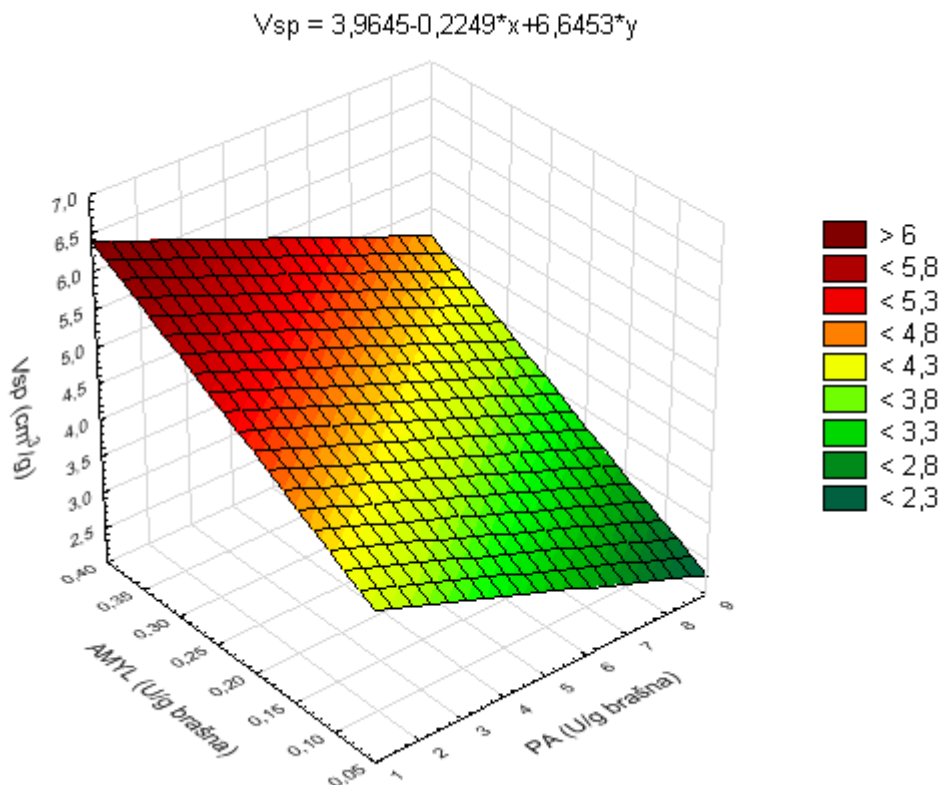
Pokazatelj kvaliteta/Uzorak	VR-Gord 2012	VR-Gord 2012 + ALB	SM-Pob 2012	SM-Pob 2012 + ALB	SM-Zve 2012	SM-Zve 2012 + ALB	SM-Ap 2012	SM-Ap 2012 + ALB
SD	25	-	75	-	80	-	55	-
E	69	-	82	-	80	-	70	-
PV	660	-	960	-	1580	-	2000	-
W	248	-	249	-	259	-	156	-
Prot. aktivnost	2,69	-	1,45	-	1,48	-	3,10	-
Amil. aktivnost	0,062	-	0,068	-	0,055	-	0,093	-
Vsp	3,9	5,6	3,9	5,6	3,9	4,4	3,8	4,0
Čvrstoća	2774,9	2120,0	3208,2	1289,7	1947,4	1265,3	4727,0	3585,8

**Slika 5.47.** Fotografije poprečnih preseka kontrolnih uzoraka hleba i uzoraka hleba sa povećanom količinom ukupnih albumina i odgovarajuće vrednosti odabranih pokazatelja tehnološkog kvaliteta i enzimske aktivnosti (2012. proizvodna godina)

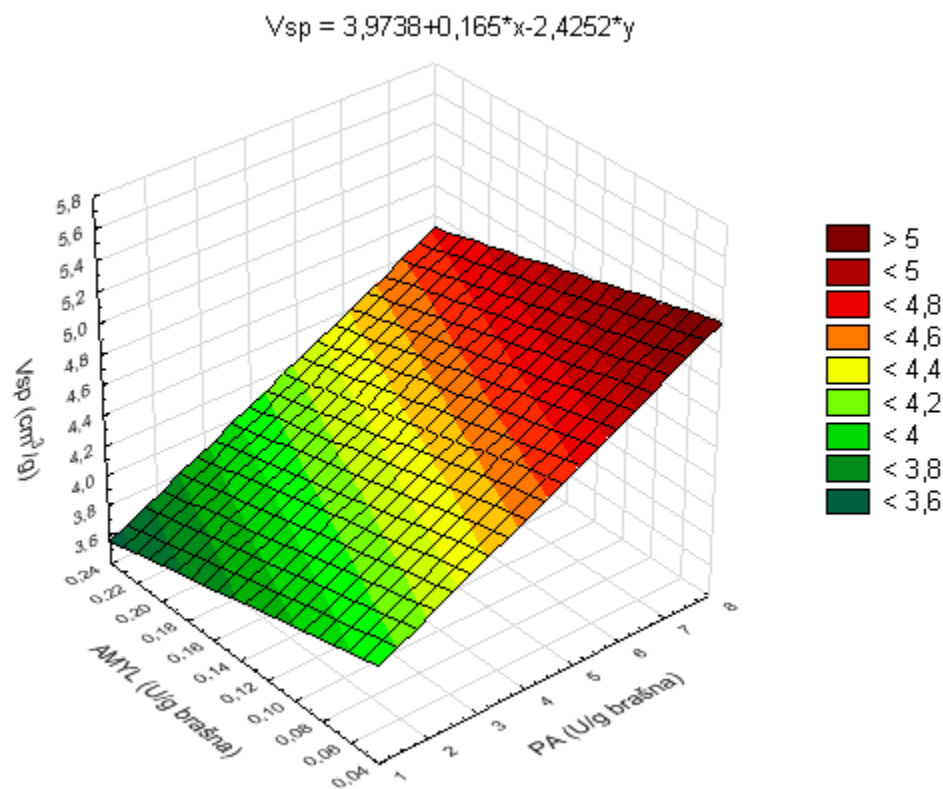
U odnosu na uzorke iz 2011., kvalitet hleba uzoraka iz 2012. proizvodne godine se sa dodatkom liofiliziranih albumina znatnije poboljšao u smislu povećanja specifične zapremine i teksture sredine hleba (u smeru omekšavanja) (Slika 5.47).

Na Slikama 5.48 i 5.49 grafički je, pomoću 3D-dijagrama, prikazan uticaj aktivnosti proteolitičkih i amilolitičkih enzima na vrednost specifične zapremine hleba, u ispitivanim proizvodnim godinama posebno.



**Slika 5.48.** Uticaj aktivnosti proteolitičkih i amilolitičkih enzima na vrednost specifične zapremine hleba odabranih uzoraka pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine

Dobijeni rezultati pokazuju da specifična zapremina hleba u 2011. proizvodnoj godini, isključivo zavisi od vrednosti amilolitičke aktivnosti (Slika 5.48). Povećanjem amilolitičke aktivnosti, Vsp se značajno povećava, dok aktivnost proteolitičkih enzima ima uticaj na povećanje Vsp samo u slučaju sa kombinacijom maksimalne amilolitičke aktivnosti i to pri svojim manjim vrednostima. Na osnovu ovoga moguće je zaključiti da je pšenično brašno imalo manjak amilolitičkih enzima za postizanje optimalnog tehnološkog kvaliteta. U prilog tome idu i rezultati prikazani na Slici 5.46, koji pokazuju da se manjim vrednostima proteolitičke aktivnosti u 2011. godini mogu smatrati dva puta veće vrednosti od polaznih 1,78 i 2,61 U/g brašna (3,56 i 5,22 U/g brašna). Pri ovim vrednostima postignuta su povećanja specifične zapremine od 11%, odnosno 6% u odnosu na kontrolne uzorke.



**Slika 5.49.** Uticaj aktivnosti proteolitičkih i amilolitičkih enzima na vrednost specifične zapremine hleba odabranih uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine

Dobijeni rezultati pokazuju da specifična zapremina hleba u 2012. proizvodnoj godini isključivo zavisi od vrednosti proteolitičke aktivnosti, jer njenim povećanjem Vsp se značajno povećava (Slika 5.49). Aktivnost amilolitičkih enzima ima uticaj na povećanje Vsp, samo u slučaju sa kombinacijom maksimalne proteolitičke aktivnosti i to pri svojim manjim vrednostima. Na osnovu ovoga moguće je zaključiti da je pšenično brašno imalo manjak proteolitičkih enzima za postizanje optimalnog tehnološkog kvaliteta. U prilog tome idu i rezultati prikazani na Slici 5.47, koji pokazuju da se manjim vrednostima amilolitičke aktivnosti u 2012. godini mogu smatrati vrednosti manje od dva puta veće vrednosti od polaznih 0,093 U/g brašna (0,186-U/g brašna) pri kojima izostaje bitno povećanje Vsp.

## 6 Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci, koji se odnose na period posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije brašna:

- Elektroforetska karakterizacija albumina ukazuje na variranje sadržaja albumina tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije brašna. Te razlike su se manifestovale kao nestajanje i pojavljivanje podjedinica albumina u opsegu većih molekulskih masa i kao razlike u intenzitetu obojenosti bendova u opsegu manjih molekulskih masa, koje nastaju usled agregacije albumina ili njihovog povezivanja sa drugim komponentama.
- Tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice dolazi do jačanje strukture glutena, o čemu svedoči povećanje vrednosti standardnog i modifikovanog gluten indeksa. Registrovano povećanje sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa u istom periodu, upućuje na zaključak da se odigrava reorganizacija gluteninskih i glijadinskih frakcija unutar/iz makropolimera glutenina. S druge strane, vrednosti sadržaja vlažnog glutena se smanjuju.
- Tokom stabilizacije pšeničnog brašna, vrednosti gluten indeksa dobijenih uz prethodnu inkubaciju glutena na temperaturi od 37 °C, statistički su značajno niže ( $p < 0,05$ ) u odnosu na vrednosti gluten indeksa, dobijenih po standardnoj metodi.

Ispitivane sorte nisu pokazale razlike u pogledu gluten indeksa određenog po standardnoj metodi, dok su razlike u vrednosti gluten indeksa određenog nakon inkubacije na 37 °C evidentne.

- Rezultati određivanja proteolitičke aktivnosti tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije brašna, su pokazali da su najveće vrednosti izmerene u uzorcima fiziološki zrele pšenice. Karakterističan je i trend smanjivanja ukupne proteolitičke aktivnosti ispitivanih uzoraka na kraju faze biohemijske stabilizacije brašna, u odnosu na izmerene početne vrednosti.
- Tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije brašna, ispitivanjem promene sadržaja slobodnih sulfhidrilnih grupa u zavisnosti od sorte, lokaliteta gajenja, temperature i vremena inkubacije glutena, ustanovljeno je da razlikama u sadržaju slobodnih sulfhidrilnih grupa, najviše doprinosi primenjena temperatura inkubacije glutena i period skladištenja pšenice.
- Ustanovljena je značajna razlika u sadržaju slobodnih sulfhidrilnih grupa tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice, dok se u periodu stabilizacije brašna ta razlika smanjuje.
- Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa gluten indeksom određenog po standardnoj metodi, dok je sadržaj slobodnih



sulfhidrilnih grupa određenih iz glutena nakon njegove inkubacije na 37 °C, u negativnoj korelaciji sa gluten indeksom određenim po modifikovanoj metodi.

- Sadržaj slobodnih amino grupa se tokom perioda posležetvenog dozrevanja pšenice i stabilizacije brašna statistički značajno povećava, i može se smatrati da je povećanje njihovog sadržaja faktor koji učestvuje u poboljšanju kvaliteta brašna.
- Metodološki posmatrano, postoje izrazite razlike između vrednosti sadržaja slobodnih amino grupa u netemperiranim uzorcima i uzorcima temperiranim na 30 °C i 37 °C. Ove razlike opravdavaju primenu oba temperaturno-vremenska tretmana inkubacije glutena pre određivanja sadržaja slobodnih amino grupa, jer nas upućuju na razlike u kvalitetu pšeničnog testa koje se javljaju u realnom sistemu.
- Sadržaj slobodnih amino grupa određen u uzorcima sveže požnjevene i u uzorcima fiziološki zrele pšenice nakon tretmana V (inkubacija vlažnog glutena 90 minuta na 30 °C i 180 minuta na 37 °C), je u značajnoj korelaciji sa proteolitičkom aktivnošću. Rezultati upućuju na zaključak da se određivanje sadržaja slobodnih amino grupa, kao indikatora oštećenja primarne stukture proteina usled prisutnih proteolitičkih enzima, može izvesti na glutenu samo primenom tretmana V ili VI. Ovi tretmani podrazumevaju inkubaciju vlažnog glutena 90 minuta na 30 °C i 180 minuta na 37 °C, odnosno inkubaciju vlažnog glutena 135 minuta na 30 °C i 180 minuta na 37 °C.

Zaključci koji se odnose na tehnološki zrelu pšenicu, proistekli su iz rezultata oglada koji je obuhvatao četiri ispitivane sorte, poreklom sa četiri lokaliteta a iz obe proizvodne godine:

- Karakterizacijom albumina uzoraka pšeničnog brašna svih ispitivanih sorti iz obe proizvodne godine, utvrđeno je da se udeo albuminske frakcije razlikuje i u zavisnosti od sorte, i u zavisnosti od lokaliteta, pri čemu je značajniji uticaj lokaliteta. Frakcija albumina koja se nalazi u opsegu molekulskih masa 5-15 kDa čini više od 60% ukupne količine albumina.
- Sadržaj ukupnih albumina uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine je bio značajno manji u odnosu na 2011. proizvodnu godinu.
- Rezultati određivanja proteolitičke i amilolitičke aktivnosti uzoraka pšeničnog brašna iz dve proizvodne godine su pokazali da su za 2012. proizvodnu godinu karakteristične znatno niže vrednosti ovih pokazatelja u odnosu na 2011. proizvodnu godinu i da je enzimska aktivnost pre svega sortna karakteristika.
- Utvrđeno je da je albuminska frakcija od 15-30 kDa u uzorcima brašna iz 2011. proizvodne godine, pokazala statistički značajne korelacije sa sledećim pokazateljima biohemijskog i tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna: moći upijanja vode na farinografu i Miksolabu, sa otporom rastegljivosti testa meren i uniaksijalno i biaksijalno i ukupnom proteolitičkom aktivnošću.
- Udeli albuminskih frakcija 5-15 kDa i 50-65 kDa značajno koreliraju sa miksolabskim pokazateljem kvaliteta, koji ukazuje na stabilnost tople paste (C3-

C4). Kako nisu utvrđeni jači korelativni odnosi između udela albuminske frakcije 5-15 kDa i  $\alpha$ -amilolitičke aktivnosti, može se zaključiti da su klimatski uslovi za ispitivanu proizvodnu godinu bili nepovoljni, jer su vrednosti amilolitičke aktivnosti bile manje od potrebnih za postizanje optimalnog tehnološkog kvaliteta hleba.

- Korelacije između pokazatelja pecivnog kvaliteta i odabranih biohemijskih pokazatelja, prvenstveno albuminske frakcije od 15-30 kDa su negativne, ukazujući na njihovu ulogu u smanjenju vrednosti ovog ključnog pokazatelja kvaliteta hleba.
- Pozitivna i značajna korelacija je utvrđena između proteolitičke aktivnosti i teksturnog pokazatelja kvaliteta hleba- čvrstoće. Moguće objašnjenje ove korelacije je da nivo proteolitičke aktivnosti nije bio dovoljno visok da izazove slabljenje glutena i smanjenje čvrstoće hleba. Za razliku od njih, vrednosti amilolitičke aktivnosti pokazuju statistički značajnu zavisnost samo sa pokazateljima tehnološkog kvaliteta merenih pomoći alveografa (L, G i P/L). Postojanje samo ovih korelacija podrazumeva da je nivo aktivnosti ispitivanih enzima bio veoma nizak, i da je povećana aktivnost koja bi pozitivno uticala na obradu testa poželjna.
- Korelativna analiza izvedena za pokazatelje kvaliteta uzoraka pšeničnog brašna poreklom iz 2012. godine je pokazala manji broj drugačijih korelacija. Utvrđene su značajne pozitivne korelacije između amilolitičke aktivnosti i miksolabskih pokazatelja koji ukazuju na želatinizaciju skroba (C3), amilolitičku aktivnost (C4) i retrogradaciju skroba (C5).
- Sadržaj slobodnih sulfhidrilnih grupa uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine je bio značajno veći dok je sadržaj disulfidnih veza bio manji u odnosu na 2011. proizvodnu godinu.
- Sadržaj slobodnih amino grupa je evidentno različit između uzoraka iz dve proizvodne godine kako između različitih sorti, tako i u pogledu sva tri primenjena tretmana inkubacije glutena. Značajne razlike između vrednosti slobodnih amino grupa izmerenih nakon inkubacije gluten na 37 °C, ukazuju na različitu proteolitičku aktivnost ispitivanih uzoraka pšeničnih sorti.
- U poređenju sa uzorcima iz 2011. proizvodne godine, uzorci iz 2012. su imali znatno niže vrednosti specifične zapremine hleba. Može se zaključiti da su ove razlike uslovljene razlikama u vrednostima maksimalnih temperatura i broju tropskih dana tokom perioda od cvetanja do žetve. Naime, 2012. proizvodnu godinu karakterisale su više temperature, za koje je dokazano da uzrokuju promene u sastavu i kvalitetu proteina.
- Procenom frekvencije pojedinih nivoa kvaliteta u odnosu na relevantne pokazatelje tehnološkog kvaliteta, kao i njihovih prosečnih vrednosti uzoraka pšeničnog brašna iz obe proizvodne godine, karakteristične su izrazito visoke vrednosti maksimalnog viskoziteta na amilogramu. U okviru ispitivanih proizvodnih godina, značajno većim PV vrednostima su se odlikovali uzorci iz 2012. proizvodne godine. Kako ostali pokazatelji kvaliteta ukazuju na relativno

dobar tehnološki kvalitet ispitivanih uzoraka pšeničnog brašna, redefinisane značaja uobičajenih tehnoloških pokazatelja postaje neophodno, jer iste vrednosti standardnih pokazatelja kvaliteta pšenice i pšeničnog brašna danas imaju drugačije značenje nego pre par decenija. Primer takve promene su vrednosti maksimalnog viskoziteta na amilogramu koje su nekada prvenstveno ukazivale na povećanu ili smanjenu amilolitičku aktivnost, dok se danas njihove vrednosti posledica i morfologije i veličine granula skroba, a ne samo smanjene ili povećane enzimске aktivnosti.

Naredni zaključci se odnose na uzorke pšeničnog brašna sa udvostručenom količinom ukupnih albumina:

- Ispitivanjem uticaja enzimске aktivnosti na pecivni kvalitet pšeničnog brašna, utvrđeno je da specifična zapremina hleba u 2011. proizvodnoj godini isključivo zavisi od vrednosti amilolitičke aktivnosti, jer se njenim povećanjem Vsp značajno povećava. Aktivnost proteolitičkih enzima ima uticaj na povećanje Vsp samo u slučaju sa kombinacijom maksimalne amilolitičke aktivnosti i to pri svojim manjim vrednostima. Na osnovu ovoga moguće je zaključiti da je pšenično brašno imalo manjak amilolitičkih enzima za postizanje optimalnog tehnološkog kvaliteta.
- Specifična zapremina hleba u 2012. proizvodnoj godini isključivo zavisi od vrednosti proteolitičke aktivnosti jer njenim povećanjem Vsp se značajno povećava. Aktivnost amilolitičkih enzima ima uticaj na povećanje Vsp samo u slučaju sa kombinacijom maksimalne proteolitičke aktivnosti i to pri svojim manjim vrednostima. Na osnovu ovoga moguće je zaključiti da je pšenično brašno imalo manjak proteolitičkih enzima za postizanje optimalnog tehnološkog kvaliteta.

## Literatura

- Aalami, M., Leelavathi, K., Prasada Rao, U. J. S. (2007). Spaghetti making potential of Indian durum wheat varieties in relation to their protein, yellow pigment and enzyme contents. *Food Chemistry*, 100, 1243–1248.
- AbuHammad, W. A., Elias, E. M., Manthey, F. A., Alamri, M. S., Mergoum, M. (2012). A comparison of methods for assessing dough and gluten strength of durum wheat and their relationship to pasta cooking quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 2561–2573.
- Aja, S., Pérez, G., Rosell, C. M. (2004). Wheat damage by *Aelia* spp. and *Erygaster* spp.: effects on gluten and water-soluble compounds released by gluten hydrolysis. *Journal of Cereal Science*, 39, 187–193.
- Akagawa, M., Handoyo, T., Ishii, T., Kumazawa, S., Morita, N., Suyama, K. (2007). Proteomic analysis of wheat flour allergens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6863–6870.
- Altenbach, S. B. (2012). New insights into the effects of high temperature, drought and post-anthesis fertilizer on wheat grain development. *Journal of Cereal Science*, 56, 39–50.
- Altenbach, S. B., DuPont, F. M., Kothari, K. M., Chan, R., Johnson, E. L., Lieu, D. (2003). Temperature, water and fertilizer influence the timing of key events during grain development in a US spring wheat. *Journal of Cereal Science*, 37, 9–20.
- Aminlari, M., Majzoobi, M. (2002). Effect of Chemical Modification, pH Change, and Freezing on the Rheological, Solubility, and Electrophoretic Pattern of Wheat Flour Proteins. *Journal of Food Science*, 67, 2502–2506.
- Andrews, D. C., Caldwell, R. A., Quail, K. J. (1995). Sulfhydryl Analysis. I. Determination of Free Sulfhydryls in Wheat Flour Doughs. *Cereal Chemistry*, 72, 326–329.
- Antes, S., Wieser, H. (2001). Effects of high and low molecular weight glutenin subunits on rheological dough properties and breadmaking quality of wheat. *Cereal Chemistry*, 78 (2), 157–159.
- Autran, J. C. (1993). Recent perspectives on the genetics, biochemistry and functionality of wheat proteins. *Trends in Food Science and Technology*, 4, 358–364.
- Balázs, G., Tómosközi, S., Harasztos, A., Németh, V., Tamás, Á., Morgounov, A., Belan, I., Ma, W., Békés, F. (2012). Advantages and Limitation of Lab-on-a-chip Technique in the Analysis of Wheat Proteins. *Cereal Research Communications*, 40, 562–572.
- Békés, F. (2012). New Aspects in Quality Related Wheat Research:1. Challenges and Achievements. *Cereal Research Communications*, 40, 159–184.
- Bleukx, W., Brijs, K., Torrekens, S., Van Leuven, F., Delcour, J. A. (1998). Specificity of a wheat gluten aspartic proteinase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1387, 317–324.
- Bleukx, W., Roels, S. P., Delcour, J. A. (1996). On the Presence and Activities of Proteolytic Enzymes in Vital Wheat Gluten. *Journal of Cereal Science*, 26, 183–193.

- Bloksma, A. H. (1972). The relation between the thiol and disulfide contents of dough and its rheological properties. *Cereal Chemistry*, 52, 170-183.
- Blumenthal, C., Barlow, E. W. R., Wrigley, C.W. (1993). Growth environment and wheat quality; the effect of heat stress on dough properties and gluten proteins. *Journal of Cereal Science*, 18, 3-21.
- Bombara, N., Añón, M. C., Pilosof, A. M. R. (1997). Functional properties of protease modified wheat flours. *LWT-Food Science and Technology*, 30, 441-447.
- Bonet, A., Caballero, P. A., Gómez, M., Rosell, C. M. (2005). Microbial Transglutaminase as a Tool to Restore the Functionality of Gluten from Insect-Damaged Wheat. *Cereal Chemistry*, 82, 425-430.
- Brandolini, A., Hidalgo, A., Plizzari, L., Erba, D. Impact of genetic and environmental factors on einkorn wheat (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) polysaccharides. *Journal of Cereal Science*, 53, 65-72.
- Brzozowski, B., Tatarczuk, K., Szymkiewicz, A., Bednarski, W. (2008). Immunoreactive properties of wheat cv. tonacja storage proteins infected with *Fusarium Graminearum* fungi. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 58, 53-58.
- Bulaj, G. (2005). Formation of disulfide bonds in proteins and peptides. *Biotechnology Advances*, 23, 87-92.
- Calucci, L., Capocchi, A., Galleschi, L., Ghiringhelli, S., Pinzino, C., Saviozzi, F., Zandomenighi, M. (2004). Antioxidants, Free Radicals, Storage Proteins, and Proteolytic Activities in Wheat (*Triticum aestivum*) Seeds during Accelerated Aging. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 52, 4274-4281.
- Castro, M., Peterson, C. J., Dalla Rizza, M., Díaz Dellavalle, P., Vázquez, D., Ibáñez, V., Ross, A. (2007). Influence of heat stress on wheat grain characteristics and protein molecular weight distribution.
- Chen, X., Schofield, J. D. (1996). Changes in the glutathione content and breadmaking performance of white wheat flour during short-term storage. *Cereal Chemistry*, 73, 1-4.
- Chiang, S. H., Chen, C. S., Chang, C. Y. (2006). Effect of wheat flour protein compositions on the quality of deep-fried gluten balls. *Food Chemistry*, 97, 666-673.
- Chua, G. K., Bushuk, W. (1969). Purification of wheat proteases by affinity chromatography on hemoglobin-Sepharose column. *Biochemical and biophysical research communications*, 37(3), 545-550.
- Ciaffi, M., Tozzi, L., Borghi, B., Corbellini, M., Lafiandra, D. (1996). Effect of Heat Shock During Grain Filling on the Gluten Protein Composition of Bread Wheat. *Journal of Cereal Science*, 24, 91-100.
- Codină, G. G., Mironeasa, S., Bordei, D., Leahu, A. (2010). Mixolab versus alveograph and Falling Number. *Czech Journal of Food Sciences*, 28, 185-191.
- Codină, G. G., Mironeasa, S., Mironeasa, C., Popa, C. N., Tamba-Berehoiu, R. (2011). Wheat flour dough Alveograph characteristics predicted by Mixolab regression models. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92, 638-644.

- Collar, C., Bollaín, C., Rosell, C. M. (2007). Rheological behaviour of formulated bread doughs during mixing and heating. *Food Science and Technology International*, 13, 99–107.
- Courtin, C. M., Delcour, J. A. (2002). Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour bread-making. *Journal of Cereal Science*, 35, 225–243.
- Csiszár, J., Guóth, A., Kolbert, Z., Gallé, Á., Tari, I., Ciulca, S., Madosa, E., Erdei, L. (2010). Starch to protein ratio and  $\alpha$ -amylase activities in grains of different wheat cultivars. *Acta Biologica Szegediensis*, 54, 19-23.
- Cuglielminetti, L., Yamaguchi, J., Perata, P., Alpi, A. (1995). Amylolytic Activities in Cereal Seeds under Aerobic and Anaerobic Conditions. *Plant Physiology*, 109, 1069-1076.
- Daniel, C., Triboï, E. (2000). Effects of Temperature and Nitrogen Nutrition on the Grain Composition of Winter Wheat: Effects on Gliadin Content and Composition. *Journal of Cereal Science*, 32, 45–56.
- Dapčević, T., Hadnađev, M., Pojić, M. (2009). Evaluation of the Possibility to Replace Conventional Rheological Wheat Flour Quality Control Instruments with the New Measurement Tool – Mixolab. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 74, 169-174.
- Dapčević Hadnađev, T. D., Torbica, A., Pojić, M., & Hadnađev, M. (2011). The role of empirical rheology in flour quality control. INTECH Open Access Publisher.
- Defloor, I., Delcour, J. A. 1999. The impact of maltodextrines and antistaling enzymes on the DSC endotherm of baked doughs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 737-741.
- Delcour, J. A., Joye, I. J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., Lagrain, B. (2012). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 469–492.
- Denčić, S., Mladenov, N., Kobiljski, B. (2011a). Effects of genotype and environment on breadmaking quality in wheat. *International Journal of Plant Production*, 5, 71-82.
- Denčić, S., Kobiljski, B., Mladenović, G., Kovačević, N. (2011b). Sadašnjost i budućnost NS sortimenta pšenice. Zbornik referata Instituta za ratarstvo i povrtarstvo Novi Sad, 15-25.
- Deponte, R., Parlamenti, R., Petrucci, T., Silano, V., Tomasi, M. (1976). Albumin  $\alpha$ -amylase inhibitor families from wheat flour. *Cereal Chemistry*, 53 (5), 805-820.
- Dik, T., Yöndem-Makascioğlu, F., Aytaç, C.H., Kincal, N.S. (2002). Wet separation of wheat flours into starch and gluten fractions: the combined effects of water to flour ratio-dough maturation time and the effects of flour aging and ascorbic acid addition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 405–413.
- Dojczew, D., Sobczyk, M. (2007). The effect of proteolytic activity on the technological value of wheat flour from pre-harvest sprouted grain. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 6, 45-53.
- Dominguez, F., Cejudo, F. J. (1996). Characterization of the Endoproteases Appearing during Wheat Grain Development. *Plant Physiology*, 112, 1211-1217.
- Dong, K., Ge, P., Ma, C., Wang, K., Yan, X., Gao, L., Li, X., Liu, J., Ma, W. and Yan, Y. (2012). Albumin and globulin dynamics during grain development of elite Chinese wheat cultivar Xiaoyan 6. *Journal of Cereal Science*, 56, 615–622.

- DuPont, F. M., Chan, R., Lopez, R. and Vensel, W. H. (2005). Sequential extraction and quantitative recovery of gliadins, glutenins, and other proteins from small samples of wheat flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1575-1584.
- Dupont, F. M., Hurkman, W. J., Chan, R., Tanaka, C. K. (1998). BiP, HSP70, NDK and PDI in wheat endosperm: I. Accumulation of mRNA and protein during grain development. *Physiologia Plantarum*, 103, 70-79.
- Dupont, F. M., Vensel, W. H., Tanaka, C. K., Hurkman, W. J., Altenbach, S. B. (2011). Deciphering the complexities of the wheat flour proteome using quantitative two-dimensional electrophoresis, three proteases and tandem mass spectrometry. *Proteome Science*, 9, 1-29.
- Dupont, M. F., Altenbach, B. S. (2003). Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *Journal of Cereal Science*, 38, 133-146.
- Dvořáček, V., Čurn, V. (2003). Evaluation of protein fractions as biochemical markers for identification of spelt wheat cultivars (*Triticum spelta* L.). *Plant Soil Environment*, 49 (3), 99-105.
- Đaković, Lj. 1997. Faktori kvaliteta pšeničnog brašna, Pšenično brašno (4th edition). Novi Sad, Srbija: Zavod za tehnologiju žita i brašna, Tehnološki fakultet.
- Eckert, B., Amend, T., Belitz, H. -D. (1993). The course of the SDS and Zeleny sedimentation tests for gluten quality and related phenomena studied using the light microscope. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 196, 122-125.
- Edwards, R. A., Ross, A. S., Mares, D. J., Ellison, F. W., Tomlinson, D. J. (1989). Enzymes from rain-damaged and laboratory germinated wheat I. Effects on product quality. *Journal of Cereal Science*, 10, 157-167.
- Eliasson, A. C., Larsson, K. (1993). Cereals in breadmaking. A molecular colloidal approach. New York, NY Marcel Dekker.
- Feng, G. H., Richardson, M., Chen, M. S., Kramer, K. J., Morgan, T. D., Reeck, G. R. (1996).  $\alpha$ -amylase inhibitors from wheat: Amino acid sequences and patterns of inhibition of insect and human  $\alpha$ -amylases. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 26 (5), 419-426.
- Finlay, G. J., Bullock, P. R., Sapirstein, H. D., Naeem, H. A., Hussain, A., Angadi, S. V., DePauw, R. M. (2007). Genotypic and environmental variation in grain, flour, dough and bread-making characteristics of western Canadian spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 87, 679-690.
- FINS. (2007). Određivanje sadržaja vlage i proteina primenom Infratec-a 1241 FINSLab- 5.4-3M-001 interna metoda. Novi Sad, Srbija: Institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu.
- Fustier, P., Castaigne, F., Turgeo, S. L., Biliaderis, C.G. (2009). Impact of endogenous constituents from different flour milling streams on dough rheology and semi-sweet biscuit making potential by partial substitution of a commercial soft wheat flour. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 363-371.
- Galleschi, L., Capocchi, A., Ghiringhelli, S., Saviozzi, F. (2002). Antioxidants, Free Radicals, Storage Proteins, and Proteolytic Activities in Wheat (*Triticum durum*) Seeds during Accelerated Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5450-5457.

- Gao, L., Wang, A., Li, X., Dong, K., Wang, K., Appels, R., Ma, W. and Yan, Y. (2009). Wheat quality related differential expressions of albumins and globulins revealed by two-dimensional difference gel electrophoresis (2-D DIGE). *Journal of Proteomics*, 73, 279-296.
- Gélinas, P., McKinnon, C. (2011). A finer screening of wheat cultivars based on comparison of the baking potential of whole-grain flour and white flour. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 1137-1148.
- Georgopoulos, H., Larsson, Eliasson, A. C. (2005). Influence of native lipids on the rheological properties of wheat flour dough and gluten. *Journal of Texture Studies*, 37, 49-62.
- Gianibelli, M. C., Larroque, O. R., MacRitchie, F. and Wrigley, C. W. (2001). Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins. AACC, Inc., Publication no. C-2001-0926-010.
- Gibson, L. R., McCluskey, P. J., Tilley, K. A., Paulsen, G. M. (1998). Quality of hard red winter wheat grown under high temperature conditions during maturation and ripening. *Cereal Chemistry*, 75, 421-427.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., Delcour, J. A. (2005). Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 12-30.
- Goesaert, H., Gebruers, K., Courtin, C. M., Brijs, K., Delcour, J. A. (2006). Enzymes in breadmaking. In: Hui, Y.H. (Ed.), *Bakery Products. Science and Technology*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 337-364.
- Goesaert, H., Leman, P., Delcour, J.A. (2008). Model approach to starch functionality in bread making. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 6423-6431.
- Goesaert, H., Leman, P., Bijttebier, A., Delcour, J. A. (2009a). Antifirming effects of starch degrading enzymes in bread crumb. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 2346-2355.
- Goesaert, H., Slade, L., Levine, H., Delcour, J. A. (2009b). Amylases and bread firming - an integrated view. *Journal of Cereal Science*, 50, 345-352.
- Gómez, A., Ferrero, C., Calvelo, A., Añón, M. C., Puppo, M. C. (2011). Effect of mixing time on structural and rheological properties of wheat flour dough for breadmaking. *International Journal of Food Properties*, 14, 583-598.
- Gooding, M. J., Ellis, R. H., Shewry, P. R., Schofield, J. D. (2003). Effects of restricted water availability and increased temperature on the grain filling, drying and quality of winter wheat. *Journal of Cereal Science*, 37, 295-309.
- Gralik, J., Warchalewski, J. R. (2006). The influence of  $\gamma$ -irradiation on some biological activities and electrophoresis patterns of wheat grain albumin fraction. *Food Chemistry*, 99, 289-298.
- Graßberger, A., Schieberle, P., Koehler, P. (2003). Fractionation and reconstitution of wheat flour-effect on dough rheology and baking. *European Food Research and Technology*, 216, 204-211.
- Gray, J. A., Bemiller, J. N. (2003). Bread staling: molecular basis and control. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2, 1-21.



- Gupta, R. B., Khan, K., Macritchie, F. (1993). Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I. Effects of variation in the quantity and size distribution of polymeric protein. *Journal of Cereal Science*, 18, 23-41.
- Gupta, R. B., Paul, J. G., Cornish, G. B., Palmer, G. A., Bekes, F. and Rathjen, A. J. (1994). Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1, of common wheats. I. Its additive and interaction effects on dough properties. *Journal of Cereal Science*, 19, 9-17.
- Gupta, R. B., Shepherd, K. W., MacRitchie, F. (1991). Genetic control and biochemical properties of some high molecular weight albumins in bread wheat. *Journal of Cereal Science*, 13, 221-235.
- Hajheidari, M., Eivazi, A., Buchanan, B. B., Wong, J. W., Majidi, I., Salekdeh, G. H. (2007). Proteomics uncovers a role for redox in drought tolerance in wheat. *Journal of Proteome Research*, 6, 1451-1460.
- Hamer, R. J. Fractionation techniques. In: Wheat gluten protein analysis; Shewry, P. R., Lookhart, G. L. Eds.; American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN, 2003; 19-30.
- Hansen, R. E., Winther, J. R. (2009). An introduction to methods for analyzing thiols and disulfides: Reactions, reagents, and practical considerations. *Analytical Biochemistry*, 394, 147-158.
- Har Gil, D., Bonfil, D. J., Svoray, T. (2011). Multi scale analysis of the factors influencing wheat quality as determined by Gluten Index. *Field Crops Research*, 123, 1-9.
- Haros, M., Rosell, C. M., Benedito, C., (2002). Improvement of flour quality through carbohydrases treatment during wheat tempering. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4126-4130.
- Hasanov, H., Zakirova, M., Boboev, A., Akbarova, N. (2010). Enzymatic hydrolysis of various proteins of wheat in heterogeneous conditions. *International Journal Bioautomation*, 14, 197-202.
- Hayta, M., Schofield, J. D. (2004). Heat and additive induced biochemical transitions in gluten from good and poor breadmaking quality wheats. *Journal of Cereal Science*, 40, 245-256.
- Heidari, R., Zareae, S., Heidarizadeh, M. (2005). Extraction, purification, and inhibitory effect of alpha-amylase inhibitor from wheat (*Triticum aestivum* Var. Zarrin). *Pakistan Journal of Nutrition*, 4, 101-105.
- Hidalgo, A., Brusco, M., Plizzari, L., Brandolini, A. (2013). Polyphenol oxidase, alpha-amylase and beta-amylase activities of *Triticum monococcum*, *Triticum turgidum* and *Triticum aestivum*: A two-year study. *Journal of Cereal Science*, 58, 51-58.
- Hofmann, K., Ham, R. (1978). Sulfhydryl and Disulfide Groups in Meats. Methods for the Determination of SH and SS Groups. In: Advances in food research, Volume 24, CO Chichester, EM Mrak, GF Stewart (Eds.), Academic Press, New York, 3-30.
- Horvat, D., Šimić, G., Drezner, G., Dvojković, K. Utjecaj albumina i globulina na pekarsku kakvoću pšenice (*Triticum aestivum* L.). *Agronomski Glasnik*, 2, 135-146.
- Hoseney, R. C., Finney, K. F., Shogren, M. D., Pomeranz, Y. (1969). Functional (breadmaking) and biochemical properties of wheat flour components. II. Role of water-solubles. *Cereal Chemistry*, 46, 117-125.
- Hristov, N., Mladenov, N. (2006). Simonida - nova sorta ozime pšenice. Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, 42(2), 203-212.

- Hsiao, N. W., Chenb, Y., Kuanb, Y. C., Lee, Y. C., Lee, S. K., Chan, H. H., Kao, C. H. (2014). Purification and characterization of an aspartic protease from the *Rhizopus oryzae* protease extract, Peptidase R. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17, 89–94.
- Huebner, F. R., Nelsen, T. C., Chung, O. K., Bietz, J. A. (1997). Protein distributions among hard red winter wheat varieties as related to environment and baking quality. *Cereal chemistry*, 74 (2), 123-128.
- Hug-Iten, S., Escher, F., Conde-Petit, B. (2001). Structural properties of starch in bread and bread model systems: influence of an antistaling alpha-amylase, *Cereal Chemistry*, 78, 421–428.
- Hurkman, W. J., Vensel, W. H., Tanaka, C. K., Whitehand, L., Altenbach, S. B. (2009). Effect of high temperature on albumin and globulin accumulation in the endosperm proteome of the developing wheat grain. *Journal of Cereal Science*, 49, 12–23.
- Hurkman, W. J., Wood, D. F. (2011). High temperature during grain fill alters the morphology of protein and starch deposits in the starchy endosperm cells of developing wheat (*Triticum aestivum* L.) grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 4938-4946.
- ICC. International Association for Cereal Science and Technology. Standard Methods 114/1, 115/1, 121, 126/1 (1992), 155 (1994), 137/1 (1996), 173 (2011).
- Ichinose, Y., Takata, K., Kuwabara, T., Iriki, N., Abiko, T., Yamauchi, H. (2001). effects of increase in  $\alpha$ -amylase and endo-protease activities during germination on the breadmaking quality of wheat. *Food Science and Technology Research*, 7, 214–219.
- Irmak, S., Naeem, H. A., Lookhart, G. L., MacRitchie, F. (2008). Effect of heat stress on wheat proteins during kernel development in wheat near-isogenic lines differing at Glu-D1. *Journal of Cereal Science*, 48, 513-516.
- Jiménez, T., Martínez-Anaya, M. A. (2001). Amylases and hemicellulases in breadmaking, degradation by-products and potential relationship with functionality. *Food Science and Technology International*, 7, 5-14.
- Johansson, E. (2002). Effect of two wheat genotypes and Swedish environment on falling number, amylase activities, and protein concentration and composition. *Euphytica*, 126, 143–149.
- Johansson, E., Prieto-Linde, M. L., Svensson, G., Jönsson, J.Ö. (2003). Influences of cultivar, cultivation year and fertilizer rate on amount of protein groups and amount and size distribution of mono- and polymeric proteins in wheat. *Journal of Agricultural Science*, 140, 275–284.
- Johansson, E., Malik, A. H., Hussain, A., Rasheed, F., Newson, W. R., Plivelic, T., Hedenqvist, M. S., Gällstedt, M., Kuktaite, R. (2013). Wheat gluten polymer structures: The impact of genotype, environment, and processing on their functionality in various applications. *Cereal Chemistry*, 90, 367-376.
- Kaluđerski, G., Filipović, N (1998). Laboratorijsko mlevenje pšenice Metode ispitivanja kvaliteta žita, brašna i gotovih proizvoda (pp. 62–70). Novi Sad, SRJ Jugoslavija: Tehnološki fakultet u Novom Sadu, SRJ Jugoslavija, Zavod za tehnologiju žita i brašna.
- Kasarda, D. D., Autran, J. C., Lew, E. J. L., Nimmo, C. C., Shewry, P. R. (1983). N-terminal amino acid sequences of w-gliadins and w-secalins: Implications for the evolution of prolamin genes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 747, 138-150.

- Khatkar, B. S., Fido, R. J., Tatham, A. S., Schofield, J. D. (2002). functional properties of wheat gliadins. i. effects on mixing characteristics and bread making quality. *Journal of Cereal Science*, 35, 299–306.
- Kong, X., Zhou, H., Qian, H. (2007). Enzymatic hydrolysis of wheat gluten by proteases and properties of the resulting hydrolysates. *Food Chemistry*, 102, 759–763.
- Kruger, J. E., Preston, K. (1977). The distribution of carboxypeptidases in anatomical tissues of developing and germinating wheat kernals. *Cereal Chemistry*, 54, 167-174.
- Kruger, J. E., Tkachuk, R. (1969). Wheat alpha-amylases. I. Isolation. *Cereal Chemistry*, 46, 219-226.
- Kuktaite, R., Larsson, H., Johansson, E. (2003). Protein composition in different phases obtained by the centrifugation of dough. *Acta Agronomica Hungarica*, 51, 163-172.
- Kuktaite, R., Larsson, H., Johansson, E., (2004). Variation in protein composition of wheat flour and its relationship to dough mixing behaviour. *Journal of Cereal Science*, 40, 31–39.
- Larré, C., Lupia, R., Gombaudo, G., Brossarda, C., Branlardb, G., Moneret-Vautrinc, D., A., Rogniauxa, H., Denery-Papinia, S., (2011). Assessment of allergenicity of diploid and hexaploid wheat genotypes: Identification of allergens in the albumin/globulin fraction. *Journal of Proteomics*, 74, 1279-1289.
- Li, W., Bollecker, S. S, Schofield, J. D. (2004). Glutathione and related thiol compounds. I. Glutathione and related thiol compounds in flour. *Journal of Cereal Science*, 39, 205–212.
- Li, Y., Zhu, R., Tian, J. (2008). Influence of wheat protein contents and fractions on dough rheological properties as determined by using a reconstitution method. *Agricultural Sciences in China*, 7(4), 395-404.
- Liu Z., Scanlon, M. G. (2003). Predicting mechanical properties of bread crumb. *Food and Bioproducts Processing*, 81, 224-238.
- Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Fair, A. L. Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin-phenol reagents. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265–275.
- Lutz, E., Wieser, H., Koehler, P. (2012). Identification of Disulfide Bonds in Wheat Gluten Proteins by Means of Mass Spectrometry/Electron Transfer Dissociation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 3708–3716.
- MacRitchie, F. (1985). Studies of the methodology for fractionation and reconstitution of wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 3, 221–230.
- MacRitchie, F. (1987). Evaluation of contributions from wheat protein fractions to dough mixing and breadmaking. *Journal of Cereal Science*, 6, 259-268.
- MacRitchie, F. (1992). Physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. *Advances in Food and Nutrition Research*, 36, 1–87.
- MacRitchie, F., Lafiandra, D. (2001). The use of near-isogenic wheat lines to determine protein composition–functionality relationship. *Cereal Chemistry*, 78 (5), 501–506.
- Majoul, T., Bancel, E., Triboi, E., Ben Hamida, J., Branlard, G. (2004). Proteomic analysis of heat stress on hexaploid wheat grain: characterization of heat-responsive proteins from non-prolamins fraction. *Proteomics*, 3, 505–513.

- Manu, B. T., Prasada Rao, U. J. S. (2008). Influence of size distribution of proteins, thiol and disulfide content in whole wheat flour on rheological and chapati texture of Indian wheat varieties. *Food Chemistry*, 110, 88–95.
- Mason, R. O., Lind, D. A., Marchal, W. G. (1983). *Statistics: An Introduction*. New York: Harcourt Brace Jovanovich, Inc, 368-383.
- Mastilović, J., Kevrešan, Ž., Torbica, A., Janić Hajnal, E., Živančev, D. (2014). Prediction of traditionally utilised wheat dough technological quality parameters from Mixolab values: development and evaluation of regression models. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 2685–2691.
- Michalcová, E., Potocká, E., Chmelová, D., Ondrejovič, M. (2012). Study of wheat protein degradation during germination. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1, 1439-1447.
- Miš, A. (2003). Influence of the storage of wheat flour on the physical properties of gluten. *International Agrophysics*, 17, 71–75.
- Moldestad, A., Mosleth Fergestad, E., Hoel, B., Oddvar Skjelvåg, A., Kjersti Uhlen, A. (2011). Effect of temperature variation during grain filling on wheat gluten resistance. *Journal of Cereal Science*, 53, 347-354.
- Morel, M. H., Redl, A., Guilbert, S. (2002). Mechanism of Heat and Shear Mediated Aggregation of Wheat Gluten Protein upon Mixing. *Biomacromolecules*, 3, 488-497.
- Morris, C. F. (2002). Puroindolines: The molecular genetic basis of wheat grain hardness. *Plant Molecular Biology*, 48, 633–647.
- Morrison, W. R., Gadan, H. (1987). The amylose and lipid contents of starch granules in developing wheat endosperm. *Journal of Cereal Science*, 5, 263–275.
- Mutlu, A., Gal, S. (1999). Plant aspartic proteinases: enzymes on the way to a function. *Physiologia Plantarum*, 105, 569–576.
- Naeem, H. A., Paulon, D., Irmak, S., MacRitchie, F. (2012). Developmental and environmental effects on the assembly of glutenin polymers and the impact on grain quality of wheat. *Journal of Cereal Science*, 56, 51-57.
- Nielsen, P. M., Petersen, D., Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66, 642- 646.
- Osborne, T. B. 1907. *The proteins of the wheat kernel*. Washington, DC: Carnegie Inst.
- Osipova, S. V., Permyakova, M. D., Permyakov, A. V. (2012). Role of non-prolamin proteins and low molecular weight redox agents in protein folding and polymerization in wheat grains and influence on baking quality parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 12065–12073.
- Panozzo, J. F., Eagles, H. E. (2000). Cultivar and environmental effects on quality characters in wheat. II. Protein. *Australian Journal of Agricultural Research*, 51, 629–636.
- Paulsen, G. M., Shroyer, J. P. (2004). Wheat: Agronomy. In: *Encyclopedia of Grain Science*, Elsevier Ltd., 337-347.
- Pence, J. W., Elder, A. H. (1953). The albumin and globulin proteins of wheat. *Cereal Chemistry*, 30, 275-287.

- Pèrez, G., Bonet, A., Rosell, C. M. (2005). Relationship between gluten degradation by *Aelia* spp. and *Eurygaster* spp. and protein structure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1125-1130.
- Pernollet, J. -C., Camilleri, C. (1983). Formation and development of protein bodies in wheat endosperm. *Physiologie végétale*, 21, 1093-1103.
- Peruffo, A. D. B., Pogna, N. E., and Curioni, A. (1996). Evidence for the presence of disulphide bonds between beta-amylase and low molecular weight glutenin subunits. In: *Gluten 96*. C. W. Wrigley, ed. RACI: Melbourne, Australia, 312-315.
- Pirozi, M. R., Margiotta, B., Lafiandra, D., MacRitchie, F. (2008). Composition of polymeric proteins and bread-making quality of wheat lines with allelic HMW-GS differing in number of cysteines. *Journal of Cereal Science*, 48 (1), 117-122.
- Pomeranz, Y. 1978. Composition and functionality of wheat flour components. Pages 585-674. In: *Wheat chemistry and Technology*, 2nd. Y. Pomeranz, eds. AACC International, St Paul.
- Prabhasankar, P. (2002). Electrophoretic and immunochemical characteristics of wheat protein fractions and their relationship to chapati-making quality. *Food Chemistry*, 78, 81-87.
- Prasada Rao, U. J. S., Vatsala, C. N., Haridas Rao, P. (2002). Changes in protein characteristics during the processing of wheat into flakes. *European Food Research and Technology*, 215, 322-326.
- Preston, K. R., Dexter, J. E., Kruger, J. E. (1978). Relationship of exoproteolytic and endoproteolytic activity to storage protein hydrolysis in germinating durum and hard red spring wheat. *Cereal Chemistry*, 55, 877-888.
- Preston, K. R., Hucl, P., Townley-Smith, T. F., Dexter, J. E., Williams. P. C., Stevenson, S. G. (2001). Effects of cultivar and environment on farinograph and Canadian short process mixing properties of Canada Western Red Spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 81, 391-398.
- Preston, K. R., Lukow, O. M., Morgan, B. (1992). Analysis of relationships between flour quality properties and protein fractions in a world wheat collection. *Cereal Chemistry*, 69 (5), 560-567.
- Puppo, M. C., Calvelo, A, Añón, M. C. (2005). Physicochemical and Rheological Characterization of Wheat Flour Dough. *Cereal Chemistry*, 82, 173-181.
- Pyler, E. J. (1973). *Baking: Science and Technology*. Chicago, Illinois, US: Seibel Pub. Com.
- Rani, K. U., Prasada Rao, U. J. S., Leelavathi, K., Haridas Rao, P. (2001). Distribution of enzymes in wheat flour mill streams. *Journal of Cereal Science*, 34, 233-242.
- Rhazi, L., Cazalis, R., Aussenac, T. (2003). Sulphydryl-disulfide changes in storage proteins of developing wheat grain: influence on the SDS-unextractable glutenin polymer formation. *Journal of Cereal Science*, 38, 3-13.
- Renzetti, S., Arendt, E. K. (2009). Effect of protease treatment on the baking quality of brown rice bread: From textural and rheological properties to biochemistry and microstructure. *Journal of Cereal Science*, 50, 22-28.
- Ribotta, P. D., Pérez, G. T., León, A. E., Añón, M. C. (2004). Effect of emulsifier and guar gum on micro structural, rheological and baking performance of frozen bread dough. *Food Hydrocolloids*, 18, 305-313.

- Rosell, C. M., Aja, S., Sadowska, J. (2002). Amylase activities in insect (*Aelia* and *Eurygaster*)-damaged wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 977-982.
- Rothfus, J. A., Kennel, S. J. (1970). Properties of wheat beta-amylase adsorbed on glutenin. *Cereal Chemistry*, 47, 140-146.
- Sadouki, H., Cazalis, R., Azzout, B. (2006). Fractionation of Algerian common wheat proteins with 50 p.100 2-propanol: relationship with the technological quality. *LWT-food Science and Technology*, 39, 70-79.
- Scanlon, M. G., Zghal, M. C. (2001). Bread properties and crumb structure. *Food Research International*, 34, 841-864.
- Schäfer, W., Ferret, M. (2005). Distribution of varieties in the 2003 harvest. French wheat classes. ([http://muehlenchemie.de/downloads-future-of-flour/FoF\\_Kap\\_11.pdf](http://muehlenchemie.de/downloads-future-of-flour/FoF_Kap_11.pdf))
- Seguchi, M., Uozu, M., Oneda, H., Murayama, R., and Okusu, H. (2010). Effect of outer bran layers from germinated wheat grains on breadmaking properties. *Cereal Chemistry*, 87, 231-236.
- Semenov, M. A. (2009). Impacts of climate change on wheat in England and Wales. *Journal of the Royal Society Interface*, 6, 343-350.
- Shah, N. H., Paulsen, G. M. (2003). Interaction of drought and high temperature on photosynthesis and grain-filling of wheat. *Plant and Soil*, 257, 219-226.
- Shelke, K., Hosney, R. C., Faubion, J. M., Curran, S. P. (1992). Age-related changes in the cake-baking quality of flour milled from freshly harvested soft wheat. *Cereal Chemistry*, 69, 141-144.
- Shewry, P. R., Halford, N. G., Tatham, A. S. (1992). High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science*, 15(2), 105-120.
- Shewry, P. R., Lafiandra, D., Salcedo, G., Aragoncillo, C., Garcia-Olmedo, F., Lew, E. J. L., Dietler, M. D. and Kasarda, D. D. (1984). N-terminal amino acid sequences of chloroform/methanol-soluble proteins and albumins from endosperms of wheat, barley and related species. *FEBS*, 175, 359-363.
- Shewry, P. R., Popineau, Y., Lafiandra, D., Belton, P. (2001). Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the EUROWHEAT project. *Trends in Food Science and Technology*, 11, 433-441.
- Shewry, P. R., Tatham, A. S. (1997). Mini Review: Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *Journal of Cereal Science*, 25, 207-227.
- Shewry, P.R., Tatham, A.S., Lazzeri, P. (1997). Biotechnology of wheat quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73, 397-406.
- Shomer, I., Lookhart, G. L., Vasiliver, R., Bean, S. (1998). Ultrastructure of consecutively extracted and flocculated gliadins and glutenins. *Journal of Cereal Science*, 27, 27-36.
- Simsek, S., Ohm, J. B., Lu, H., Rugs, M., Berzonsky, W., Alamrid, M. S., Mergoum, M. (2014). Effect of pre-harvest sprouting on physicochemical changes of proteins in wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 205-212.
- Singh Gujral, H., Haros, M., Rosell, C. M. (2003). Starch Hydrolyzing Enzymes for Retarding the Staling of Rice Bread. *Cereal Chemistry*, 80, 750-754.

- Singh, J., Blundell, M., Tanner, G. and Skerritt, J. (2001). Albumin and globulin proteins of wheat flour: Immunological and N-terminal sequence characterization. *Journal of Cereal Science*, 34, 85–103.
- Singh, N., Kaur, L. (2004). Morphological, thermal, rheological and retrogradation properties of potato starch fractions varying in granule size. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 84, 1241–1252.
- Singh, J., Skerritt, J. (2001b). Chromosomal control of albumins and globulins in wheat grain assessed using different fractionation procedures. *Journal of Cereal Science*, 33, 163–181.
- Singh, S., Singh, G., Singh, P., Singh, N. (2008). Effect of water stress at different stages of grain development on the characteristics of starch and protein of different wheat varieties. *Food Chemistry*, 108, 130–139.
- Singh, S., Singh, N. (2013). Relationship of polymeric proteins and empirical dough rheology with dynamic rheology of dough and gluten from different wheat varieties. *Food Hydrocolloids*, 33, 342-348.
- Singh, S., Singh, N., MacRitchie, F. (2011). Relationship of polymeric proteins with pasting, gel dynamic- and dough empirical-rheology in different Indian wheat varieties. *Food Hydrocolloids*, 25, 19-24.
- Skerritt, J. H., Hac, L., Bekes, F. (1999). Depolymerization of the glutenin macropolymer during mixing: I. Changes in levels, molecular weight distribution, and overall composition. *Cereal Chemistry*, 76, 395–401.
- Sliwinski L.E., Kolster P., Prins A., van Vliet T. (2004). On the relationship between gluten protein composition of wheat flours and large-deformation properties of their doughs. *Journal of Cereal Science*, 39, 247-264.
- Song, Y., Zheng, Q. (2007). Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 132-138.
- STATISTICA (Data Analysis Software System), version 10. StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA (2011) ([www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)).
- Stauffer, C. 1999. Principles of dough formation. In: Technology of breadmaking S. P. Cauvain and L. S. Young, eds. Aspen Publishers, Gaithersburg, 262-295.
- Steffolani, M. E., Ribotta, P. D., Pérez, G. T., León, A. E. (2010). Effect of glucose oxidase, transglutaminase, and pentosanase on wheat proteins: Relationship with dough properties and bread-making quality. *Journal of Cereal Science*, 51, 366-373.
- Stehno, Z., Dvornáček, V., Dotlacil, L. (2008). Wheat protein fractions in relation to grain quality characters of the cultivars registered in the Czech Republic 2004–2006. In: Proceedings of 11th International Wheat Genetics Symposium, Brisbane, Australia, 556-559.
- Stojceska, V., Butler, F. (2012). Investigation of reported correlation coefficients between rheological properties of the wheat bread doughs and baking performance of the corresponding wheat flours. *Trends in Food Science & Technology*, 24, 13-18.
- Strelec, I., Ugarčić-Hardi, Ž., Balkić, J., Šimunić, N. (2007). Enzymatic activity in wheat seeds of different protein content. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 72, 239-243.

- Szafrańska, A. (2014). Comparison of alpha-amylase activity of wheat flour estimated by traditional and modern techniques. *Acta Agrophysica*, 21, 493-505.
- Šurlan, M. G., Rakonjac, V., Prodanović, S., Tivanović, T. (2005). Genetika i oplemenjivanje biljaka - praktikum, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Tao, H. P., Cornell, D. G. and Kasarda, D. D. (1989). Surface and optical properties of wheat glutenin monolayers. *Journal of Cereal Science*, 10, 5-18.
- Thitisaksakul, M., Jiménez, R. C, Arias, M. C., Beckles, D. M. (2012). Effects of environmental factors on cereal starch biosynthesis and composition. *Journal of Cereal Science*, 56, 67-80.
- Torbica, A., Antov, M., Mastilović, J., Knežević, D. (2007). The influence of changes in gluten complex structure on technological quality of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Food Research International*, 40, 1038-1045.
- Triboï, E., Martre, P., Girousse, C., Ravel, C., Triboï-Blondel, A. (2006). Unravelling environmental and genetic relationships between grain yield and nitrogen concentration for wheat. *European Journal of Agronomy*, 25, 108-118.
- Triboï, E., Martre, P., Triboï-Blondel, A. (2003). Environmentally-induced changes in protein composition in developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *Journal of Experimental Botany*, 54, 1731-1742.
- Unbehend, Lj., Unbehend, G. and Lindhauer, M. G. (2003). Protein composition of some Croatian and German wheat varieties and their influence on the loaf volume. *Food/Nahrung*, 47, 145-148.
- Uthayakumaran, S., Lukow, O. M. (2003). Functional and multiple end-use characterisation of Canadian wheat using a reconstituted dough system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 889-898.
- Van Der Borgh, A., Goesaert, H., Veraverbeke, W. S., Delcour, J. A. (2005). Fractionation of wheat and wheat flour into starch and gluten: overview of the main processes and the factors involved. *Journal of Cereal Science*, 41, 221-237.
- Vázquez, D., Berger, A. G., Cuniberti, M., Bainotti, C., Zavariz de Miranda, M., Scheeren, P. L., Jobet, C., Zúñiga, J., Cabrera, G., Verges, R., Peña R. J. (2012). Influence of cultivar and environment on quality of Latin American wheats. *Journal of Cereal Science*, 56, 196-203.
- Vensel, W. H., Tanaka, C. K., Altenbach, S. B. (2014). Protein composition of wheat gluten polymer fractions determined by quantitative two-dimensional gel electrophoresis and tandem mass spectrometry. *Proteome Science*, 12, 1-13.
- Vensel, W. H., Tanaka, C. K., Cai, N., Wong, J. H., Buchanan, B. B., Hurkman, W. J. (2005). Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm. *Proteomics*, 5, 1594-1611.
- Veraverbeke, W. and Delcour, J. (2002). Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42, 179-208.
- Wang, J. R., Yan, Z. H., Wei, Y. M., Nevo, E., Baum, B. R., Zheng, Y. L. (2006). Molecular characterization of dimeric alpha - amylase inhibitor genes in wheat and development of genome allele - specific primers for the genes located on chromosome 3BS and 3DS. *Journal of Cereal Science*, 43 (3), 360-368.



- Wang, J., Wieser, H., Pawelzik, E., Weinert, J., Keutgen, A., Wolf, G. (2005). Impact of the fungal protease produced by *Fusarium culmorum* on the protein quality and breadmaking properties of winter wheat. *European Food Research and Technology*, 220, 552-559.
- Weegels, P. L., Hamer, R. J., Schofield, J. D. (1997). Functional Properties of Low Mr Wheat Proteins. III. Effects on Composition of the Glutenin Macropolymer During Dough Mixing and Resting. *Journal of Cereal Science*, 25, 165-173.
- Weegels, P. L., Orsel, R., van de Pijpekamp, A. M., Lichtendonk, W. J., Hamer, R. J., Schofield, J. D. (1995). Functional properties of low Mr wheat proteins. II. Effects on dough properties. *Journal of Cereal Science*, 21, 117-126.
- Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24 (2), 115-119.
- Wieser, H., Kieffer, R. (2001). Correlations of the amount of gluten protein type to the technological properties of wheat flours determined on a micro-scale. *Journal of Cereal Science*, 34, 19-27.
- Wieser, H., Zimmermann, G. (2000). Importance of amounts and proportions of high molecular weight subunits of glutenin for wheat quality. *European Food Research and Technology*, 210, 324-330.
- Yang, F., Jørgensen, A. D., Li, H., Søndergaard, I., Finnie, C., Svensson, B., Jiang, D., Wollenweber, B., Jacobsen, S. (2011). Implications of high-temperature events and water deficits on protein profiles in wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Vinjett) grain. *Proteomics*, 11, 1684-1695.
- Zhang, Y., He, Z. H., Ye, G. Y., Zhang, A. M., Maarten, V. G. (2004). Effect of environment and genotype on bread-making quality of spring-sown spring wheat cultivars in China. *Euphytica*, 139, 75-83.
- Zhang, P., He, Z., Chen, D., Zhang, Y., Larroque, O. R., Xia, X. (2007). Contribution of common wheat protein fractions to dough properties and quality of northern-style Chinese steamed bread. *Journal of Cereal Science*, 46, 1-10.
- Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., Blanchard, C. (2002). Ageing of Stored Rice: Changes in Chemical and Physical Attributes. *Journal of Cereal Science*, 35, 65-78.

## Prilozi

**Tabela 5.1P.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine (izražene po lokalitetima)

Lokalitet		Farinograf					Ekstenzograf				Amilograf		Alveograf			
		WA (%)	DDT (min)	Stab (min)	SD	QN	E (cm <sup>2</sup> )	R (BJ)	Ex (mm)	R/Ex	PV (AJ)	P (mmH <sub>2</sub> O)	L (mm)	G	W (x10 <sup>-4</sup> J)	P/L
SO	Mean	58,6	4,9	6,6	77,0	82,0	58,8	222,0	148,8	1,5	987,0	67,6	82,8	20,2	176,4	0,8
	Min	53,5	1,5	1,5	40,0	25,0	32,0	130,0	131,0	0,8	690,0	39,0	73,0	19,0	86,0	0,5
	Max	62,4	13,0	15,5	105,0	205,0	92,0	330,0	172,0	2,4	1585,0	86,0	97,0	21,9	264,0	1,2
	SD	4,13	4,88	6,19	29,28	74,88	21,48	76,94	15,64	0,64	375,06	21,66	12,13	1,47	73,02	0,24
	CV	7,04	99,56	93,77	38,03	91,32	36,52	34,66	10,51	41,52	38,00	32,05	14,65	7,28	41,40	30,13
VR	Mean	58,5	5,8	10,4	50,0	112,4	87,2	248,0	167,8	1,5	826,0	75,0	105,4	22,8	220,0	0,7
	Min	53,2	2,0	6,5	40,0	65,0	76,0	220,0	150,0	1,3	370,0	52,0	85,0	20,5	166,0	0,4
	Max	62,6	8,5	14,5	60,0	182,0	102,0	280,0	179,0	1,8	1570,0	96,0	131,0	25,5	254,0	1,1
	SD	4,11	2,89	3,25	9,35	47,58	10,03	23,87	12,97	0,24	495,61	19,90	17,64	1,91	34,08	0,29
	CV	7,02	49,75	31,23	18,71	42,33	11,51	9,63	7,73	16,21	60,00	26,53	16,74	8,40	15,49	39,52
SM	Mean	58,9	4,9	9,0	55,0	100,0	100,4	345,0	149,0	2,3	902,0	79,8	92,0	21,3	228,8	0,9
	Min	54,7	2,0	2,0	40,0	30,0	86,0	300,0	129,0	2,0	470,0	59,0	72,0	18,9	157,0	0,6
	Max	62,9	7,5	15,5	75,0	155,0	136,0	385,0	175,0	3,0	1500,0	109,0	113,0	23,7	274,0	1,5
	SD	3,53	2,63	5,04	12,75	48,35	20,28	30,41	16,90	0,41	418,41	20,02	16,69	1,96	44,17	0,36
	CV	6,00	53,70	55,97	23,18	48,35	20,20	8,82	11,34	17,55	46,39	25,08	18,14	9,18	19,31	39,40
BT	Mean	57,0	5,9	10,4	50,0	150,0	96,4	312,0	158,6	2,0	1034,0	77,0	102,6	22,5	227,8	0,8
	Min	51,2	1,5	2,5	10,0	30,0	75,0	210,0	148,0	1,2	560,0	48,0	81,0	20,0	168,0	0,4
	Max	60,1	12,0	20,5	80,0	320,0	114,0	370,0	178,0	2,5	1700,0	101,0	120,0	24,4	291,0	1,2
	SD	3,95	4,35	7,05	25,50	109,83	14,43	66,48	12,14	0,54	499,53	25,21	16,36	1,85	54,39	0,36
	CV	6,92	73,73	67,77	50,99	73,22	14,97	21,31	7,65	26,99	48,31	32,74	15,95	8,22	23,88	45,91

Tabela 5.1P. (nastavak)

Lokalitet		Farinograf					Ekstenzograf				Amilograf		Alveograf			
		WA (%)	DDT (min)	Stab (min)	SD	QN	E (cm <sup>2</sup> )	R (BJ)	Ex (mm)	R/Ex	PV (AJ)	P (mmH <sub>2</sub> O)	L (mm)	G	W (x10 <sup>-4</sup> )	P/L
NS	Mean	58,6	3,8	5,6	38,8	138,8	114,5	412,5	147,5	2,8	841,3	92,3	84,0	20,3	242,3	1,2
	Min	53,1	1,5	0,0	10,0	25,0	104,0	370,0	139,0	2,3	345,0	55,0	65,0	17,9	191,0	0,5
	Max	62,0	6,5	16,5	85,0	375,0	120,0	460,0	161,0	3,3	1280,0	112,0	109,0	23,2	272,0	1,7
	SD	3,87	2,40	7,43	32,50	161,63	7,33	40,31	9,47	0,42	426,70	26,65	18,46	2,20	35,78	0,52
	CV	6,61	63,94	132,12	83,87	116,49	6,40	9,77	6,42	15,03	50,72	28,89	21,97	10,84	14,77	44,35
KI	Mean	60,1	6,1	10,6	55,0	108,0	103,6	295,0	168,0	1,8	808,0	75,8	114,6	23,7	238,6	0,7
	Min	54,4	2,5	4,0	45,0	55,0	89,0	230,0	142,0	1,3	280,0	48,0	88,0	20,9	178,0	0,3
	Max	64,3	10,0	17,0	75,0	155,0	130,0	350,0	185,0	2,3	1460,0	102,0	141,0	26,4	271,0	1,2
	SD	3,91	3,31	5,16	11,73	43,10	16,35	55,68	19,04	0,50	477,78	21,58	22,27	2,31	38,97	0,33
	CV	6,51	54,19	48,72	21,32	39,91	15,78	18,87	11,33	27,90	59,13	28,47	19,43	9,73	16,33	45,94
SU	Mean	57,0	3,8	7,5	72,0	86,0	42,4	147,0	159,0	0,9	1044,0	60,2	87,0	20,7	143,4	0,7
	Min	53,2	1,5	2,0	40,0	30,0	15,0	65,0	154,0	0,4	700,0	39,0	70,0	18,6	95,0	0,4
	Max	60,3	9,5	18,0	95,0	175,0	79,0	240,0	165,0	1,5	1480,0	83,0	100,0	22,3	181,0	1,2
	SD	3,54	3,27	6,12	21,97	54,24	23,63	66,86	4,30	0,44	346,31	19,33	12,33	1,50	38,60	0,33
	CV	6,21	86,08	81,65	30,51	63,08	55,73	45,48	2,71	47,40	33,17	32,11	14,17	7,22	26,92	45,57

**Tabela 5.2P.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti Miksolabskih pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine (izražene po lokalitetima)

Lokalitet		WAMix (%)	DevMix (min)	StabMix (min)	ElastMix (Nm)	C2 (Nm)	C3 (Nm)	C4 (Nm)	C5 (Nm)	C3-C4 (Nm)	C5-C4 (Nm)	$\alpha$ (Nm/min)	$\beta$ (Nm/min)	$\gamma$ (Nm/min)
<b>SO</b>	<i>Mean</i>	54,74	3,02	7,48	0,09	0,45	2,09	1,91	2,81	0,18	0,90	-0,06	0,50	-0,04
	<i>Min</i>	49,59	0,92	4,58	0,06	0,42	1,73	1,54	2,14	0,07	0,60	-0,09	0,47	-0,10
	<i>Max</i>	59,60	6,03	9,67	0,10	0,48	2,36	2,29	3,43	0,27	1,35	-0,05	0,60	0,00
	<i>SD</i>	4,57	2,57	2,60	0,02	0,03	0,27	0,29	0,56	0,07	0,31	0,02	0,05	0,04
	<i>CV</i>	8,34	85,20	34,70	19,46	6,14	12,82	15,01	20,00	41,68	34,40	-27,20	10,84	-96,71
<b>VR</b>	<i>Mean</i>	56,03	4,55	9,87	0,07	0,49	2,06	1,78	2,58	0,28	0,80	-0,07	0,48	-0,06
	<i>Min</i>	50,29	1,25	7,93	0,05	0,43	1,80	1,39	2,00	0,07	0,53	-0,10	0,32	-0,16
	<i>Max</i>	60,00	6,77	11,58	0,09	0,53	2,43	2,36	3,30	0,46	1,37	-0,03	0,64	-0,01
	<i>SD</i>	4,52	2,66	1,53	0,02	0,04	0,25	0,39	0,64	0,16	0,35	0,03	0,11	0,06
	<i>CV</i>	8,07	58,54	15,46	24,85	9,04	12,03	22,09	24,77	56,24	43,46	-43,20	23,74	-89,09
<b>SM</b>	<i>Mean</i>	55,66	4,57	9,41	0,09	0,52	2,07	1,81	2,70	0,26	0,88	-0,07	0,50	-0,04
	<i>Min</i>	50,23	1,20	9,07	0,07	0,47	1,84	1,55	2,23	0,17	0,60	-0,11	0,47	-0,07
	<i>Max</i>	59,29	8,22	9,92	0,10	0,56	2,40	2,23	3,33	0,40	1,29	0,00	0,57	-0,01
	<i>SD</i>	3,88	3,04	0,32	0,01	0,04	0,22	0,27	0,52	0,09	0,30	0,04	0,04	0,02
	<i>CV</i>	6,97	66,54	3,44	14,82	7,89	10,81	14,68	19,45	35,54	33,54	-55,71	7,34	-65,87
<b>BT</b>	<i>Mean</i>	54,23	5,09	9,27	0,08	0,52	2,12	1,85	2,86	0,27	1,01	-0,07	0,48	-0,04
	<i>Min</i>	48,50	0,88	3,58	0,05	0,47	1,83	1,55	2,11	0,00	0,56	-0,10	0,41	-0,12
	<i>Max</i>	57,96	8,62	11,57	0,10	0,55	2,37	2,37	3,46	0,50	1,48	-0,04	0,53	0,00
	<i>SD</i>	4,51	3,32	3,26	0,02	0,03	0,21	0,34	0,59	0,18	0,39	0,02	0,05	0,05
	<i>CV</i>	8,32	65,16	35,13	26,44	6,22	10,08	18,27	20,62	67,55	38,60	-28,14	10,26	-129,04

Tabela 5.2P. (nastavak)

Lokalitet		WAMix (%)	DevMix (min)	StabMix (min)	ElastMix (Nm)	C2 (Nm)	C3 (Nm)	C4 (Nm)	C5 (Nm)	C3-C4 (Nm)	C5-C4 (Nm)	$\alpha$ (Nm/min)	$\beta$ (Nm/min)	$\gamma$ (Nm/min)
<b>NS</b>	<i>Mean</i>	55,35	6,15	8,86	0,08	0,51	2,15	1,89	2,76	0,25	0,86	-0,07	0,53	-0,04
	<i>Min</i>	50,00	1,13	4,65	0,07	0,48	1,88	1,64	2,34	0,17	0,70	-0,11	0,49	-0,08
	<i>Max</i>	58,53	8,85	11,47	0,08	0,56	2,49	2,32	3,54	0,45	1,22	-0,04	0,61	-0,03
	<i>SD</i>	3,35	3,26	2,56	0,00	0,03	0,22	0,26	0,47	0,11	0,21	0,03	0,05	0,02
	<i>CV</i>	6,04	53,06	28,85	6,04	6,10	10,35	13,83	17,10	45,16	24,84	-37,28	10,08	-54,76
<b>KI</b>	<i>Mean</i>	56,09	4,77	8,27	0,08	0,49	1,98	1,69	2,48	0,29	0,80	-0,06	0,52	-0,04
	<i>Min</i>	51,97	1,22	3,73	0,07	0,42	1,76	1,39	2,04	0,17	0,59	-0,10	0,39	-0,07
	<i>Max</i>	58,89	7,52	11,63	0,10	0,56	2,18	1,85	3,04	0,49	1,19	0,02	0,65	-0,02
	<i>SD</i>	3,24	2,67	3,07	0,01	0,05	0,17	0,21	0,41	0,12	0,24	0,04	0,10	0,02
	<i>CV</i>	5,77	55,85	37,13	13,57	11,08	8,40	12,48	16,39	42,80	29,72	-79,48	19,54	-45,48
<b>SU</b>	<i>Mean</i>	54,40	3,84	9,07	0,08	0,45	2,09	1,92	2,87	0,17	0,95	-0,05	0,39	-0,08
	<i>Min</i>	49,80	1,08	7,97	0,06	0,42	1,72	1,50	2,09	0,01	0,59	-0,08	0,14	-0,21
	<i>Max</i>	58,50	6,40	10,13	0,09	0,47	2,38	2,36	3,46	0,31	1,39	-0,03	0,46	-0,02
	<i>SD</i>	4,16	2,53	0,78	0,01	0,02	0,28	0,32	0,56	0,11	0,29	0,03	0,14	0,08
	<i>CV</i>	7,65	65,77	8,56	15,90	4,44	13,60	16,63	19,55	66,89	31,02	-48,03	36,34	-104,19

**Tabela 5.3P.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti reoloških, pecivnih i teksturnih pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine (izražene po lokalitetima)

Lokalitet		GIS	GIM	Vsp	Hard	Spring	Cohes	Chew	Resil
<b>SO</b>	<i>Mean</i>	88,2	57,3	3,5	6715,8	1,0	0,6	3846,6	0,3
	<i>Min</i>	82,0	22,8	3,0	2937,3	1,0	0,5	2059,1	0,3
	<i>Max</i>	95,0	81,4	4,2	12145,2	1,0	0,7	6188,0	0,3
	<i>SD</i>	6,38	21,99	0,51	4234,50	0,02	0,08	1862,47	0,03
	<i>CV</i>	7,23	38,41	14,48	63,05	1,55	12,91	48,42	8,44
<b>VR</b>	<i>Mean</i>	92,7	75,7	3,8	5045,4	1,0	0,7	3381,5	0,3
	<i>Min</i>	81,0	59,3	3,2	2774,9	1,0	0,6	2182,4	0,3
	<i>Max</i>	98,6	85,5	4,3	7874,9	1,0	0,8	4921,2	0,4
	<i>SD</i>	7,28	12,05	0,44	2450,16	0,01	0,06	1328,37	0,04
	<i>CV</i>	7,85	15,92	11,43	48,56	1,36	8,62	39,28	12,18
<b>SM</b>	<i>Mean</i>	92,9	82,7	4,0	5516,4	1,0	0,7	3592,8	0,3
	<i>Min</i>	81,0	70,2	3,3	2629,5	1,0	0,6	1970,1	0,3
	<i>Max</i>	98,4	91,3	4,4	11683,7	1,0	0,8	6612,6	0,4
	<i>SD</i>	6,97	8,87	0,55	3861,78	0,02	0,07	2032,26	0,03
	<i>CV</i>	7,50	10,72	13,75	70,00	2,04	9,92	56,57	10,23
<b>BT</b>	<i>Mean</i>	94,3	77,5	4,1	4352,6	1,0	0,7	2768,3	0,3
	<i>Min</i>	85,0	60,1	3,6	2086,2	1,0	0,6	1597,7	0,3
	<i>Max</i>	98,2	88,7	4,6	8771,7	1,0	0,8	4846,9	0,4
	<i>SD</i>	5,32	11,02	0,37	2662,22	0,02	0,08	1288,46	0,05
	<i>CV</i>	5,64	14,22	9,13	61,16	1,98	11,54	46,54	14,34
<b>NS</b>	<i>Mean</i>	88,3	79,6	3,9	4408,9	1,0	0,7	2942,4	0,3
	<i>Min</i>	79,0	67,7	3,0	2182,6	1,0	0,6	1706,8	0,3
	<i>Max</i>	98,0	91,6	4,3	10090,3	1,0	0,8	6157,0	0,4
	<i>SD</i>	10,14	13,75	0,61	3811,51	0,03	0,09	2151,82	0,04
	<i>CV</i>	11,50	17,28	15,75	86,45	2,95	12,61	73,13	11,87
<b>KI</b>	<i>Mean</i>	85,0	75,4	4,2	3799,1	1,0	0,7	2717,1	0,3
	<i>Min</i>	74,0	58,2	3,7	2231,9	1,0	0,6	1608,8	0,3
	<i>Max</i>	92,0	82,3	4,8	6266,8	1,0	0,8	3856,2	0,4
	<i>SD</i>	7,68	9,97	0,46	1769,63	0,03	0,07	998,74	0,04
	<i>CV</i>	9,04	13,22	11,03	46,58	2,76	10,32	36,76	11,87
<b>SU</b>	<i>Mean</i>	89,4	31,2	3,8	4124,2	1,0	0,7	2415,7	0,3
	<i>Min</i>	87,0	0,0	3,1	1566,8	0,9	0,5	1184,5	0,3
	<i>Max</i>	92,0	55,9	4,7	8229,4	1,0	0,8	4229,9	0,3
	<i>SD</i>	2,41	20,08	0,62	2981,83	0,02	0,10	1357,78	0,05
	<i>CV</i>	2,69	64,44	16,24	72,30	1,86	15,27	56,21	15,21

**Tabela 5.4P.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine (izražene po lokalitetima)

Lokalitet		Farinograf					Ekstenzograf				Amilograf		Alveograf			
		WA (%)	DDT (min)	Stab (min)	SD	QN	E (cm <sup>2</sup> )	R (BJ)	Ex (mm)	R/Ex	PV (AJ)	P (mmH <sub>2</sub> O)	L (mm)	G	W (x10 <sup>-4</sup> J)	P/L
<b>SO</b>	<i>Mean</i>	62,4	6,7	10,6	44,2	135,0	67,2	254,2	150,0	1,7	1586,7	84,7	99,0	22,0	224,5	1,0
	<i>Min</i>	57,0	4,0	4,5	5,0	75,0	25,0	120,0	126,0	0,8	1150,0	48,0	66,0	18,1	134,0	0,3
	<i>Max</i>	65,6	11,0	21,0	70,0	280,0	122,0	400,0	168,0	3,0	1920,0	114,0	148,0	27,1	367,0	1,7
	<i>SD</i>	3,76	2,68	6,04	22,23	76,81	37,72	122,49	15,81	0,89	282,89	29,77	31,01	3,41	82,70	0,54
	<i>CV</i>	6,02	40,16	57,12	50,33	56,90	56,16	48,19	10,54	51,92	17,83	35,16	31,32	15,52	36,84	55,09
<b>VR</b>	<i>Mean</i>	61,7	4,6	6,3	62,5	104,2	75,7	300,0	139,8	2,2	1263,3	85,7	79,7	19,8	216,3	1,1
	<i>Min</i>	54,1	1,5	1,5	25,0	40,0	54,0	240,0	121,0	1,7	660,0	64,0	71,0	18,8	164,0	0,7
	<i>Max</i>	66,3	11,0	14,0	80,0	265,0	106,0	350,0	151,0	2,6	1710,0	104,0	98,0	22,0	280,0	1,5
	<i>SD</i>	4,37	3,53	4,25	20,19	81,45	19,17	45,61	10,01	0,35	394,95	18,48	10,19	1,21	45,75	0,33
	<i>CV</i>	7,09	76,96	67,11	32,30	78,19	25,33	15,20	7,16	16,23	31,26	21,57	12,79	6,12	21,15	30,15
<b>SM</b>	<i>Mean</i>	64,0	4,8	7,7	72,5	91,7	85,0	319,2	148,7	2,2	1343,3	97,5	71,7	18,6	217,2	1,6
	<i>Min</i>	55,6	1,5	3,0	50,0	25,0	65,0	230,0	117,0	1,3	490,0	49,0	47,0	15,3	156,0	0,5
	<i>Max</i>	71,1	9,5	14,0	95,0	175,0	126,0	420,0	174,0	3,3	2000,0	147,0	102,0	22,5	259,0	3,1
	<i>SD</i>	5,54	2,64	3,84	16,96	48,85	21,65	73,78	18,35	0,71	545,84	37,06	24,68	3,18	43,82	0,99
	<i>CV</i>	8,65	54,61	50,12	23,39	53,29	25,47	23,12	12,34	32,14	40,63	38,01	34,44	17,08	20,18	61,28
<b>BT</b>	<i>Mean</i>	60,3	2,8	4,6	72,5	60,0	67,8	355,8	123,2	2,9	1238,3	92,8	51,5	15,7	164,2	2,1
	<i>Min</i>	57,1	1,5	1,0	45,0	25,0	55,0	290,0	116,0	2,3	590,0	66,0	33,0	12,8	145,0	0,8
	<i>Max</i>	63,7	7,0	11,0	95,0	135,0	98,0	530,0	133,0	4,6	1610,0	113,0	88,0	20,9	192,0	3,4
	<i>SD</i>	2,70	2,18	3,58	23,40	43,82	17,06	88,45	6,18	0,83	369,89	16,53	21,71	3,20	17,97	0,98
	<i>CV</i>	4,47	77,06	78,19	32,27	73,03	25,15	24,86	5,02	28,44	29,87	17,81	42,16	20,36	10,95	46,08

Tabela 5.4P. (nastavak)

Lokalitet		Farinograf					Ekstenzograf				Amilograf		Alveograf			
		WA (%)	DDT (min)	Stab (min)	SD	QN	E (cm <sup>2</sup> )	R (BJ)	Ex (mm)	R/Ex	PV (AJ)	P (mmH <sub>2</sub> O)	L (mm)	G	W (x10 <sup>-4</sup> J)	P/L
NS	Mean	64,0	2,8	7,6	63,3	71,7	77,3	343,3	133,2	2,6	1196,7	104,7	63,7	17,5	211,7	2,0
	Min	57,5	1,5	1,5	30,0	30,0	56,0	230,0	125,0	1,7	500,0	63,0	41,0	14,3	174,0	0,6
	Max	69,1	4,5	13,0	85,0	115,0	114,0	550,0	140,0	4,1	1630,0	138,0	114,0	23,8	246,0	3,4
	SD	4,32	1,13	4,18	22,06	33,86	19,63	107,64	6,62	0,82	428,14	28,25	27,51	3,58	25,68	1,02
	CV	6,74	41,06	55,07	34,83	47,25	25,39	31,35	4,97	31,88	35,78	26,99	43,21	20,47	12,13	51,32
KI	Mean	62,3	4,9	8,2	47,0	116,0	109,8	421,0	142,0	3,0	1544,0	98,2	80,8	19,8	244,6	1,4
	Min	57,6	2,0	2,5	25,0	60,0	83,0	365,0	124,0	2,3	1180,0	62,0	53,0	16,2	196,0	0,5
	Max	64,4	7,0	19,5	70,0	225,0	144,0	460,0	159,0	3,6	1810,0	137,0	115,0	23,9	301,0	2,6
	SD	2,89	1,88	6,65	21,68	63,58	23,93	41,29	12,57	0,48	232,55	28,44	24,17	3,00	37,55	0,80
	CV	4,64	38,45	81,08	46,13	54,81	21,80	9,81	8,85	15,89	15,06	28,96	29,91	15,12	15,35	57,40
SU	Mean	64,1	6,2	8,5	64,0	111,0	51,2	232,0	140,6	1,7	1094,0	87,6	88,6	20,9	215,4	1,1
	Min	62,6	4,5	4,5	55,0	80,0	32,0	150,0	132,0	1,0	770,0	71,0	68,0	18,4	166,0	0,6
	Max	65,8	9,0	13,5	70,0	150,0	73,0	340,0	151,0	2,6	1560,0	111,0	116,0	24,0	278,0	1,6
	SD	1,43	1,82	3,62	5,48	26,55	19,33	87,58	8,62	0,72	353,60	16,80	20,63	2,43	44,22	0,42
	CV	2,23	29,41	42,62	8,56	23,92	37,76	37,75	6,13	43,00	32,32	19,18	23,29	11,67	20,53	39,86



**Tabela 5.5P.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti Miksolabskih pokazatelja kvaliteta pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine (izražene po lokalitetima)

Lokalitet		WAMix (%)	DevMix (min)	StabMix (min)	ElastMix (Nm)	C2 (Nm)	C3 (Nm)	C4 (Nm)	C5 (Nm)	C3-C4 (Nm)	C5-C4 (Nm)	$\alpha$ (Nm/min)	$\beta$ (Nm/min)	$\gamma$ (Nm/min)
<b>SO</b>	<i>Mean</i>	59,21	5,75	8,30	0,07	0,49	1,81	1,65	2,70	0,16	1,04	-0,07	0,36	-0,03
	<i>Min</i>	53,00	4,13	6,38	0,05	0,47	1,63	1,52	2,26	0,05	0,74	-0,08	0,23	-0,14
	<i>Max</i>	63,85	8,38	10,15	0,09	0,52	2,13	1,82	3,06	0,32	1,29	-0,06	0,44	0,00
	<i>SD</i>	4,47	1,57	1,27	0,01	0,02	0,18	0,13	0,31	0,12	0,23	0,01	0,08	0,05
	<i>CV</i>	7,55	27,38	15,33	19,16	3,99	9,68	7,78	11,45	77,70	21,96	-10,65	22,22	-154,44
<b>VR</b>	<i>Mean</i>	58,23	3,68	7,20	0,08	0,47	1,88	1,64	2,58	0,24	0,94	-0,06	0,45	-0,04
	<i>Min</i>	52,50	1,42	2,18	0,06	0,44	1,58	1,31	1,86	0,08	0,56	-0,09	0,43	-0,09
	<i>Max</i>	63,20	5,95	9,10	0,11	0,51	2,21	1,89	3,01	0,38	1,20	-0,04	0,51	-0,02
	<i>SD</i>	3,89	1,88	2,58	0,02	0,02	0,20	0,22	0,39	0,11	0,24	0,02	0,03	0,03
	<i>CV</i>	6,68	50,97	35,88	23,93	4,76	10,84	13,47	15,02	46,61	25,65	-26,30	6,92	-71,70
<b>SM</b>	<i>Mean</i>	59,38	4,42	8,95	0,08	0,48	1,82	1,57	2,42	0,26	0,86	-0,06	0,43	-0,03
	<i>Min</i>	50,40	1,43	8,04	0,07	0,43	1,54	1,29	1,92	0,17	0,64	-0,08	0,36	-0,07
	<i>Max</i>	65,15	7,38	10,09	0,10	0,51	2,16	1,83	2,88	0,33	1,31	-0,04	0,52	0,00
	<i>SD</i>	5,86	2,15	0,76	0,01	0,03	0,21	0,18	0,35	0,07	0,25	0,01	0,05	0,02
	<i>CV</i>	9,88	48,56	8,49	18,59	6,07	11,34	11,40	14,46	25,78	29,50	-24,89	11,97	-76,79
<b>BT</b>	<i>Mean</i>	56,10	1,57	6,33	0,09	0,48	1,94	1,67	2,81	0,27	1,14	-0,08	0,44	-0,07
	<i>Min</i>	53,00	1,08	2,27	0,08	0,45	1,77	1,48	2,29	0,09	0,68	-0,09	0,36	-0,11
	<i>Max</i>	57,80	3,55	9,50	0,10	0,52	2,04	1,82	3,25	0,50	1,48	-0,06	0,49	-0,01
	<i>SD</i>	1,84	0,98	3,55	0,01	0,02	0,09	0,12	0,32	0,14	0,30	0,01	0,05	0,04
	<i>CV</i>	3,27	62,37	56,10	8,52	5,12	4,81	7,23	11,41	52,96	26,26	-12,05	10,78	-64,66

Tabela 5.5P. (nastavak)

Lokalitet		WAMix (%)	DevMix (min)	StabMix (min)	ElastMix (Nm)	C2 (Nm)	C3 (Nm)	C4 (Nm)	C5 (Nm)	C3-C4 (Nm)	C5-C4 (Nm)	$\alpha$ (Nm/min)	$\beta$ (Nm/min)	$\gamma$ (Nm/min)
<b>NS</b>	<i>Mean</i>	58,69	2,85	7,94	0,09	0,48	1,89	1,58	2,48	0,31	0,91	-0,07	0,44	-0,06
	<i>Min</i>	51,70	1,23	3,04	0,06	0,41	1,61	1,31	1,96	0,24	0,65	-0,10	0,39	-0,08
	<i>Max</i>	62,75	6,15	10,48	0,10	0,51	2,18	1,88	2,81	0,42	1,17	-0,05	0,53	-0,03
	<i>SD</i>	4,21	2,09	2,62	0,02	0,04	0,19	0,20	0,31	0,06	0,22	0,02	0,05	0,02
	<i>CV</i>	7,17	73,59	32,97	19,33	7,68	9,97	12,61	12,56	19,46	24,40	-20,82	10,47	-31,02
<b>KI</b>	<i>Mean</i>	57,85	4,47	7,82	0,07	0,51	1,89	1,62	2,73	0,27	1,11	-0,04	0,46	-0,04
	<i>Min</i>	55,10	1,25	2,48	0,05	0,46	1,82	1,48	2,47	0,18	0,77	-0,06	0,43	-0,08
	<i>Max</i>	60,40	6,35	10,54	0,10	0,57	2,02	1,70	2,94	0,34	1,34	0,00	0,51	-0,02
	<i>SD</i>	1,74	1,77	2,79	0,02	0,04	0,07	0,08	0,19	0,06	0,20	0,02	0,03	0,02
	<i>CV</i>	3,01	39,70	35,65	21,90	8,49	3,66	5,05	6,89	20,77	18,23	-53,33	6,46	-54,13
<b>SU</b>	<i>Mean</i>	60,12	3,87	6,81	0,08	0,48	1,73	1,50	2,37	0,23	0,87	-0,06	0,42	-0,03
	<i>Min</i>	57,10	3,33	5,60	0,08	0,45	1,57	1,29	1,99	0,07	0,46	-0,06	0,35	-0,06
	<i>Max</i>	63,30	4,85	8,48	0,09	0,50	1,85	1,64	2,63	0,50	1,34	-0,05	0,46	-0,01
	<i>SD</i>	2,63	0,51	1,24	0,00	0,02	0,12	0,14	0,27	0,15	0,31	0,01	0,04	0,02
	<i>CV</i>	4,37	13,25	18,23	5,03	4,43	6,89	9,35	11,58	62,28	35,91	-9,91	9,15	-64,16

**Tabela 5.6P.** Minimalne, maksimalne i prosečne vrednosti reoloških, pecivnih i teksturnih pokazatelja tehnološkog kvaliteta pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine (izražene po lokalitetima)

Sorta		GIS	GIM	Vsp	Hard	Spring	Cohes	Chew	Resil
<b>SO</b>	<i>Mean</i>	84,8	53,7	4,4	2122,1	1,0	0,8	1599,5	0,4
	<i>Min</i>	72,0	24,0	3,8	1319,3	1,0	0,7	1015,9	0,3
	<i>Max</i>	96,0	76,0	4,7	3738,2	1,0	0,8	2560,3	0,4
	<i>SD</i>	9,56	22,36	0,35	836,43	0,02	0,06	518,16	0,02
	<i>CV</i>	11,27	41,66	7,96	39,42	1,60	7,48	32,39	6,60
<b>VR</b>	<i>Mean</i>	91,0	75,3	3,8	3188,2	1,0	0,7	2234,7	0,3
	<i>Min</i>	80,0	49,0	3,2	1471,1	1,0	0,6	1240,7	0,3
	<i>Max</i>	98,0	93,0	4,1	6039,3	1,0	0,9	3656,0	0,4
	<i>SD</i>	7,04	16,42	0,41	1805,07	0,01	0,08	1038,80	0,03
	<i>CV</i>	7,74	21,79	10,71	56,62	0,88	11,11	46,48	9,49
<b>SM</b>	<i>Mean</i>	92,3	77,0	3,7	3870,8	1,0	0,7	2612,4	0,3
	<i>Min</i>	88,0	65,0	2,8	1947,4	1,0	0,6	1654,2	0,3
	<i>Max</i>	99,0	95,0	4,0	8974,8	1,0	0,8	5569,8	0,4
	<i>SD</i>	5,01	10,02	0,46	2706,69	0,03	0,09	1513,95	0,04
	<i>CV</i>	5,42	13,01	12,28	69,93	2,95	12,25	57,95	12,91
<b>BT</b>	<i>Mean</i>	97,2	81,7	3,6	4509,1	1,0	0,7	2957,6	0,3
	<i>Min</i>	92,0	71,0	3,3	3353,0	1,0	0,6	2166,4	0,3
	<i>Max</i>	100,0	100,0	3,8	6298,7	1,0	0,7	4208,9	0,3
	<i>SD</i>	2,99	11,81	0,18	1113,16	0,01	0,03	776,87	0,02
	<i>CV</i>	3,08	14,46	5,05	24,69	1,42	4,56	26,27	6,49
<b>NS</b>	<i>Mean</i>	93,3	80,8	3,7	3921,6	1,0	0,7	2822,1	0,4
	<i>Min</i>	83,0	67,0	3,4	2387,1	1,0	0,7	1875,4	0,4
	<i>Max</i>	100,0	97,0	4,1	6996,8	1,0	0,8	4717,8	0,4
	<i>SD</i>	6,19	11,55	0,29	1705,76	0,01	0,05	1049,98	0,02
	<i>CV</i>	6,63	14,29	8,01	43,50	1,03	6,41	37,21	4,84
<b>KI</b>	<i>Mean</i>	86,0	71,5	3,9	3243,6	1,0	0,7	2336,6	0,4
	<i>Min</i>	65,0	57,0	3,6	1640,5	1,0	0,7	1265,6	0,3
	<i>Max</i>	99,0	87,0	4,4	4809,5	1,0	0,8	3533,4	0,4
	<i>SD</i>	13,23	12,50	0,27	1356,39	0,02	0,05	863,68	0,02
	<i>CV</i>	15,39	17,48	6,95	41,82	1,71	6,08	36,96	5,75

**Tabela 5.7P.** Vrednosti koeficijenata korelacije između pokazatelja kvaliteta uzoraka pšeničnog brašna iz 2011. proizvodne godine

<i>Pokazatelji kvaliteta</i>	WA	DDT	W	P	PV
WA					
DDT					
W	0,67	0,69			
P	0,86		0,80		
WAMix	0,96	0,56	0,79	0,89	
DevMix	0,72	0,60	0,76	0,76	
StabMix			0,50		
ElastMix	-0,58			-0,62	
C3					0,82
C4					0,72
C5					0,90
C5-C4					0,87
WA					

**Tabela 5.8P.** Vrednosti koeficijenata korelacije između pokazatelja kvaliteta uzoraka pšeničnog brašna iz 2012. proizvodne godine

<i>Pokazatelji kvaliteta</i>	WA	DDT	W	P	PV
WA					
DDT					
W	0,77	0,66			
P	0,92		0,75		
WAMix	0,95	0,57	0,84	0,85	
DevMix		0,71	0,62		
C3					0,51
C4					0,68
C5					0,62