



UNIVERZITET U NIŠU
TEHNOLOŠKI FAKULTET



Jelena S. Stojanović

**UTICAJ ZAMESA I TERMIČKE OBRADJE NA
ANTIOKSIDATIVNU AKTIVNOST PŠENIČNOG
BRAŠNA SA DODATKOM BRAŠNA
PEČURKE *Boletus edulis***

doktorska disertacija

Leskovac, 2017.



UNIVERSITY OF NIŠU
FACULTY OF TECHNOLOGY



Jelena S. Stojanović

**THE EFFECT OF DOUGH MIXING AND THERMAL
PROCESSING ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
WHEAT FLOUR WITH THE ADDITION OF
MUSHROOM *Boletus edulis* FLOUR**

doctoral dissertation

Leskovac, 2017.

Комисија:

Др Нада Николић, редовни професор, Универзитет у Нишу,
Технолошки факултет, Лесковац, ментор

Др Миодраг Лазић, редовни професор, Универзитет у Нишу,
Технолошки факултет, Лесковац, председник

Др Гордана Стојановић, редовни професор, Универзитет у Нишу,
ПМФ, Одсек за хемију, Ниш, члан

Др Јасна Мاستиловић, научни саветник, Универзитет у Новом Саду,
Научни институт за прехранбе технологије, Нови Сад, члан

Др Ивана Карабеговић, доцент, Универзитет у Нишу,
Технолошки факултет, Лесковац, члан

Датум одбране

Подаци о докторској дисертацији

Ментор: Др Нада Николић, редовни професор, Универзитет у Нишу,
Технолошки факултет, Лесковац

Наслов: Утицај замеса и термичке обраде на антиоксидативну активност
пшеничног брашна са додатком брашна печурке *Boletus edulis*

Резиме: Многобројна истраживања показала су да су печурке извор биолошки активних једињења, као што су полифеноли, који поседују антифунгално, антибактеријско, антиоксидативно и антивирусно дејство. Вргањ (*Boletus edulis*) једна је од најквалитетнијих печурки на тржишту јер је богат протеинима чији је састав сличан саставу протеина животињског порекла, одличан је извор влакана, витамина минерала и полисахарида, не садржи скроб и сахарозу, због чега се посебно препоручује дијабетичарима. Исхрана савременог човека у великој мери базира на употреби прехранбених производа на бази пшеничног брашна, а пекарска индустрија је у другој половини XX века, потрошачима понудила производе под називом „здрава храна“ од пшеничног брашна са додатком других брашна која садрже компоненте са позитивним дејством на здравље човека. Полазећи од претпоставке да додаток брашна вргања пшеничном брашну може побољшати нутритивну и физиолошку вредност производа, у оквиру дисертације одређен је садржај састојака битних за нутритивну и енергетску вредност брашна вргања, испитана су реолошких својстава теста, састав ацилглицерола и масних киселина, садржај слободних и везаних полифенола и антиоксидативна активност мешавине пшеничног и брашна вргања. Посебан део дисертације чине испитивања утицаја замеса и термичке обраде теста од мешавине пшеничног и брашна вргања на антиоскидативну активност и садржај појединих фенолних киселина. За испитивања је коришћена печурка вргањ са еко-подручја, Пискупово, Лесковац, а брашно је добијено сушењем свеже печурке и накнадним млевењем и сејањем. Коришћене су методе екстракције чврсто-течно за екстракцију слободних полифенолних једињења, и поступак алкалне хидролизе за изоловање везаних полифенола. Реолошке особине теста одређене су методама одређивања квалитета брашна фаринографом, екстензиографом и амилографом, а садржај полифенола и антиоксидативна активност екстраката, одговарајућим спектрофотометријским методама. Састав масних киселина одређен је GC-MS методом, а састав ацилглицерола и садржај појединих фенолних киселина, HPLC методом.

Производ добијен од мешавине пшеничног и брашна вргања окарактерисан је одерђивањем односа печења, губитком масе током печења и запремине производа.

Добијени резултати показују да додаток брашна вргања представља добар начин повећања нутритивне вредности и антиоксидативне активности пшеничног брашна, јер мешавине са брашном вргања имају већи садржај протеина, липида, пепела, целулозе, танина, слободних масних киселина, моноацилглицерола, укупних незасићених масних киселина, садржај минерала (Mg, Na, K и Fe) и садржај укупних полифенола, а екстракти слободних и везаних полифенола брашна вргања показују знатно већу антиоксидативну активност у односу на пшенично брашно. Након замеса теста и термичке обраде садржај слободних полифенола већи је у односу на садржај у мешавини брашна, а 87% укупног садржаја детектованих поли-фенолних киселина остаје неразграђен.

Производ добијен од мешавине пшеничног и брашна вргања по описаној рецептури има већи садржај укупних полифенола, бољу антиоксидативну активност, мањи губитак масе током термичке обраде и већу запремину у односу на производ добијен само од пшеничног брашна. У циљу добијања прехранбених производа са задовољавајућим реолошким својствима, а истовремено обогаћеним састојцима брашна вргања, препоручује се мешавина са уделом брашна вргања од 10-15%.

Научна област:

Технолошко инжењерство

Научна
дисциплина:

Прехрамбене технологије и биотехнологија

Кључне речи:

вргањ, полифеноли, антиоксидативна активност, фенолне киселине, тесто, замес, термичка обрада

УДК:

582.284.52:664.64.016.8:547.565

CERIF
класификација:

T 430

Тип лиценце
Креативне
заједнице:

CC BY-NC-ND

Data on Doctoral DissertationDoctoral
Supervisor:Dr Nada Nikolić, Full Professor, University of Niš, Faculty of
Technology, Leskovac

Title:

The effect of dough mixing and thermal processing on the antioxidant
activity of wheat flour with the addition of mushroom *Boletus edulis*
flour

Abstract:

Numerous studies have shown that mushrooms are a source of biologically active compounds, such as polyphenols, which have antifungal, antibacterial, antioxidant and antiviral effect. Porcini (*Boletus edulis*) is one of the best quality mushroom because it is rich in protein whose composition is similar to the composition of animal origin protein, an excellent source of fibres, vitamins, minerals and polysaccharide. As porcini does not contain starch and sucrose, it is especially recommended for diabetics. Modern diet is mainly based on the use of food based on wheat flour, and baking industry has offered to consumers in the second half of the 20th century products named "healthy food" obtained from wheat flour with the addition of other kinds of flour which contain components that have a positive effect on human health. Starting with the assumption that the addition of porcini flour can improve the nutritional and physiological value of wheat flour, in dissertation, the content of the ingredients essential for nutritional and energy value of porcini flour was determined, and the rheological properties of dough were tested. Acylglycerols, and fatty acids content, the content of the free and bound polyphenols in the mixture of wheat and porcini flour and their antioxidant activity were also determined. The separate part of the dissertation consists of the examination of the effect of mixing and thermal processing of dough from a mixture of wheat and porcini on the antioxidant activity, as well as on the content of some phenolic acids. A porcini mushroom from the eco-regions Piskupovo - Leskovac was used in the examination, and the flour was obtained by drying fresh mushrooms and subsequent grinding and sieving. The solid-liquid extraction for extracting the free polyphenols, and a method of alkaline hydrolysis for isolating bound polyphenols was used. Rheological properties of dough were determined by the methods of determining the quality of flour by farinograph and extensograph and amylograph, while a polyphenol content and antioxidant activity of extracts were determined by corresponding spectrophotometric methods. GC-MS method was used for determination of the fatty acids composition, and HPLC for determination of the content of individual acylglycerols and specific phenolic acids.

The product obtained from the mixture of wheat and porcini flour was characterized by „ratio of thermal processing“, loss of mass and volume increase after thermal processing. The results show that the addition of porcini flour is a good way to increase both the nutritional value and the antioxidant activity of wheat flour, as a flour mixture have a higher content of protein, lipid, ash, cellulose, tannin, free fatty acids, mono-acylglycerols, total unsaturated fatty acids, content of minerals (Mg, Na, K and Fe) and the content of total polyphenols, and the extracts of free and related polyphenols from porcini flour have significantly higher anti-oxidant activity compared to the wheat flour. After dough mixing and thermal processing, the content of free polyphenols is higher than the content in a mixture of flour, and 87% of the total content of detected phenolic acids remains retained. The product obtained from a mixture of wheat and porcini flour by described recipe have the higher content of total polyphenols, a better antioxidant activity, a smaller mass loss during thermal processing and a higher volume, compared to product made only from wheat flour. In order to obtain food products with satisfactory rheological properties which are simultaneously enriched by porcini ingredients, it is recommended that the flour mixture contains 10-15% of the porcini flour.

Scientific
Field:

Engineering technology

Scientific
Discipline:

Food technologies and biotechnology

Key Words:

porcini, polyphenols, antioxidant activity, phenolic acids, dough, mixing, thermal processing

UDC:

582.284.52:664.64.016.8:547.565

CERIF
Classification:

T 430

Creative
CommonsLicense
Type:

CC BY-NC-ND

Ova doktorska disertacija je rađena na Katedri za prehrambeno-biotehnološke nauke, Tehnološkog fakulteta u Leskovcu Univerziteta u Nišu, u okviru projekta OI 172047 "Prirodni proizvodi biljaka i lišajeva: izolovanje, identifikacija, biološka aktivnost i primena", čiji je rukovodilac prof. dr Gordana Stojanović.

Neizmernu zahvalnost dugujem svom mentoru prof. dr Nadi Nikolić, na stručnim savetima, posvećenosti i strpljenju u toku izrade i pisanja ovog rada. Zato joj ovim putem izražavam najiskreniju zahvalnost na svojoj pomoći, vremenu, a posebno razumevanju koje je pokazala u toku izrade ove doktorske disertacije. Posebnu zahvalnost dugujem prof. dr Gordani Stojanović, na pomoći pri gasnohromatografskim analizama i dr Jasni Mastilović, na pomoći pri ispitivanju reologije testa. Iskreno se zahvaljujem prof. dr Miodragu Laziću, na stručnim i korisnim savetima u toku pisanja rada i dr Ivani Karabegović, na posebnom interesovanju i savetima koje mi je pružila tokom pisanja doktorske disertacije. Zahvaljujem se i prof. dr Zoranu Todoroviću na HPLC analizi sastava acilglicerola.

Svojoj porodici dugujem posebnu zahvalnost na ogromnoj podršci, strpljenju i razumevanju.

Autor

SADRŽAJ

UVOD	1
1. OPŠTI DEO	3
1.1. Pečurke	3
1.1.1. Upotreba pečuraka	4
1.1.2. Nutritivna vrednost pečuraka	6
1.1.2.1. Proteini	6
1.1.2.2. Ugljeni hidrati	6
1.1.2.3. Lipidi	7
1.1.2.4. Vitamini	7
1.1.2.5. Mineralne materije	7
1.2. Vrganj (Boletus edulis)	8
1.2.1. Botaničke karakteristike	8
1.2.2. Hemijski sastav i upotreba	8
1.3. Pšenica (Triticum aestivum L.)	9
1.3.1. Botaničke karakteristike	9
1.3.2. Hemijski sastav i upotreba pšeničnog brašna	10
1.3.2.1. Proteini	11
1.3.2.2. Gluten	11
1.3.2.3. Skrob	13
1.3.2.4. Lipidi	14
1.3.3. Faktori kvaliteta pšeničnog brašna	16
1.3.3.1. Količina i kvalitet glutena	16
1.3.3.2. Dijastatička moć brašna	17
1.3.3.3. Klajsterizacija skroba	18
1.3.3.4. Reološke osobine testa	18
1.3.3.5. Ispitivanje reoloških osobina testa	19

1.4. Slobodni radikali i antioksidansi	20
1.4.1. Antioksidativna aktivnost.....	24
1.4.2. Metode određivanja antioksidativne aktivnosti	24
<i>1.4.2.1. Princip određivanja kapaciteta neutralisanja DPPH radikala.....</i>	<i>24</i>
<i>1.4.2.2. Princip određivanja redukcione snage.....</i>	<i>24</i>
1.4.3. Mehanizam dejstva antioksidansa	25
1.4.2. Polifenoli	26
<i>1.4.2.1. Fenolne kiseline.....</i>	<i>28</i>
<i>1.4.2.2. Vezani polifenoli i njihov značaj.....</i>	<i>29</i>
<i>1.4.2.3. Oslobađanje i ekstrakcija vezanih polifenola</i>	<i>30</i>
<i>1.4.2.4. Polifenoli i polifenolne kiseline vrganja</i>	<i>31</i>
<i>1.4.2.5. Polifenoli i polifenolne kiseline pšenice.....</i>	<i>32</i>
<i>1.4.2.6. Antioksidativna aktivnost polifenola vrganja.....</i>	<i>33</i>
<i>1.4.2.7. Antioksidativna aktivnost polifenola pšenice</i>	<i>34</i>
1.4.3. Lipidi kao antioksidansi	35
<i>1.4.3.1. Lipidi vrganja i pšenice.....</i>	<i>35</i>
1.4.4. Tanini kao antioksidansi	36
<i>1.4.4.1. Tanini vrganja i pšenice.....</i>	<i>37</i>
1.4.5. Mineralne materije	38
<i>1.4.5.1 Mineralne materije u vrganju i pšenici.....</i>	<i>40</i>
1.4.6. Proteini.....	41
<i>1.4.6.1. Proteini u vrganju i pšenici.....</i>	<i>42</i>
1.5. Zames testa	43
1.5.1. Procesi tokom zamesa testa	43
1.5.2. Uticaj zamesa na sadržaj i sastav polifenola i antioksidativnu aktivnost vrganja i pšenice.....	44
1.6. Termička obrada testa	45
1.6.2. Uticaj termičke obrade na sadržaj i sastav polifenola i antioksidativnu aktivnost vrganja i pšenice.....	46
1.6.3. Uticaj termičke obrade na sadržaj mineralnih materija i proteina vrganja i pšenice.....	48

2. EKSPERIMENTALNI DEO	51
2.1. Materijal	51
2.1.1. Pšenično brašno i brašno vrganja (<i>Boletus edulis</i> Bull.)	51
2.1.2. Priprema uzoraka za analizu	51
2.1.3. Hemikalije i reagensi	52
2.2. Metode	52
2.2.1. Određivanje sadržaja vlage.....	52
2.2.2. Određivanje sadržaja pepela.....	52
2.2.3. Određivanje sastava pepela.....	52
2.2.3.1. Mikrotalasna digestija.....	52
2.2.3.2. ICP analiza mineralnih materija	53
2.2.3.2.1. Reagensi i standardni rastvori.....	53
2.2.3.2.2. Analiza uzoraka	54
2.2.4. Određivanje sadržaja celuloze (po Scharrer-Kirshner-u)	54
2.2.5. Određivanje sadržaja glutena	54
2.2.6. Određivanje lipida.....	55
2.2.6.1. Ekstrakcija lipida	55
2.2.6.2. Određivanje sadržaja lipida.....	56
2.2.6.3. Određivanje sastava masnih kiselina	56
2.2.6.3.1 Dobijanje metil-estara masnih kiselina	56
2.2.6.3.2. Gasnohromatografska analiza.....	56
2.2.6.4. Određivanje sastava acilglicerola HPLC metodom.....	57
2.2.7. Određivanje sadržaja ukupnih proteina mikro Kjeldahl-ovom metodom.....	57
2.2.8. Ekstrakcija polifenola.....	58
2.2.8.1. Ekstrakcija slobodnih polifenola	58
2.2.8.2. Ekstrakcija vezanih polifenola.....	58
2.2.8.3. Određivanje sadržaja suvog ostatka ekstrakta.....	58
2.2.8.4. Određivanje sadržaja ukupnih fenola.....	58
2.2.8.5. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida	59
2.2.9. Određivanje antioksidativne aktivnosti.....	59

2.2.9.1. <i>Određivanje kapaciteta neutralisanja DPPH radikala</i>	59
2.2.9.2. <i>Određivanje redukcione snage</i>	61
2.2.10. <i>Određivanje sadržaja pojedinih fenolnih kiselina</i>	61
2.2.11. <i>Određivanje sadržaja tanina</i>	62
2.2.12. <i>Reološka ispitivanja testa</i>	62
2.2.12.1. <i>Farinografska ispitivanja</i>	62
2.2.12.2. <i>Ekstenzografska ispitivanja</i>	63
2.2.12.3. <i>Amilografska ispitivanja</i>	64
2.2.13. <i>Priprema proizvoda od čistog pšeničnog brašna i mešavine pšeničnog i brašna vrganja</i>	64
2.2.13.1. <i>Gubitak mase tokom termičke obrade</i>	65
2.2.13.2. <i>Određivanje odnosa h/d</i>	65
2.2.13.3. <i>Određivanje zapremine</i>	65
2.2.14. <i>Energetska vrednost</i>	65
2.2.15. <i>Statistička obrada podataka</i>	66
3. <i>REZULTATI I DISKUSIJA</i>	67
3.1. <i>Hemijski sastav pšeničnog brašna, brašna vrganja i njihovih mešavina</i>	67
3.2. <i>Sadržaj glavnih minerala i oligoelemenata u pšeničnom brašnu, brašnu vrganja i njihovim mešavinama</i>	68
3.3. <i>Sadržaj lipida, acilglicerola i slobodnih masnih kiselina lipida u pšeničnom brašnu, brašnu vrganja i njihovim mešavinama</i>	71
3.3.1. <i>Sastav masnih kiselina lipida pšeničnog brašna, brašna vrganja</i>	72
3.4. <i>Reologija testa</i>	75
3.4.1. <i>Farinografska ispitivanja</i>	75
3.4.2. <i>Ekstenziografska ispitivanja</i>	76
3.5. <i>Sadržaj polifenola, tanina i flavonoida u pšeničnom brašnu, brašnu</i>	79
3.6. <i>Antioksidativna aktivnost pšeničnog brašna, brašna vrganja i njihovih mešavina</i>	81
3.7. <i>Sadržaj pojedinih fenolnih kiselina u ekstraktu polifenola pšeničnog brašna,</i>	84
3.8. <i>Uticaj zamesa i termičke obrade</i>	85
3.8.1. <i>Uticaj zamesa i termičke obrade na hemijski sastav mešavine i testa</i>	85

3.8.2. Uticaj zamesa i termičke obrade na sadržaj glavnih minerala oligoelemenata u pšeničnom brašnu, mešavini i testu	86
3.8.3. Uticaj zamesa i termičke obrade na sadržaj lipida i acilglicerola	88
3.8.4. Uticaj zamesa i termičke obrade na sastav masnih kiselina lipida	89
3.8.5. Uticaj zamesa i termičke obrade na sadržaj polifenola i tanina	90
3.8.6. Uticaj zamesa i termičke obrade na antioksidativnu aktivnost	92
3.8.6.1. <i>Uticaj zamesa i termičke obrade na antioksidativnu aktivnost testa od pšeničnog brašna</i>	92
3.8.6.2. <i>Uticaj zamesa i termičke obrade na antioksidativnu aktivnost testa od mešavine brašna</i>	94
3.8.7. Uticaj zamesa i termičke obrade na sadržaj polifenolnih kiselina u pšeničnom brašnu, mešavini i testu.....	96
3.9. Analiza proizvoda.....	98
3.9.1. Sadržaj polifenola u proizvodima nakon zamesa i termičke obrade	98
3.9.2. Uticaj zamesa i termičke obrade na DPPH test i redukcionu snagu.....	99
3.10. Statistička obrada podataka.....	105
4. ZAKLJUČAK.....	108
5. LITERATURA.....	111
6. PRILOG.....	129

Skraćenice i simboli

- *AMP* - adenzin-monofosfat
 - *AP* - askorbil-palmitat
 - *BG* - butil-galat
 - *BHA* - *terc*-butil-4-hidroksianizol
 - *BHT* - *terc*-butil-4-hidroksitoluen
 - CCl_3^\bullet - trihlor metil radikal
 - D_z - držanje nakon zamesa
 - D_{10} - držanje nakon termičke obrade
 - *DG* - dodecil-galat
 - *DPPH* - 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
 - *FU* – farinografska jedinica
 - *GMP* - guanidin-monofosfat
 - T_{max} - maksimalni viskozitet suspenzije
 - *HMW* - frakcija velike molekulske težine
 - HO^\bullet - hidroksi radikal
 - *HPMC* - hidroksipropil-metil celuloza
 - *LD* - limit detekcije
 - *MUV* - moć upijanja vode
 - NO^\bullet - nitriloksid radikal
 - O^\bullet - superoksid radikal
 - *OG* - oktil-galat
 - *OR* - otpor pri rastezanju
 - *ORAC* - kapacitet neutralisanja radikala kiseonika
 - *PG* - propil-galat
 - *PŠ* - pšenično brašno
 - *PP* - proizvod od pšeničnog brašna
 - *PPV* - proizvod od pšeničnog i brašna vrganja
 - *PVPP* - polivinilpolipirolidin
 - *R* - rastegljivost
 - R^2 - korelacioni koeficijent
 - ROO^\bullet - peroksi radikal
 - *ROS* - reaktivna vrsta kiseonika
 - *RSC (%)* - kapacitet "hvatanja" radikala
 - T_{max} - temperatura želatinizacije
 - *TBHG* - *terc*-butilhidrohinon
 - *TOSC* - kapacitet neutralisanja oksiradikala
 - *VRG* - brašno vrganja
-

UVOD

Pečurke se odlikuju se visokim sadržajem proteina, ugljenih hidrata i biljnih vlakana i sadrže različite minerale i vitamine. Mnogobrojna istraživanja pokazuju da su pečurke korisne u borbi protiv različitih bolesti jer su izvor biološki aktivnih jedinjenja, kao što su polifenoli, steroli i triterpeni. *Boletus edulis*, poznat pod imenom vrganj, jedna je od najkvalitetnijih pečurki na tržištu. Bogata je proteinima i sastojcima koji imaju antikancerogeno, antibiotsko i imunostimulativno dejstvo. Odličan je izvor vlakana, posebno hitina koji ometa apsorpciju masti i pomaže kod mršavljenja, što ovu pečurku čini idealnom dijetalnom namirnicom. Bogata je vitaminima B₁, B₂, B₃, B₅, C, D i mineralima kao što su K, Zn, Fe, Se i Ca, a sadrži i polisaharide beta-glukan poznat kao stimulator imunog sistema. Sastav proteina vrganja sličan je sastavu proteina životinjskog porekla, zbog čega se posebno preporučuje u vegeterijanskoj ishrani, a kako ne sadrži skrob i saharozu, vrganj je pogodan za ishranu dijabetičara.

U ranijim ispitivanjima sadržaja polifenola, naročito kod žitarica, dobijeni sadržaj bio je manji od stvarnog, jer se uglavnom određivao samo sadržaj slobodnih, a ne i sadržaj vezanih polifenola. Vezani polifenoli se uglavnom nalaze u strukturi ćelijskog zida, kao jedinjenja vezana estarskom vezom za celulozu, lignin ili proteine, i to su uglavnom fenolne kiseline. Dejstvom mikroflore i intestinalnih enzima u debelom crevu čoveka vezani polifenoli se oslobađaju, pa se određivanjem njihovog udela u sadržaju ukupnih polifenolnih jedinjenja može proceniti stvarna prehrambena vrednost vrganja.

Ishrana savremenog čoveka u velikoj meri bazira na upotrebi prehrambenih proizvoda na bazi pšeničnog brašna. Pekarska industrija je u drugoj polovini XX veka, usled razvoja tehnoloških dostignuća i pojave trenda "zdrave hrane", potrošačima ponudila proizvode od pšeničnog brašna sa dodatkom drugih brašna koja sadrže komponente sa pozitivnim dejstvom na zdravlje čoveka. U literaturi nije bilo podataka o sadržaju slobodnih i vezanih polifenolnih jedinjenja vrganja i njihovoj antioksidativnoj aktivnosti kao ni podataka o uticaju zamesa i termičke obrade testa od mešavine pšeničnog i brašna vrganja na sadržaj slobodnih i vezanih polifenolnih jedinjenja i njihovu, antioksidativnu aktivnost, sadržaj mineralnih materija, lipidni sastav (sa posebnim osvrtom na sadržaj acilglicerola i masnih kiselina), sadržaj tanina i sadržaj pojedinih fenolnih kiselina.

Polazeći od pretpostavke da dodatak brašna vrganja može poboljšati nutritivna i funkcionalna svojstva pšeničnog brašna, u okviru ove doktorske disertacije određen je sadržaj sastojaka bitnih za nutritivnu i energetska vrednost brašna vrganja, ispitana su reološka svojstva testa, sastav acilglicerolai masnih kiselina i sadržaj slobodnih i vezanih polifenola mešavine pšeničnog i različitog udela brašna vrganja kao i njihova antioksidativna aktivnost, kao i uticaj zamesa i termičke obrade testa od mešavine pšeničnog i optimalnog udela brašna vrganja na antioksidativnu aktivnost i sadržaj pojedinih fenolnih kiselina. U istraživanjima je korišćena pečurka vrganj (*Boletus edulis*) sa eko-područja, Piskupovo, Leskovac, a brašno pečurke je dobijeno sušenjem sveže pečurke i naknadnim mlevenjem i sejanjem. U cilju određivanja sadržaja i sastava slobodnih polifenola i njihove antioksidativne aktivnosti korišćena je metoda ekstrakcija čvrsto-tečno i postupak ekstrakcija sa mešom dietil etra i etil acetata (1:1,v/v) nakon alkalne hidrolize za određivanje sadržaja i sastava vezanih polifenola. Reoloških osobina testa određene su metodama za određivanje kvaliteta brašna farinografom, ekstenziografom i amilografom. Sadržaj polifenola (metoda sa Folin-Ciocalteu), sadržaja tanina i antioksidativna aktivnost (metoda sa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilom tj. DPPH radikalom i metoda određivanja redukcione snage na principu reakcije supstance sa redukcionim potencijalom sa kalijum-ferocijanidom (Fe^{3+}), određeni su odgovarajućim spektrofotometrijskim metodama. Sastav masnih kiselina određen je GC-MS metodom, sastav acilglicerola i sadržaj pojedinih fenolnih kiselina, HPLC metodom. Vrednosti IC_{50} vrednosti dobijene su primenom programa Microsoft Excel ed50plus v1.0 software (Mario H. Vargas, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias), a statistička obrada eksperimentalnih podataka primenom programa STATISTICA, version 5.0, određivanjem srednje vrednosti, standardne devijacije, korelacione matrice i dendograma sa Euclidean-ovim rastojanjem.

Radi konačne procene koristi dodatka brašna vrganja pšeničnom brašnu, dobijen je proizvod od mešavine ovih brašna sa optimalnim udelom brašna vrganja po određenoj recepturi i proizvod okarakterisan određivanjem odnosa pečenja, gubitka mase tokom pečenja i zapremine proizvoda.

1. OPŠTI DEO

1.1. Pečurke

Dugo se smatralo da gljive pripadaju carstvu biljaka i tek krajem 60-tih godina prošlog veka one su postale zasebno carstvo, zahvaljujući Whittaker-ovoj klasifikaciji živog sveta. Gljive su organizmi koji su veoma rasprostranjeni na Zemlji i opstaju čak i u veoma ekstremnim uslovima, kao što su pustinje ili oblasti sa visokim nivoom jonizujućeg zračenja. Skorašnje procene kažu da broj gljiva koje se nalaze na planeti Zemlji varira od 500 hiljada do 10 miliona, ali je usvojeno da ima približno 1,5 miliona vrsta. Međutim, ukupan broj opisanih vrsta gljiva je trenutno samo 100 hiljada. Od ovog broja, makrogljive-pečurke, broje 14 hiljada vrsta. Ako imamo u vidu da se broj makrogljiva koje žive na planeti Zemlji, procenjuje na 150 hiljada, onda je jasno da je samo 10% poznato nauci (Cavalier-Smith, 1998; Hawksworth, 2001; Wasser, 2011).

Pečurke se odlikuju visokim sadržajem proteina, smatraju se makro-gljivama sa karakterističnim plodnim telom koje može biti izvan ili ispod zemlje, a dovoljno je veliko da se može videti okom i ubrati rukom, dok ostatak pečurke ostaje pod zemljom kao micelijum (Chang i Miles, 1992). Pravilna ishrana bitno utiče na mnoge funkcije ljudskog tela kao i na održavanje dobrog zdravlja, što je usko povezano sa smanjenjem rizika od mnogih bolesti. Decenijama unazad pečurke su se koristile u ishrani zbog njihovog jedinstvenog ukusa, kao i u medicinske svhe zbog niza pozitivnih efekata na ljude (Wani i sar., 2010), pri čemu je poslednjih godina upotreba u znatnom porastu (Courvoisier, 1999). Pečurke mogu biti svrstane u tri kategorija i to:

- jestive,
- lekovite i
- otrovne.

Jestive pečurke spadaju u grupu pečuraka koje ne sadrže nikakve termolabilne otrove. Kod njih je uglavnom u upotrebi plodonosno telo, mogu se jesti i bez posebne obrade, tj. sirove i mogu biti korišćenje kao zamena za meso.

Lekovite ili medicinske pečurke nemaju upotrebu u ishrani, ali u svom sastavu imaju biološki aktivne komponente koje imaju primenu u medicini i do sada nauka je pokazala da postoji preko 500 vrsta gljiva sa izuzetno lekovitim svojstvima.

Otrovne pečurke su one za koje je dokazano da sadrže otrove koji se ne mogu uništiti nikakvom termičkom ili drugom obradom, a postoje i neke za koje još uvek to nije dokazano (Cheung, 2010).

Pored toga što se mogu koristiti kao hrana i lekovi, pečurke imaju i jako bitnu ekološku funkciju (Bahl, 1983), ali se smatraju i važnim izvorom biološki aktivnih jedinjenja poput fenolnih jedinjenja, sterola i triterpena (Cheung, 2010). Biološki aktivna jedinjenja iz pečurki poseduju antifungalna, antibakterijska, antioksidativna i antivirusna svojstva. U pogledu nutritivnih svojstava divljih i gajenih pečuraka, sadržaj energije i masti je mali ali sa druge strane sadržaj proteina, ugljenih hidrata i biljnih vlakana je mnogo veći. Pečurke sadrže različite minerale i elemente u tragovima poput kalijuma i bakra, kao i vitamine riboflavin, niacin (Cheung, 2010). Mnogobrojna istraživanja koja se odnose na hemijski sastav pečuraka, pokazala su da se pečurke mogu koristiti u borbi protiv najrazličitijih bolesti. Određene vrste pečuraka sadrže hemijske grupe (mikotoksine) kao što su ciklopeptidi, fenilhidrazini i izoksaloli koji mogu biti toksični za ljude (Berger i Guss, 2005). Od nekoliko hiljada vrsta gljiva širom sveta samo oko 2000 se smatra jestivim, od kojih se 20 komercijalno proizvode, a 4-5 vrsta se proizvodi industrijski (Chang, 1990).

Najveći proizvođač pečuraka u svetu je Kina, zatim Severna Amerika, Holandija, Francuska, Poljska i na kraju Španija. Tretirane pečurke su bile u mnogo većoj meri korišćene od svežih pečuraka, međutim, u poslednjih četiri decenija upotreba svežih pečuraka povećala se čak 10 puta. Potrošnja pečuraka po glavi stanovnika najveća je kod azijske populacije, a najniža kod afričko-američke (Živanović, 2006). Redovno, ali umereno konzumiranje pečuraka može pozitivno da utiče na zdravlje čoveka. Preterano često konzumiranje pečuraka u većim količinama može dovesti do pojave alergija (Cheung, 2010).

1.1.1. Upotreba pečuraka

Istorijski gledano, uloga pečurka u lečenju mnogih oblika poremećaja imuniteta je opisana još u starim tradicionalnim istočnjačkim medicinama. Tako Kineska farmakopeja dokumentuje upotrebu od preko 100 vrsta pečuraka u lečenju raznih vrsta oboljenja.

U Kini one se od davnina smatraju eliksirom života. Savremena istraživanja potvrđuju pozitivna dejstva konzumacije pečuraka i proizvoda na bazi pečuraka. Naročito se ističe njihovo imunomodulatorno i antitumorno delovanje. Ključna komponenta ovih delovanja jeste β glukana. Pored β glukana kao farmakološki aktivne komponente, nukleozidi prisutni u pojedinim pečurkama, posebno adenzin, smatraju se aktivnim komponentama tih pečuraka i one svoju dugogodišnju primenu u tradicionalnoj kineskoj medicini.

Iz ovih razloga pečurke se upotrebljavaju u terapiji nesvestice, hiperglikemije, hiperlipidemije, srčanih aritmija, bolesti respiratornog sistema i jetre. Esencijalne mineralne komponente pečuraka poput selena i cinka, utiču pozitivno u prevenciji karcinogenih i kardiovaskularnih oboljenja. Cink i selen, fenolne komponente i neka specifična jedinjenja, poput ergotionena, nosioci su antioksidativnog delovanja pečuraka i proizvoda na bazi pečuraka (Vidović i sar., 2011). Zbog ovih osobina pečurke se mogu smatrati funkcionalnom hranom, svojevrsnim izvorom lekovitih komponentata i važanim činiocem pravilne ishrane. U tabeli 1 prikazan je sastav pojedinih vrsta pečuraka koje se koriste u medicinske svrhe i ishrani.

Tabela 1. Prosečni hemijski sastav* pojedinih vrsta pečuraka koje se koriste u ishrani i medicini (Cheung, 2010)

Vrsta pečuraka	Proteini	Masti	Ugljeni hidrati	Sirova vlakna	Pepeo
<i>Agaricus bisporus</i>	23,9-34,8	1,7-8,0	51,3-62,5	8,0-10,4	7,7-12,0
<i>Agaricus blazei</i>	26,7	2,6	45,5	18,3	6,8
<i>Auricularia auricula-judae</i>	8,1	1,5	81,0	6,9	9,4
<i>Boletus edulis</i>	29,7	3,1	51,7	8,0	5,3
<i>Cantharellus cibarius</i>	21,5	5,0	64,9	11,2	8,6
<i>Cordyceps sinensis</i>	21,9	8,2	24,2	-	2,9
<i>Ganoderma tsugae</i>	8,8	5,7	10,4	73,4	1,7
<i>Grifola frondosa</i>	21,1	3,1	58,8	10,1	7,0
<i>Hericium erinaceus</i>	22,3	3,5	57,0	7,8	9,4
<i>Lentinus edodes</i>	13,4-17,5	4,9-8,0	67,5-78,0	7,3-8,0	3,7-7,0
<i>Pleurotus ostreatus</i>	10,5-30,4	1,6-2,2	57,6-81,8	7,5-8,7	6,1-9,8
<i>Tremella fuciformis</i>	4,6	0,2	94,8	1,4	0,4
<i>Tricholoma giganteum</i>	16,1	4,3	70,1	4,5	5,0
<i>Tuber melanosprum</i>	23,3	2,2	66,2	27,9	8,3
<i>Vavariella volvacea</i>	30,1	6,4	50,9	11,9	12,6

* g/100g suve materije

Brašno od pečuraka može se dobiti od jedne ili više vrsta pečuraka i može da posluži kao delimična zamena brašna u različitim pekarskim proizvodima, kao i za povećanje sadržaja proteina i dijetetskih vlakana (Corey i sar., 2006).

Slično kvascu, pečurke sadrže glutamine i nukleotide (guanidin-monofosfat, GMP, i adenzin-monofosfat, AMP) koji pečurkama daju karakterističan ukus, pa se ekstrakti pečuraka (tečni ili u prahu) mogu koristiti kao aditivi za poboljšanje ukusa prehrambenih proizvoda. Alkoholna pića sa ekstraktom pečuraka popularna su u Japanu i Koreji (Živanović, 2006).

1.1.2. Nutritivna vrednost pečuraka

1.1.2.1. Proteini

Proteini su važan sastojak suve materije pečuraka (Fasidi i Kadiri, 1990; Alofe, 1991; Aletor, 1995; Florezak i Lasota, 1995; Chang i Buswell, 1996). Sadržaj sirovog proteina jestivih pečuraka varira i kreće se od 15 do 35% suve mase, u zavisnosti od vrste, varijeteta i stepena razvoja plodnog tela (Crisan i Sands, 1978; Longvah i Deosthale, 1998; Manzi i sar, 1999; Díez i Alvarez, 2001; Mdachi i sar., 2003), kao i od sastava podloge i vremena berbe. Smanjenje sadržaja proteina primećuje se tokom skladištenja gljiva (Crisan i Sands, 1978; Longvah i Deosthale, 1998; Manzi i sar, 1999; Díez i Alvarez, 2001; Mdachi i sar., 2003). Razlike u sadržaju sirovog proteina između divljih i gajenih pečuraka skoro i da nema (Oyetayo i sar., 2007). Prema standardu Organizacije za hranu i poljoprivredu, kvalitet proteina pečuraka bolji je od većine biljnih proteina (FAO, 2006). Vrednost svarljivosti proteina *in vivo* za bukovaču (*Pleurotus ostreatus*) i šitake (*Lentinula edodes*) iznosi 73,4% odnosno, 76,3%. (Adewusi i sar., 1993; Dabbour i Takruri, 2002). U pogledu količine sirovih proteina pečurke se rangiraju ispod mesa, ali iznad mnogih drugih proizvoda uključujući mleko (Chang, 1980). Sadržaj proteina u pečurkama u odnosu na suhu masu normalno iznosi od 19 do 35%, dok je taj sadržaj u pojedinim žitaricama mnogo manji i iznosi 7,3% u pirinču, 9,4% u kukuruzu i 12,7% u pšenici (Crisan i Sands, 1978; Li i Chang, 1982; Bano i Rajarathnam, 1986).

Pečurke sadrže sve esencijalne aminokiseline neophodne za čoveka (Hayes i Haddad, 1976). Izuzev kod nekih pečuraka udeo esencijalnih aminokiselina u proteinima pečurkama kreće se od 30-50gr/100gr suve mase proteina.

Proteini pečuraka su naročito bogati aminokiselinama poput treonina (41-95 mg/g suve materije proteina), valina (36-89 mg/g suve materije proteina), glutaminske kiseline (91-120 mg/g suve materije proteina) i arginina (37-140 mg/g suve materije proteina), dok je sadržaj metionona (1,2-22 mg/g suve materije proteina) i cisteina (16-19 mg/g suve materije proteina) niži. Slobodne aminokiseline kao što su asparaginska i glutaminska kiselina zajedno sa 5'-nukleotidima, i to 5'-adenozin monofosfatom, 5'-citozin monofosfatom i 5'-guanozin monofosfatom doprinose jedinstvenom ukusu pečuraka (Mau i sar., 2001).

1.1.2.2. Ugljeni hidrati

Ukupan sadržaj ugljenih hidrata pečuraka, uključujući svarljive i nesvarljive ugljene hidrate, zavisi od vrste pečuraka i iznosi 35-70% suve materije (Longvah i Deosthale, 1998; Díez i Alvarez, 2001; Mau i sar., 2001).

Svarljivi ugljeni hidrati u pečurkama su manitol i glukoza i oni su prisutni u veoma maloj količini (manje od 1% suve materije), dok je glikogen prisutan u većoj količini (5-10% suve materije). Pod nesvarljivim ugljenim hidratima podrazumevaju se oligosaharidi i to treheloz i polisaharidi bez skroba (hitin, β -glukan) i oni predstavljaju najveći deo ugljenih hidrata pečuraka. Polisaharidi pečuraka bez skroba, mogu da se posmatraju kao dijetalna vlakna i kao takvi imaju fiziološku ulogu. Sadržaj dijetalnih vlakana u pečurkama je promenljiv i zavisi od vrste i morfološkog oblika (Manzi i sar., 2001).

1.1.2.3. Lipidi

Sadržaj masti u pečurkama je veoma nizak (manje od 5% suve materije), za razliku od sadržaja proteina i šećera. U plodnom telu pečurke najzastupljenije su nezasićene masne kiseline, među kojima je sa najvećim udelom linolna kiselina (688-840 mg/g ukupnih lipida) (Cheung, 1997; Longvah i Deosthale, 1998; Diez i Alvarez, 2001; Yang i sar., 2002). I pored toga što je nivo linolne kiseline u pečurkama mali, zbog uloge kao prekursora 1-oktan-3-ola, glavnog aromatičnog jedinjenja poznatog još kao gljivični alkohol, ona u velikoj meri doprinosi ukusu pečuraka (Maga, 1981).

1.1.2.4. Vitamini

Gajene pečurke predstavljaju dobar izvor vitamina čiji sadržaj varira u zavisnosti od vrste. Tako je sadržaj vitamina B₂ u granicama 1,8-5,1 mg/100g suve materije, niacina, 31-65 mg/100g suve materije i folata 0,3-0,64 mg/100g suve materije (Mattila i sar., 2001). Sadržaj vitamina B₂ u pečurkama je veći od sadržaja u povrću, dok je sadržaj ovog vitamina u pojedinim vrstama *A. bisporus* jednak njegovom sadržaju u jajima i siru.

Takođe, sadržaj folata u pečurkama može da se uporedi sa njegovim sadržajem u povrću. Pečurke sadrže vitamin C u malim količinama, a siromašne su i vitaminima A i E (Anderson i Fellers, 1942).

Vitamin D je gotovo potpuno odsutan kod nekih gajenih pečuraka kao na primer kod *A. bisporus*, dok divlje pečurke sadrže značajne količine ovog vitamina (Mattila i sar., 2001).

1.1.2.5. Mineralne materije

U poređenju sa povrćem pečurke predstavljaju dobar izvor mineralnih materija. Glavni elementi mineralnih materija pečuraka su K, P, Mg, Na, Ca, a prisutni su još Cu, Zn, Fe, Mo, Cd (Bano i sar., 1981; Li i Chang, 1982; Bano i Rajarathnam, 1986). Elementi K, P, Na i Mg čine od 56% do 70% od ukupnih mineralnih materija pečuraka.

Poznato je da pečurke akumuliraju teške metale poput Cd, Pb, Cu, Hg, Au, Ni, koji mogu biti toksične po ljude (Schmitt i Stitche, 1991; Majestric i Lepsova, 1993; Wondratschek i Roder, 1993; Kalac i Svoboda, 2000; Svoboda i sar., 2001; Issiloglu i sar., 2001; Malinowska i sar., 2004). Vrsta i starost pečurke, sastav supstrata i faktori okoline posebno utiču na nivo ovih metala u pečurkama (Svoboda i sar., 2006; Garsia i sar., 2009).

1.2. Vrganj (*Boletus edulis*)

1.2.1. Botaničke karakteristike

Vrganj (*Boletus edulis* Bull.) je jestiva gljiva i jedna od najkvalitetnijih gljiva, koja ima visoku cenu na tržištu. Izgled vrganja prikazan je na slici 1. Raste nakon kiša, u polukrugu, sakriven ispod lišća ili iglica, na proplancima i sunčanim obroncima prekrivenim mahovinom, od leta do jeseni. Šešir je poluokruglog oblika, svetlo do tamno smeđe boje, sa belom, debelom drškom i prijatnim svežim mirisom mesa. Većina vrsta roda *Boletus* nakon rezanja ne menja boju (Marković, 1973).



Sistematika vrganja (Krieger, 2007).

Carstvo: *Fungi*

Odeljak: *Basidiomycota*

Klasa: *Agaricomycetes*

Red: *Boletales*

Familija: *Boletaceae*

Rod: *Boletus*

Vrsta: *B. edulis*

Slika 1. Vrganj (*Boletus edulis* Bull.)

1.2.2. Hemijski sastav i upotreba

Vrganj je bogat mineralima, vitamina, proteinima i dijetetskim vlaknima, dok je sadržaj ugljenih hidrata i masti jako mali. Sadržaj vlage u svežem vrganju je preko 80% i zavisi od vlažnosti i temperature okoline u toku rasta i skadištenja (Çaglarlrmak i sar., 2001). Svarljivi ugljeni hidrati poput glukoze i manitola prisutni su u malim količinama, dok je sadržaj glikogena veći.

Ugljeni hidrati kao što su hitin, hemiceluloza i pektin ulaze u sastav dijetetskih vlakana, i njihova nerastvorljivost u vodi doprinosi poboljšanju nutritivnih karakteristika vrganja. Vrganj karakteriše visok sadržaj mineralnih materija. Najzastupljeniji su kalijum i fosfor, a prisutni su još selen, kalcijum, magnezijum, natrijum, sumpor, a u maloj količini cink i gvođe (Strmiskova i sar., 1992; Watanable i sar., 1994; Vetter, 1994; Falandysz i sar., 2001).

Udeo masnih kiselina, izražen u % u odnosu na ukupni sadržaj masnih kiselina iznosi: linolna, 42,2%, oleinska, 36,1%, palmitinska, 9,8%, stearinska, 2,7% i linolenska 0,2% (Crisan i Sands, 1978). Istraživanjem i upoređivanjem jedanaest vrsta portugalskih divljih jestivih gljiva, došlo se do zaključka da *Boletus edulis* ima najveći sadržaj ukupnih aminokiselina (Kalač, 2009). Vrganj predstavlja odličan izvor različitih vitamina, zbog čega je jako bitno redovno konzumiranje vrganja. Od vitamina grupe B u vrganju su prisutni tiamin, riboflavin, niacin, folna kiselina, pantotenska kiselina, a od ostalih vitamin C, tokoferol, erosterol. Upotreba vrganja se preporučuje vegeterijancima, zbog prisustva vitamina D (Bernas i sar., 2006).

Od fenolnih kiselina u vrganju ima najviše protokatehinske i galne kiseline, dok je sadržaj hlorogene kiseline manji. Biološki aktivna jedinjenja koja se nalaze u vrganju pokazuju antifungalna, antibakterijska, antioksidativna i antivirusna svojstva.

Na tržištu vrganj se može naći u svežem, osušenom ili konzerviranom stanju. Zbog svog specifičnog ukusa i karakterističnog mirisa, koji podseća na miris kiselog testa, vrganj se vrlo često koristi u ishrani, kao dodatak supama, salatama, priprema se sa pirinčem. Da bi se produžio rok upotrebe i kvalitet zamrznutog vrganja, pre zamrzavanje vrganj treba blanširati.

1.3. Pšenica (*Triticum aestivum* L.)

1.3.1. Botaničke karakteristike

Pšenica (*Triticum aestivum* L.), uz ovas spada u prve kultivisane žitarice (slika 2). Potiče iz Severozapadne Azije, pre oko 10.000 godina, odakle je pre oko 5.000 godina stigla u Etiopiju, Iran, Indiju i Španiju.



Sistematika pšenice (Knežević, 2007).

Carstvo: *Plantae*

Odeljak: *Magnoliophyta*

Klasa: *Liliopsida*

Red: *Poales*

Familija: *Poaceae*

Podfamilija: *Pooideae*

Pleme: *Triticeae*

Rod: *Triticum*

Vrste: *T. turgidum* L., *T. durum* L., *T. aestivum* L.

Slika 2. Pšenica (*Triticum aestivum* L.)

Danas je pšenica najznačajnija žitarica u ljudskoj ishrani i po ukupnoj svetskoj proizvodnji nalazi se na drugom mestu posle kukuruza, a posle nje se nalazi pirinač. Daje dobre prinose u različitim klimatskim uslovima a prerađuje se u višenamensko, visokokvalitetno brašno koje ima široku upotrebu u pekarskoj industriji (Shewry, 2007).

1.3.2. Hemijski sastav i upotreba pšeničnog brašna

Pšenično brašno može biti različitog sastava i tehnoloških osobina što zavisi od načina mlevenja i karakteristika sorte pšenice. Pšenično brašno sadrži vitamine B₁, B₂, E, provitamin vitamina A, nikotinsku kiselinu i enzime dijastazu, proteazu, lipazu, oksidazu i dr. Na sastav pšeničnog brašna veoma utiče stepen izmeljavanja pšenice. Sa povećanjem procenta izmeljavanja pšenice dobijaju se tamnija brašna u kojima je sadržaj proteina veći.

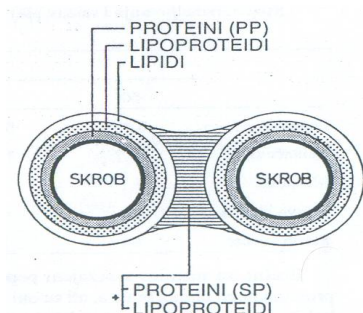
Sa druge strane takva brašna formiraju gluten lošijih fizičkih osobina i podložnija su enzimskoj razgradnji. Raste i sadržaj lipida, enzima i vitamina, dok sadržaj skroba opada (Đaković, 1998). Tamnija brašna imaju veći sadržaj pepela i nesvarljivih materija celulozne prirode. Hleb i ostali proizvodi od tamnih brašna upravo su zbog toga daleko zdraviji.

Ispitivanja pokazuju da su glavne bolesti današnjeg čoveka, bolesti srca, probavnih organa i dijabetes, dobrim delom uzrokovane nedostatkom “balastnih” materija u hrani, koje upravo sadrži tzv. “crni” hleb. Hemijski sastav pšeničnog brašna dat je u tabeli 2.

Tabela 2. Prosečni hemijski sastav pšeničnog brašna

Komponenta	Sadržaj (%)
Vlažni gluten	20-35
Proteini	9-15
Skrob	64-74
Rastvorljivi šećeri	2-4
Celuloza	0,1-2
Pentozani	1-5
Lipidi	1,5-2,5
Pepeo	0,4-1,7
Vlaga	13-15

Od pšenice se mlevenjem dobija brašno koje je glavni sastojak namirnica kao što su hleb, kolači, krekeri, biskviti, palačinke, kaše. U manjoj meri pšenica se koristi kao stočna hrana. *Triticum aestivum L.* je vrsta pšenice koja se uglavnom koristi za dobijanje hlebnog brašna, *Triticum durum L.* za proizvodnju testenine, a *Triticum turgidum L.* za proizvodnju keksa i pšeničnog skroba.



Slika 3. Šematski prikaz strukture zrnaca pšeničnog brašna (Hess, 1958)

U pšeničnom brašnu mogu da se razlikuju čestice zdrobljenog endosperma pšeničnog zrnevlja i mekinjaste čestice. Čestice endosperma u brašnu sastoje se iz velikih zrnaca skroba, delića agregiranih proteina i delića proteina agregiranih sa malim skrobnim zrcima, a mogu se razlikovati i mala zrnca skroba i slobodni proteini. Na slici 3 je prikazan izgled strukture zrnaca pšeničnog brašna prema Hesu (Hess, 1958; Đaković, 1998). Zrnca skroba obavijena su slojem čvrsto “*priljubljenih*“ ili “*adsorbovanih proteina*“, koji se još nazivaju i “*skrobni*“ proteini. Oko njih su u slojevima raspoređeni lipoproteini brašna, dok se, tzv. “*slobodni proteini*“ nalaze između pojedinih skrobnih zrnaca.

1.3.2.1. Proteini

Proteini pšeničnog brašna se prema rastvorljivosti i molekulskoj masi mogu svrstati u 4 grupe:

1. Albumini rastvorljivi u vodi
2. Globulini rastvorljivi u rastvorima soli;
3. Glijadini rastvorljivi u 70%-nom alkoholu
4. Glutenini rastvorljivi u razblaženim kiselinama

Albumini i globulini čine rastvorljive proteine i njih ima od 15-20%. Ostatak od 80-85% čine nerastvorljivi, linearni proteini koji formiraju gluten (Žeželj, 1995). Proteini u testu sačinjavaju proteinski kompleks-*gluten* (lepak), koji raspolaže određenim plastično-elastičnim osobinama i odgovoran je za sposobnost testa da zadržava gasove.

1.3.2.2. Gluten

Gluten predstavlja disperzni sistem polimera koji se dele u dve grupe na osnovu njihove rastvorljivosti u alkoholu: glijadini i glutenini. Glijadini su u obliku jednostrukog lanca polipeptida, dok su glutenini u obliku višestrukog lanca polimernih proteina u kojima su pojedinačni peptidi povezani u mrežu preko intermolekularnih disulfidnih i vodoničnih veza. Subjedinice glutenina formiraju i intra- i interlančane disulfidne veze, dok je gliadin u stanju da formira samo intralančane veze (Lindsay i Skerritt, 1999).

Ispitivanja su pokazala da gluten ima dvojni raspodelu molekulske mase što je u skladu sa klasičnom podelom na glijadine i glutenine. Pojedinačni molekuli glutenina u rastvoru imaju oblik β -spirale (dužine 50 do 60 nm), dok je tercijarna struktura polimera u obliku mreže gde su molekuli glutenina međusobno povezani intermolekulskim disulfidnim i vodoničnim vezama.

Molekuli glutenina se granaju na svakih 40-50 nm (Dobraszczyk i Morgenstern, 2003), pri čemu se stvara prazan prostor između mesta grananja (Popineau i sar., 1994; Belton, 1999; Feeney i sar., 2003). Uz upotrebu većeg broja tehnika (hromatografija, elektroforeza, reološka ispitivanja, mikroskopija-TEM, SEM, CLSM) došlo se do hipoteze po kojoj subjedinice glutenina, zahvaljujući svojstvu da formiraju disulfidne veze, grade osnovu strukture makropolimera glutena (Lindsay i Skerritt, 1999).

Danas je opšte poznato da je gluten odgovoran za razlike u kvalitetu testa, naročito kod testa dobijenih od različitih varijeteta pšenica (Weegels i sar., 1996; MacRitchie i Lafandra, 1997), posebno frakcija glutenina velike molekulske težine (HMW). Tačan mehanizam odgovoran za ove razlike nije bilo moguće utvrditi GC ili HPLC metodom zbog nerastvorljivosti polimera, pa se reologija sve više koristi kao osetljivi pokazatelj promena u strukturi polimera HMW. Dugo se smatralo da je reološko ponašanje ovih polimera nezavisno od njihove hemijske strukture (Doi i Edwards, 1986), a danas se zna da postoji direktna zavisnost reologije testa i kvaliteta finalnog proizvoda od hemijske strukture polimera, a naročito od stepena grananja i umreženosti (Munsted i sar., 1998; Wagner i sar., 2000). Pretpostavlja se da upravo razgranata struktura glutena utiče na otpor testa na rastezanja i stabilnost zida mehurova u testu. Razgranatost lanca je takodje važna za učvršćavanje strukture lanca tokom istežanja.



Slika 4. Model mreže HMW polimera u toku istežanja (McLeish i Larson, 1998)

Savremeni modeli polimera povezuju molekulsku težinu i strukturu sa reološkim osobinama polimera. Npr. tzv. "pom-pom" model koji su postavili McLeish i Larson, 1998. godine, opisuje HMW polimere (gde spada i gluten) kao fleksibilnu osnovu za koju su prikačena grananja (pom-poms) koja se šire u prostor sa svih krajeva osnove. Ovaj model predviđa postojanje fenomena otpora na rastezanje usled osnog i planarnog istežanja.

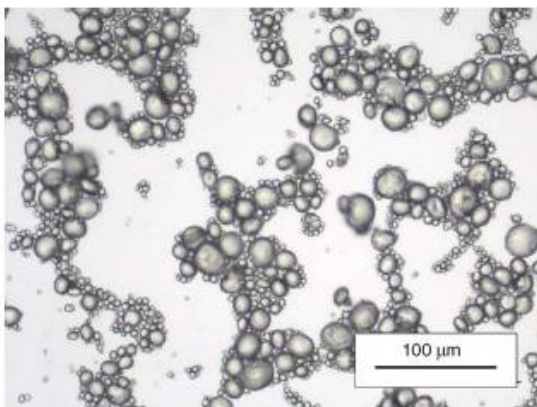
Grane se umrežuju sa okolnim polimerom, pri čemu istežanje fleksibilne osnove između mesta grananja stvara otpor na rastezanje.

Najveći uticaj na otpor na rastezanje ima razgranatost i rastojanje između mesta grananja. Mesta grananja izgledaju kao granica između delova polimernog lanca, slično kao čvorovi, gde su karike polimera zaglavljene i ne mogu slobodno da se pokreću jedna pored druge. Ponašanje HMW polimera prilikom istezanja prema pom-pom modelu prikazano je na slici 4 (McLeish i Larson, 1998).

Gluten sadrži veliku količinu glutaminske kiseline, prolina, leucina i glicina. Glutaminska kiselina i glicin grade bočne veze i vodonične mostove, leucin je hidrofoban, a prolin, pošto nema slobodnog vodonikovog atoma, ne obrazuje vodonične mostove koji obezbeđuju izgradnju heliksa, zbog čega su molekuli glutena haotično sklupčani (McLeish i Larson, 1998).

1.3.2.3. Skrob

Skrob je složeni biopolimer prirodnog porekla koji se u biljnom tkivu javlja u obliku granula. Oblik i veličina skrobnih granula različitog porekla se razlikuju. Kod pšeničnog skroba granule su sfernog oblika, pojavljuju se kao veoma krupna zrnca, prečnika do 50 μm i kao veliki broj malih zrnaca, prečnika ispod 10 μm . Pirinčani skrob ima najmanja zrnca od svih žita, njihova veličina je 3-6 μm , a oblik je izometričan i često nesferičan (Gregorova i sar., 2006).



Slika 5. Skrobna zrna pšenice snimljena optičkim mikroskopom (Gregorova i sar., 2006).

Način pakovanja skrobnih granula različitog porekla se takođe razlikuje kako zbog njihovog oblika, tako i zbog prisustva intergranularnog trenja (Willett, 2001). Na slici 5 je prikazan izgled skrobnih zrna pšenice (Gregorova i sar., 2006). U hemijskom pogledu skrob se sastoji iz dva tipa polisaharida: amiloze i amilopektina. Molekuli amiloze i linearni delovi amilopektina imaju jako izraženu težnju da obrazuju spirale, unutarmolekularnim povezivanjem glukoznih jedinica vodoničnim mostovima. Unutar spirale ostaje slobodan prostor koji može da „uvlači“ u sebe molekule joda, ili hidrofobne delove drugih molekula, kao što su alifatični nizovi zasićenih masnih kiselina.

Pored skroba koji je u hladnoj vodi nerastvorljiv u pšeničnom brašnu su prisutni i drugi ugljeni hidrati: monosaharidi (ksiloza, arabinoza, glukoza, fruktoza), disaharidi (maltoza, saharoza, laktoza), oligosaharidi i polisaharidi, gde pored skroba spadaju celuloza, hemiceluloza i pentozani. Fermentacija mono- i di-saharida u prisustvu ćelija kvasca doprinosi narastanju testa. U daljem toku fermentacije, usled enzimske razgradnje skroba i oligosaharida brašna, nastaju šećeri koje kvasci dalje koriste, što dovodi do stvaranja ugljendioksida i alkohola.

1.3.2.4. Lipidi

Pod izrazom lipidi podrazumevaju se masti i materije slične mastima prisutni u pšeničnom brašnu u količini 1,5-2,5%. Sadržaj lipida najveći je u klici, a potom u mekinjama. Približan sastav lipida pšeničnog brašna je: 30-35% triglicerida, 15-25% mono- i diglicerida, 5-10% slobodnih masnih kiselina, 25% fosfolipida i 15% glikolipida. Podela lipida i njihov sadržaj u brašnu u prikazan je tabeli 3.

Tabela 3. Podela lipida brašna

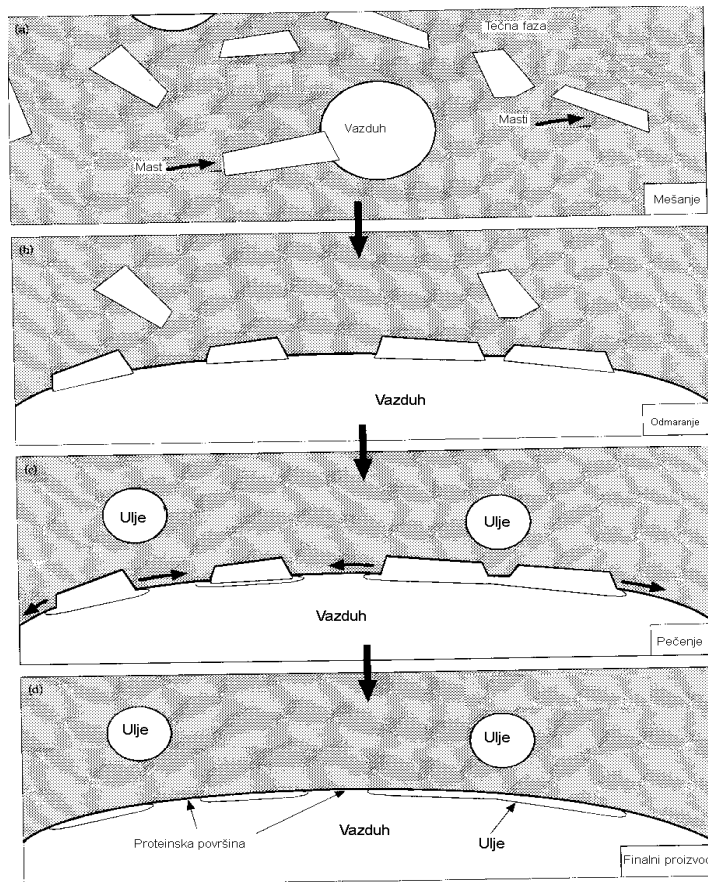
SLOBODNI LIPIDI (60%)		VEZANI LIPID (40%)
<i>Nepolarni lipidi</i> <i>(čine 75% slobodnih lipida)</i>	<i>Polarni lipidi</i> <i>(čine 15% slobodnih lipida)</i>	
Trigliceridi 45%	Glikolipidi 15%	Glikolipidi
Digliceridi	Fosfolipidi	Fosfolipidi
Monogliceridi		
Masne kiseline		
Steroli		

Smatra se da lipidi utiču na površinske osobine skrobnih zrnaca, poboljšavajući dejstvo skroba i glutena i utiču na razvoj testa (Đaković, 1998). Postoje brojne hipoteze u literaturi koje daju prihvatljivo objašnjenje o mehanizmu po kome čvrste masti popravljaju volumen hleba tokom pečenja.

Po jednoj od njih, masti omogućavaju mehurima vazduha da se šire tokom pečenja bez pucanja (Baker i Mize, 1939; Baker i Mize, 1942; Baldwin i sar., 1963; Baldwin i sar., 1965; Chamberlain i sar., 1965; Chamberlain i sar., 1965b). Pretpostavlja se da čvrste masti koji se u toku mešenja zbog porasta temperature u testu tope, a zatim i cure kroz pukotine u testu stvarajući svojevrstan sloj koji popravlja sposobnost zadržavanja gasa.

Dalja ispitivanja su pokazala da posle topljenja masti testo nastavlja ekspanziju, a posle pečenja mala količina masti rekristališe. Po drugoj hipotezi kristali masti i njihova adsorpcija u medjuprostor gas-tečnost dešava se u toku mešenja.

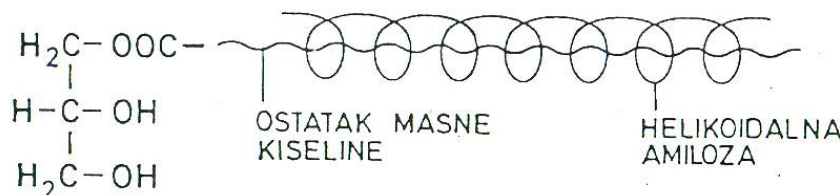
Zatim sledi dalja apsorpcija velikog broja naraslih kristala masti tokom odmaranja testa zajedno sa širenjem mehura vazduha, a u toku pečenja kristali se tope i ugradjuju u unutrašnjost mehura (Brooker, 1996). Ponašanje masti tokom mešenja, odmaranja i pečenja testa prikazano je na slici 6.



Slika 6. Ponašanje masti tokom zamesa, odmaranja i pečenja testa (Brooker, 1996)

- disperzija kristala masti i njihova adsorpcija u meduprostor gas-tečnost tokom mešenja;
- porast broja adsorbovanih kristala masti sa porastom zapremine mehurova vazduha tokom odmaranja testa;
- prilikom pečenja, kristali masti se tope i stapaju sa površinom mehurova;
- u finalnom proizvodu, masti formiraju diskontinualni sloj sa unutrašnje strane mehurova.

Slobodne masne kiseline i monogliceridi imaju sposobnost da grade komplekse sa helikoidalnom amilozom i tako povoljno utiču na očuvanje svežine hleba, kao što je prikazano na slici 7 (Acker, 1974).



Slika 7. Šematski prikaz obrazovanja kompleksa monoglicerida i helikoidalne amiloze (Acker, 1974)

Od zasićenih masnih kiselina u pšeničnom brašnu su prisutne:

- palmitinska, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ i
- stearinska, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$,
- a od nezasićenih:
- oleinska, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$,
- linolna, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ i
- linoleinska kiselina, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$.

1.3.3. Faktori kvaliteta pšeničnog brašna

U najvažnije faktore kvaliteta pšeničnog brašna spadaju: količina i kvalitet glutena, dijestatička moć brašna (sposobnost obrazovanja šećera i klajsterizaciona sposobnost), sadržaj pepela, sadržaj vlage, stepen kiselosti i veličina čestica brašna.

1.3.3.1. Količina i kvalitet glutena

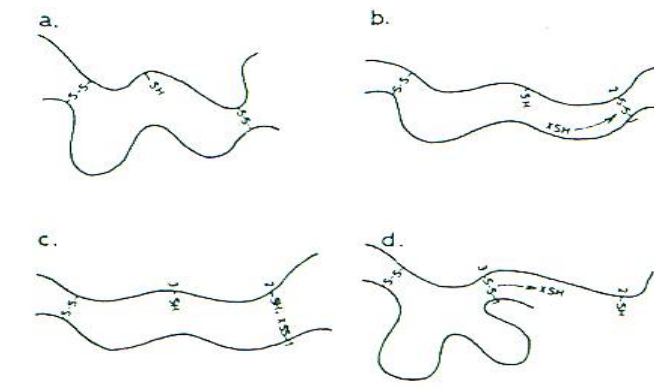
Količina proteina u brašnu je jedan od najmerodavnijih faktora tehnološkog kvaliteta brašna. Testa sa više proteina brže i duže rastu pri vrenju, kao i pri pečenju, što utiče na povećanje specifične zapremine hleba. Sa povećanjem sadržaja glutena u pšeničnom brašnu raste moć vezivanja vode, vreme razvoja testa, konstanca, rastegljivost i energija, dok se stepen omekšanja testa smanjuje. Količina vlažnog glutena varira u granicama od 20-35%. Smatra se da su brašna siromašna glutenom ako ga sadrže u količini manjoj od 23%, brašna sa 23-30% imaju srednji sadržaj, a brašna su bogata glutenom ako ga sadrže u količini većoj od 30%.

Zavisno od iznosa i povratnosti deformacija glutena, razlikuju se brašna sa elastičnim, tj. neelastičnim glutenom. Postoje četiri osnovna tipa glutena: *rastegljiv-elastičan*, *rastegljiv-neelastičan*, *nerastegljiv-elastičan* i *nerastegljiv-neelastičan*. Nerastegljiv gluten se u praksi naziva "kratak", a rastegljiv "dug".

Značajna pojava kod testa je relaksacija (slika 8), pod kojom se podrazumeva da napon u rastegnutom komadu testa postepeno opada do nule kada se određena dužina testa u razvučenom stanju, održava izvesno vreme (Blokma, 1968).

Smatra se da pri relaksaciji testa dolazi do cepanja poprečnih bočnih veza između lanaca proteina i izgradnje novih veza, oslobođenih napona, pri čemu se prvenstveno misli na -S-S- veze. Hemizam relaksacionih procesa može da se prikaže šemom na kao slici 8 (Blokma, 1968).

Bubrenje glutena takođe je od značaja sa stanovišta njegovog kvaliteta. Pod bubrenjem se podrazumeva koloidno vezivanje vode u proteinima.



Slika 8. Relaksacioni procesi u testu (Bloksma, 1968)

- a) neorijentisano stanje polipeptidnih lanaca u pšeničnom testu;
- b) paralelno orijentisano stanje;
- c) polipeptidni lanci nakon reakcija izmene i raskidanja –S-S- veza;
- d) obrazovanje stabilne veze bez napona.

Zbog izrazitog afiniteta molekula vode i polarnih grupa proteina dolazi do raskidanja agregacionih veza između molekula proteina, razmicanja molekula i vezivanja vode unutar agregata polipeptidnih nizova. Celinu makromolekulskog skeleta obezbeđuju one veze na koje voda ne može da deluje (disulfidne veze, nepolarne grupe) čime se stvara kompaktna nabubrela masa glutena.

Istovremeno sa vezivanjem vode i bubrenjem dolazi i do razgradnje samih molekula proteina što povećava sposobnost bubrenja, ali samo do određene granice. Nakon toga unutrašnja gradnja glutena se razara, cepaju peptidne veze, gluten otpušta vodu i smanjuje svoju nabubrelost (Đaković, 1998).

1.3.3.2. Dijastatička moć brašna

Dijastatička moć brašna tj. sposobnost obrazovanja šećera od značaja je u procesu fermentacije testa i na početku pečenja, kada ćelije kvasca intenzivno koriste nastali šećer i ispuštaju ugljen-dioksid. Oslobođeni gas nadima testo, testo raste i postaje porozno i šupljikavo. Za potrebe fermentacije koriste se najpre monosaharidi, kojih u brašnu ima samo oko 1%, a zatim maltoza, koja nastaje razgradnjom amiloze i amilopektina skroba dejstvom α - i β -amilaze. Sposobnost brašna da obrazuje šećere u testu, zavisi od prisustva dijastatičkih enzima, kao i od prirode i stanja skrobnih zrnaca (Đaković, 1998).

1.3.3.3. Klajsterizacija skroba

Klajsterizacija (želiranje) skroba je ustvari, prelazak skroba iz kristalnog u gel oblik, a može se odigravati samo u prisustvu vode i na povišenim temperaturama. U prvoj fazi procesa, na 60-70°C, dolazi do toplotnog razrušavanja makromolekulskih kristalnih agregata.

Zbog rušenja kristalnih agregata molekuli vode počinju jače da prodiru unutar skrobnih zrnaca. Apsorbovana voda izaziva intenzivno bubrenje zrnaca skroba i postepeno rastvara molekule amiloze koji ističu iz skrobnih zrnaca, u okolni medijum.

U drugoj fazi, na 85-90°C povećava se bubrenje skroba i isticanje rastvorene amiloze. Na temperaturama iznad 90°C ostaju "iscedena" prvobitna skrobna zrnca, u vidu deformisanih, smežuranih čaura nerastvorljivih molekula amilopektina. Pri hlađenju vrela rastvor izlivena amiloze prelazi u stanje čvrstog gela (Đaković, 1998).

1.3.3.4. Reološke osobine testa

Reologija, kao grana fizike, je nauka koja proučava proticanje i deformaciju materije kao odgovora na primenjeni napon ili deformaciju. Prema reološkom ponašanju materijali se mogu podeliti na *njutnovske* i *nenjutnovske* (Steffe, 1996; Schramm, 2004). Većina prehrambenih proizvoda ispoljava osobine nenjutnovskih sistema (Abang Zaidel i sar., 2010).

Testo spada u jedno od najsloženijih reoloških sistema. Ono je viskoelastični sistem koji pri proticanju ispoljava pseudoplastično i tiksotropno ponašanje (Weipert, 1990). Kompleksno reološko ponašanje testa posledica je njegove složene strukture. Operacije uključene u formiranje testa i njegovu konverziju u hleb utiču na reološke osobine testa, koje predstavljaju veoma osetljiv indikator promena u strukturi testa (Song i Zheng, 2007).

Zato se reološka ispitivanja koriste se za praćenje ponašanja testa u toku celog proizvodnog procesa, tj. za karakterisanje mehaničkih osobina testa, molekulske strukture i sastava, kao i uticaja različitih dodataka i aditiva (Dobraszczyk i Morgenstern, 2003).

Postoji veliki broj uređaja i testova za određivanje reoloških osobina testa koji se mogu podeliti u dve grupe: *empirijski* (deskriptivni, imitativni, konvencionalni) i *fundamentalni* (osnovni) (Weipert, 1990). U empirijske uređaje za ispitivanje reoloških osobina testa spadaju farinograf, amilograf, ekstenziograf, alveograf, dok su najčešće primenjivani fundamentalni reološki testovi za ispitivanje ponašanja testa dinamički oscilatorni testovi (eng. "*dynamic oscillation test*"), krive puzanja i oporavka (eng. "*creep and recovery*") i testovi relaksacije napona (eng. "*stress relaxation*") (Abang Zaidel i sar., 2010).

Empirijski reološki metodi uvršteni su kao standardni metodi od strane Međunarodnog udruženja za nauku i tehnologiju žita (ICC), Američkog udruženja hemičara žita (AACCC) i Međunarodne organizacije za standardizaciju (ISO), Pravilniku o metodama fizičkih i hemijskih analiza za kontrolu kvaliteta žita, mlinske i pekarske proizvode, testenina i brzo smrznutih testa i mnogim drugim nacionalnim standardima i propisima.

Razvijeni su empirijski uređaji za praćenje reoloških svojstava testa u toku mešanja, oblikovanja, fermentacije i pečenja. Iako nezamenljivi u laboratorijama za kontrolu kvaliteta i industriji, uređaji za empirijska reološka merenja imaju dosta nedostataka, kao što su potreba za velikim količinama uzoraka i interpretacija rezultata u relativnim jedinicama koje nisu u SI sistemu, što dalje onemogućava definisanje fundamentalnih reoloških parametara kao što su napon, deformacija, moduo, viskozitet i dr. (Weipert, 1990; Janssen i sar., 1996; Dobraszczyk i Morgenstern, 2003).

1.3.3.5. Ispitivanje reoloških osobina testa

Ispitivanje reoloških osobina testa farinografom. Određivanje kvaliteta brašna farinografom zasniva se na registrovanju promena fizičkih osobina testa u toku određenog vremena mešanja. Aparat je konstruisan tako da preko dinamometra meri snagu koja je potrebna za kretanje dve lopatice mesilice kroz testo, tj. registruje se otpor koji testo daje gnječenju. Pomoću farinografa se mogu dobiti podaci o vremenu razvoja testa, vremenu stabilnosti, omekšavanju testa pri mešenju, moći upijanja vode, promenama konzistencije u toku odmaranja i fermentacija testa itd.

U literaturi se mogu naći podaci o upotrebi Brabender farinografa za određivanje moći upijanja vode i maksimalnog vremena razvoja testa pri uporednom ispitivanju testa od pirinčanog brašna dobijenog mlevenjem pirinča dugog i kratkog zrna, čistog i sa dodatkom hidroksipropil-metil-celuloze (HPMC), sa osobinama pšeničnog brašna (Sivaramakrishnan i sar., 2004).

Ispitivanje reoloških osobina testa ekstenzografom. Ekstenzografom se ispituju fizičke osobine testa, odnosno mere se rastegljivost i otpor pri rastezanju.

Primenom sile konstantne veličine pri istoj brzini i smeru dejstva testo se deformiše preko granice rastegljivosti i kida se. Otpor koji testo pruža dejstvu sile, registruje se u vidu krive-ekstenzograma. U novijim naučnim radovima mogu se naći podaci o uticaju oblikovanja (premesa) testa na otpor pri rastezanju (Moss, 1980; Morgenstern i sar., 1999) kao i vezi između porasta testa pri pečenju i ekstenzografskih veličina (Hay, 1993).

Ispitivanje reoloških osobina testa amilografom. Amilograf je dinamički rotacioni viskozimetar pomoću koga se dobijaju podaci o toku klajsterizacije skroba, kontinualnim merenjem viskoziteta suspenzije brašna pri zagrevanju određenom brzinom. Amilograf spada u red uređaja koji se u industriji žitarica koriste veoma dugo u okviru deskriptivnih empirijskih merenja reoloških osobina (Dobraszczyk i Morgenstern, 2003).

1.4. Slobodni radikali i antioksidansi

Kiseonik ima dvostuku funkciju u organizmu: neophodan je za život, ali je ujedno i izvor potencijalno štetnih čestica – “slobodnih radikala“. Slobodni radikali predstavljaju atome, jone, molekule koji imaju jedan ili više nesparenih elektrona u svojoj strukturi. Nespareni elektroni su uzrok njihove visoke i neselektivne aktivnosti i nestabilnosti. Slobodni radikali mogu biti neutralni, ali i pozitivno (*radikal-katjon*) i negativno (*radikal-anjon*) naelektrisani. Nespareni elektron se može nalaziti na atomima različitih elemenata, pa se slobodni radikali dele na slobodne radikale (reaktivne slobodnoradikalske vrste) kiseonika, hlora, azota itd. Reaktivne vrste se dele na reaktivne slobodnoradikalske i neradikalske (oksidaciona sredstva koja lako prelaze u slobodne radikale) vrste. Najvažnije reaktivne vrste kiseonika (ROS – reactive oxygen species) date su u tabeli 4 (Đukić i sar., 2008).

Tabela 4. Najvažnije reaktivne slobodno radikalske i neradikalske vrste kiseonika

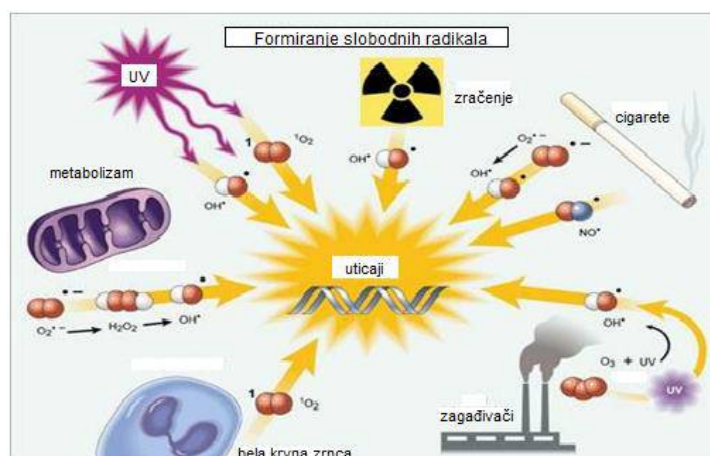
Slobodno radikalske vrste	Neradikalske vrste
Superoksid anjon radikal, $O_2^{\cdot-}$	Vodonik peroksid, H_2O_2
Hidroperoksil radikal, HO_2^{\cdot}	Hipobromna kiselina, $HOBr$
Hidroksil radikal, $^{\cdot}OH$	Hipohlorna kiselina, $HOCl$
Peroksil radikal, RO_2^{\cdot}	Ozon, O_3
Alkoksil radikal, RO^{\cdot}	Singletni kiseonik, 1O_2
Karbonatni radikal, $CO_3^{\cdot-}$	Organski peroksid, $ROOH$
Ugljenoksidni radikal, $CO_2^{\cdot-}$	Peroksinitrit, $ONOO^-$

Slobodni radikali se u organizmu stvaraju:

- **u fiziološkim uslovima** tokom procesa oksidativne fosforilacije u mitohondrijama, tj. ćelijskog disanja, oksidoredukcije u prisustvu metala sa promenljivom valencom, autooksidacije brojnih malih molekula (npr. autooksidacija dopamina u mozgu),
- **u inflamaciji** tokom procesa fagocitoze,
- **u bolestima**: autoimune bolesti, neurodegenerativne, maligne, kardiovaskularne, bolesti nastale usled prisustva toksičnih supstanci, kao i u različitim nefiziološkim uslovima, kao što su ishemija, hipoksija, hiperoksija, reperfuzija i dr.,

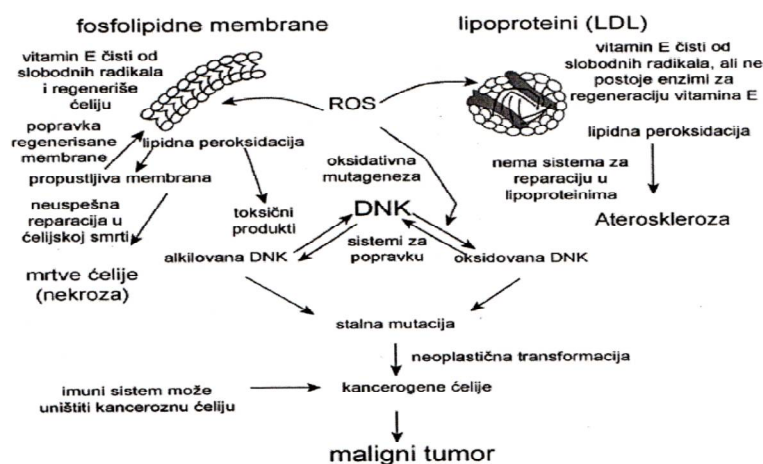
- **biotransformacijom ksenobiotika** tokom metabolisanja egzogeno unetih jedinjenja (hrana, lekovi, itd.) ili dejstvom spoljašnjih faktora sredine (UV zračenja, jonizujuće zračenje, aerozagađenje),
- **pri pojačanoj fizičkoj aktivnosti,**
- **pri trovanju** (Đukić, 2008).

Na slici 9 prikazana je šema nastanka slobodnih radikala.



Slika 9. Šema nastanka slobodnih radikala (Mitić, 2011)

Uopšteno, pri povišenom nivou slobodnih radikala dolazi do oksidativnog stresa, koji može biti posledica povećanog izlaganja kiseoniku, prisustva toksina koji proizvode ROS, inflamatornih procesa ili inhibirane funkcije antioksidativnog sistema, koja se javlja pri npr. smanjenju aktivnosti enzima *glutation-peroksidaze* i *superoksid-dismutaze*. Oksidativni stres može da se manifestuje kroz različite odgovore ćelija, kao što su proliferacija i adaptacija. Proliferacija, kojom mnoge ćelije odgovaraju na umereni oksidativni stress, može biti dobra (kod zarastanja rana), ali loša ako vodi fibrozi tkiva.



Slika 10. Posledice oksidativnog stresa na ćelijske membrane, lipoproteine i DNK (Lawrence, 2010)

Adaptacija, koja podrazumeva pokretanje antioksidativnog odbrambenog sistema, može delimično, povećano ili potpuno da zaštiti ćeliju od ROS, a uključuje i povećanje koncentracija intracelularnog Ca^{2+} i prelaznih metala koji mogu da katalizuju slobodnoradikalske reakcije. Međutim, oksidativni stres može da izazove ozbiljna oštećenja ćelije, odnosno lipida, DNK, proteina, ugljenih hidrata i dr., što u nekim slučajevima može biti inicijalna reakcija za adaptacione procese, kao što je prikazano na slici 10 (Lawrence, 2010).

Takođe, oksidativno oštećenje može da izazove i starenje ćelije (ćelija preživljava, ali gubi sposobnost deobe), ali i njenu smrt. Naime, ako u ćeliji ne dođe do zamene oštećenih biomolekula, mogu da se jave trajna oksidativna oštećenja ili može doći do pokretanja procesa poput apoptoze ili nekroze, koji neizbežno dovode do umiranja ćelije (Halliwell i Gutteridge, 2007). Oksidativni stres je najčešće uzrok bolesti imunog sistema, ishemije, reakcija koje izazivaju lekovi ili toksini, starenje i niz uticaja koji izazivaju poremećaj funkcije jetre, srca i kardiovaskularnog sistema, crvenih krvnih zrnaca, respiratornog sistema, bubrega, nervnog sistema i dr. Uopšteno, kliničke studije su pokazale da se povišeni nivo ROS, odnosno oksidativna oštećenja koja oni izazivaju, mogu dovesti u direktnu vezu sa nizom oboljenja, poput ateroskleroze, vazospazma, bolesti bržeg starenja, kancera, reume, moždanog udara, astme, artritisa, infarkta srca, dermatitisa, kataraktogeneze, oštećenja retine, hepatitisa, oštećenje jetre (Halliwell i Gutteridge, 2007). Ishrana bogata biljkama doprinosi smanjenju rizika od razvijanja ovih bolesti, zahvaljujući mnoštvu antioksidanasa prisutnih u njima (Halliwell, 2009).

Da bi se proizvod zaštitio od niza nepoželjnih oksidativnih promena usled kojih može doći do promena organoleptičkih i hemijskih svojstava hrane, dodaju se antioksidansi. Široko definisani, antioksidansi su jedinjenja koja inhibiraju ili odlažu oksidaciju substrata, iako su prisutni u znatno manjoj količini od substrata koji podleže oksidaciji.

Prema *Pravilniku o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (Sl. List SCG, br 56/03)*, antioksidansi su supstance koje produžavaju trajnost prehrambenih proizvoda štiteći ih od kvarenja prouzrokovanog oksidacijom, kao što su užeglost masti i promena boje, uključujući i sinergiste antioksidanasa.

Dodati u malim količinama imaju sposobnost da spreče oksidaciju nekih sastojaka hrane, a da ne utiču na promenu svojstava hrane. U širem smislu ova jedinjenja spadaju u „*aditive hrane*“, a svaki antioksidans koji se koristi mora biti odobren propisima koji važe za taj proizvod.

Oksidativne promene mogu da dovedu do:

- promene u ukusu i mirisu (na užeglost)
- potamnjanje (promena boje)
- gubitka labilnih sastojaka (vitamina i sl.).

Užeglost nastaje zbog oksidativnog razlaganja masnih kiselina. Ovu pojavu aktivira svetlost (naročito UV), prisustvo kiseonika i prisustvo metala (Pb, Cu, Fe) koji deluju katalitički.

Oksidacioni procesi se odvijaju u nekoliko faza: najpre dolazi do dehidracije, zatim vezivanja kiseonika i obrazovanja peroksida, a u završnoj fazi dolazi do izdvajanja peroksida, aldehida, ketona i kiselina. Ova jedinjenja kao sekundarno nastala jedinjenja nosioci su neprijatnog ukusa i užeglosti. Promene boje i potamnjanje su uglavnom oksidacione promene fenolnih jedinjenja u prisustvu odgovarajućih fermenata, pri čemu nastaju jedinjenja tipa hinona. Nagomilavanjem i polimerizacijom ovih jedinjenja pojavljuje se najpre žuta do svetlo-mrke boje koja kasnije prelazi u mrku boju.

Gubitak lako oksidišućih sastojaka prvenstveno se odnosi na vitamin C. Kako veliki broj voća i povrća sadrži vitamin C ili se on dodaje radi vitaminizacije proizvoda, ovaj gubitak može da bude značajan. Da bi se sprečile ove pojave koriste se antioksidansi. Antioksidansi se dele na prave antioksidanse i sinergiste. Pravi antioksidansi su najčešće jedinjenja koja po hemijskom sastavu spadaju u orto- i para-difenole ili imaju sličnu elektronsku konfiguraciju (Niketić-Pavlović, 1998).

U novije vreme zbog većeg broja malignih oboljenja, kardio-vaskularnih bolesti i infekcija, sve veća pažnja se poklanja biljkama sa antioksidativnom aktivnošću. Smatra se da su ovi poremećaji u najvećem broju slučajeva izazvani štetnim delovanjem slobodnih radikala. Postoji veliki broj prirodnih antioksidanasa, a najvažniji među njima su polifenolna jedinjenja biljaka, vitamini (α -tokoferol-vitamin E, askorbinska kiselina-vitamin C, retinol-vitamin A, tiamin i riboflavin-vitamini B₁ i B₂, itd.), azotna jedinjenja (alkaloidi, amini i aminokiseline), hlorofil, glukozinolati i druge supstance kao npr. neki diketoni i glikozidi. Najpoznatiji sintetički antioksidansi su: askorbil-palmitat (AP), terc-butil-4-hidroksianizol (BHA), terc-butil-4-hidroksitoluen (BHT), propil-galat (PG), butil-galat (BG), oktil-galat (OG), dodecil-galat (DG), terc-butil-hidrohinon (TBHG) i limunska kiselina (Čanadanović-Brunet, 1998).

1.4.1. Antioksidativna aktivnost

Određivanjem antioksidativnog statusa u biološkim sistemima može se pratiti uticaj ishrane ili dodataka ishrani na oksidativni stres i doprinos u prevenciji bolesti čiji su uzročnici oksidativna oštećenja (Sánchez-Moreno, 2002). Uopšteno, testovi za određivanje antioksidativnog potencijala u biološkim sistemima i namirnicama mogu biti zasnovani na:

- 1) transferu elektrona,
- 2) sposobnosti hvatanja slobodnih radikala i
- 3) inhibiciji lipidne peroksidacije.

Zbog velikog broja reaktivnih hemijskih vrsta koje narušavaju homeostazu ćelije i raznolikosti mehanizma njihovog delovanja, nemoguće je definisati jednu metodu za određivanje antioksidativne aktivnosti.

U procesu procene antioksidativnog potencijala ispitivane supstance, potrebno je izabrati kombinaciju više testova koji se zasnivaju na različitim principima i pokazuju antioksidativni potencijal ispitivane supstance putem različitih mehanizama delovanja.

1.4.2. Metode određivanja antioksidativne aktivnosti

Za određivanje antioksidativne aktivnosti primenjuje se veliki broj metoda od kojih su najzastupljenije određivanje kapaciteta neutralisanja DPPH radikala i određivanje redukcionne snage.

1.4.2.1. Princip određivanja kapaciteta neutralisanja DPPH radikala

Princip ove metode se zasniva na praćenju reakcije između stabilnog radikala 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila (DPPH•), i uzorka u kojem se meri antioksidativna aktivnost. Redukcija DPPH• sa antioksidansom (AH) prati se smanjenjem apsorbancije pri talasnoj dužini od 517nm.



Stabilni radikal DPPH•, zbog nesporenog elektrona pokazuje jaku apsorpciju u vidljivom delu elektromagnetskog spektra. Sparivanjem elektronskog para stabilnog radikala DPPH• u prisutnosti elektron donora (antioksidans, koji hvata slobodne radikale), ljubičasta se boja menja u žutu.

1.4.2.2. Princip određivanja redukcionne snage

Ova metoda se zasniva na principu da supstance koje imaju redukcionni potencijal, reaguju najpre sa kalijum fericijanidom, a zatim sa gvožđe hloridom gradeći obojeni kompleks, čija se apsorbanca meri na 700 nm.

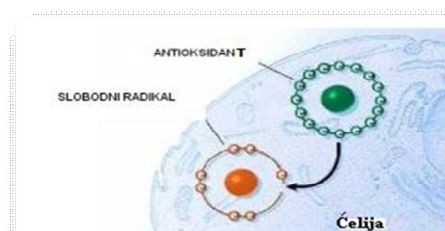
Antioksidans

Kalcijum ferocijanid + Gvožđe (III) hlorid \longrightarrow Kalcijum ferocijanid + Gvožđe (II) hlorid

1.4.3. Mehanizam dejstva antioksidansa

”Hvatanje” tj. neutralisanje reaktivnih kiseoničnih vrsta je jedan od mogućih mehanizama dejstva antioksidanasa. Drugi mehanizmi uključuju sprečavanje stvaranja reaktivnih kiseoničnih vrsta vezivanjem metala ili putem enzimske inhibicije.

Antioksidansi deluju tako što sperčavaju lančane reakcije substrata sa slobodnim radikalima. Na slici 11 prikazan je način delovanja antioksidanasa (Mitić, 2011).



Slika 11. Način delovanja antioksidanasa (Mitić, 2011)

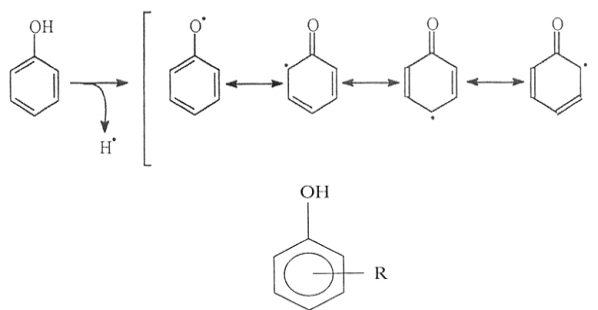
Jedinjenja sa antioksidativnom sposobnošću mogu biti obnovljena unutar ćelije ili su nepovratno oštećena. Proizvodi oksidacije su manje štetni ili dalje mogu biti konvertovani do štetnih produkata. Na ćelijskom nivou ili nivou organizma, antioksidativna zaštita je obezbeđena brojnim enzimima i endogenim antioksidanasima malih molekulskih masa kao što je askorbinska kiselina, glutation, tokoferoli i drugi (Matkowski, 2008). Stvaranje slobodnih radikala u direktnoj je vezi sa reakcijama oksidacije u hrani i biološkim sistemima.

Neki ne-radikalni derivati molekula kiseonika, vodonik peroksid (H_2O_2), hipohlorasta kiselina ($HOCl$), mogu se stvoriti u hrani i biološkim sistemima. Sve ove reaktivne čestice sa kiseonikom, učestvuju u reakcijama slobodnih radikala zbog čega se javlja potreba da se odredi sposobnost supstrata da neutrališe („hvata“) čestice radikala, odnosno njegovu antioksidativnu aktivnost.

Smatra se da je antioksidativna aktivnost polifenola prvenstveno rezultat njihove sposobnosti da budu donori vodonika, nakon čega nastaju manje reaktivni fenoksil radikali:



Relativno velika stabilnost fenoksil radikala se objašnjava delokalizacijom elektrona, uz postojanje više rezonantnih formi, kao što je prikazano na slici 12.



Slika 12. Rezonantna stabilizacija fenoksil radikala (Mitić, 2011)

Osim pomenutog mehanizma, biljni polifenoli mogu i heliranjem jona metala sprečiti njihovo katalitičko dejstvo u produkciju reaktivnih kiseonočnih vrsta (Duh i sar., 1999).

1.4.2. Polifenoli

Polifenoli u svojoj strukturi sadrže aromatični prsten sa jednom ili više hidroksilnih grupa (Croft, 1999). Polifenoli prisutni u biljkama pokazuju antioksidativna svojstva. Do nedavno, polifenoli su se proučavali kao sastojci hrane koji su imali sposobnost da vezuju makromolekule kao što su proteini i ugljeni hidrati. Smatralo se da imaju štetno dejstvo jer su smanjivali svaraljivost hrane. Interesovanje za polifenole je, međutim, u poslednje vreme povećano zbog njihove antioksidativne sposobnosti i sposobnosti da neutrališu slobodne radikale. Polifenoli čine jednu od najvećih grupa supstanci prisutnih u biljnom svetu, sa više od 8000 poznatih fenolnih struktura (Harborne, 1993). Jedinjenja koja su široko rasprostranjenja u biljkama su flavonoli, flavoni, flavan-3-oli, izoflavoni, flavanoni, flavanoli, antocijanidini i protoantocijanidini (Bravo, 1998).

Antioksidativna aktivnost sa aspekta reakcione stehiometrije, kao što je broj radikala koje jedan fenolni molekul može neutralisati i aspekta reakcione kinetike, odnosno brzine kojom se radikali uništavaju, može biti veoma različita. To zavisi od strukturnih osobina molekula, broja i položaja hidroksilne grupe u prstenu, kao i prostora u kome se nespareni elektron oksidovanog fenolnog intermedijernog produkta može delokalizovati unutar molekula. Mnogi polifenoli, posebno flavonoidi su veoma efikasni “hvatači“ hidroksilnih i peroksidnih radikala (Manach i sar., 1996).

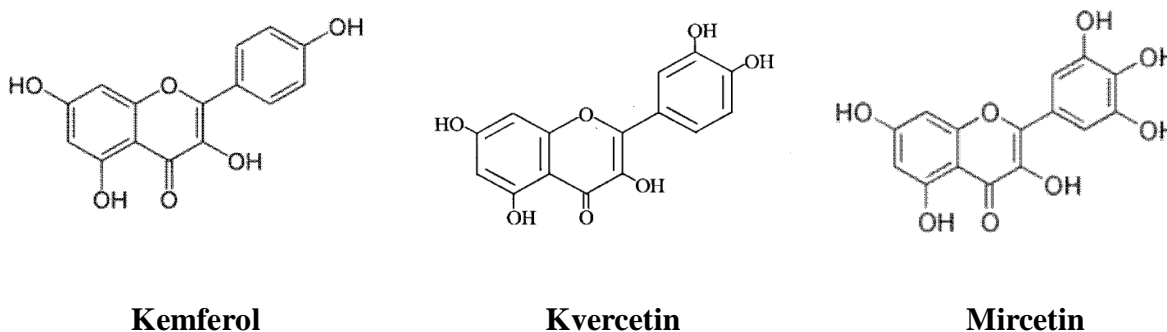
Flavonoli, flavoni i izoflavoni su tri podklase flavonoida. Flavonoli i flavoni imaju sličnu strukturu C-prstena sa dvostrukom vezom između drugog i trećeg C-atoma. Flavoni suprotno flavonolima nemaju hidroksilnu grupu u položaju 3. Glavni flavonoli su:

- kemferol (3,5,7,4'-tetrahidroksiflavon),
- kvercetin (3,5,7,3', 4'-pentahidroksiflavon) i

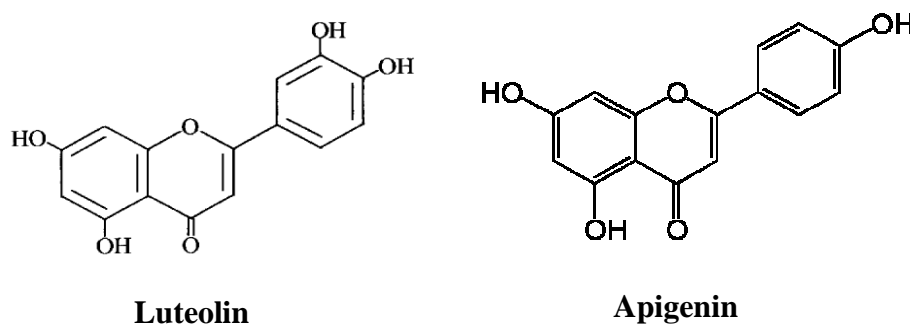
- mircetin (3,5,7,3', 4', 5' -heksahidroksiflavon),
a od flavona najviše su zastupljeni:
- luteolin (3,5,7,3', 4' -tetrahidroksiflavon) i
- apigenin (5,7,4' - trihidroksiflavon).

Strukturne formule flavonola kemferola, kvercetina i mircetina prikazane su na slici 13, a strukturne formule flavona luteolina i apigenina na slici 14.

Polifenoli imaju esencijalnu ulogu u zaštiti biljaka od UV zračenja (Stalikas, 2007), inhibiciji patogenih mikroorganizama (Abdel-Aal i sar., 2001) i obezbeđivanju strukturnog integriteta ćelijskog zida (Klepacka i Fornal, 2006).



Slika 13. Strukturne formule kemferola, kvercetina i mircetina



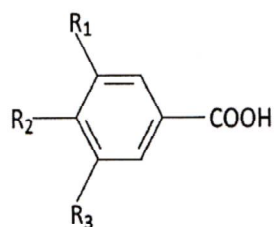
Slika 14. Strukturne formule luteolina i apigenina

Epidemiološka istraživanja pokazuju povezanost između povećanog unosa fenolnih antioksidanasa i smanjenja rizika od kardiovaskularnih bolesti i nekih oblika raka. Proizvodi od voća i povrća imaju važnu ulogu u dobro balansiranoj i zdravoj ishrani ljudi (Hetrog i sar., 1993). Pored pozitivnog antioksidativnog dejstva, polifenoli povoljno deluju na zdravlje čoveka i kroz sposobnost stvaranja kompleksa tipa helata sa metalima (Liyana-Pathirana i Shahidi, 2006), detoksikaciju enzima (Yoshioka i sar., 1995), inhibiciju faktora koji utiču na rast tumora (Yoshioka i sar., 1995; Natarajan i sar., 1996) i dr.

1.4.2.1. Fenolne kiseline

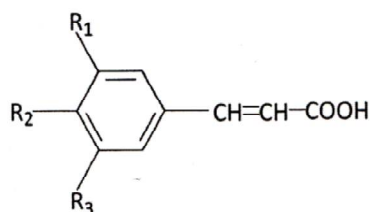
Polifenolne kiseline kao polifenolna jedinjenja, sastoje se od fenolnog jezgra i bočnog niza koji sadrži jedan (derivati benzojeve kiseline) ili tri (derivati cimetine kiseline) ugljenikova atoma. Fenolne kiseline obuhvataju hidroksi i druge funkcionalne derivate benzojeve i cimetine kiseline (slika 15) (Radojković, 2012).

Fenolne kiseline su obično prisutne u hrani biljnog porekla (voće, povrće, žitarice), i nalaze se gotovo u svim delovima biljaka. Koncentracija fenolnih kiselina u pojedinim delovima biljaka zavisi od stadijuma razvoja biljke, kao i od uslova rasta. Uloga fenolnih kiselina u biljkama je različita, i obuhvata asimilaciju hranljivih materija, sintezu proteina, aktivnost enzima i fotosintezu.



Derivati benzojeve kiseline	Supstituenti		
	R ₁	R ₂	R ₃
Benzojeva kislina	H	H	H
<i>p</i> -hidroksibenzojeva kislina	H	OH	H
Protokatehinska kislina	H	OH	OH
Vanilinska kislina	CH ₃	OH	H
Siringinska kislina	CH ₃	OH	CH ₃
Galna kislina	OH	OH	OH

a)



Derivati cimetine kiseline	Supstituenti		
	R ₁	R ₂	R ₃
Cimetna kislina	H	H	H
<i>p</i> -kumarinska kislina	H	OH	H
Kafena kislina	OH	OH	H
Ferulna kislina	CH ₃	OH	H
Sinapinska kislina	CH ₃	OH	CH ₃

b)

Slika 15. Struktura fenolnih kiselina: a) derivati benzojeve i b) derivati cimetine kiseline (Radojković, 2012).

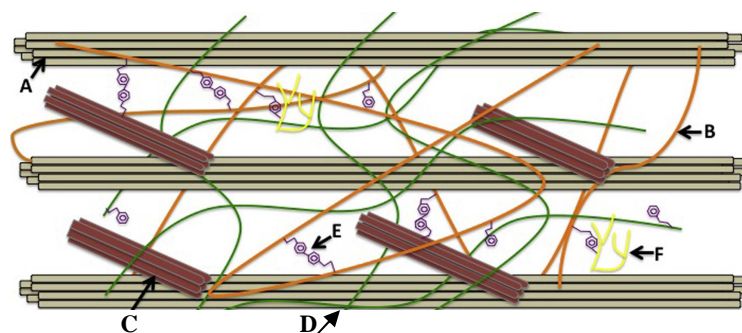
Kroz brojna istraživanja antioksidativne aktivnosti fenolnih kiselina dokazana je povezanost hemijske strukture jedinjenja sa aktivnošću. Antioksidativna aktivnost raste sa povećanjem broja hidroksilnih grupa, pa tako derivati dihidroksibenzojeve kiseline imaju veću antioksidativnu aktivnost u odnosu na derivate hidroksibenzojeve kiseline, a galna kislina, kao 3,4,5-trihidroksi benzojeva kislina, ima najjače antioksidativno dejstvo. Monohidroksi-benzojeve kiseline sa hidroksilnom grupom u *orto* i *para* položaju ne pokazuju antioksidativnu aktivnost, odnosno nemaju osobinu H-donora.

Nasuprot *orto* i *para* monohidroksibenzojevoj kiselini, *m*-hidroksibenzojeva kislina poseduje antioksidativnu aktivnost. Inkorporacija metilenske grupe između aromatičnog prstena i karboksilne grupe smanjuje uticaj karboksilne grupe, čime se gotovo udvostručuje antioksidativna aktivnost (Rice Evans i sar., 1995).

1.4.2.2. Vezani polifenoli i njihov značaj

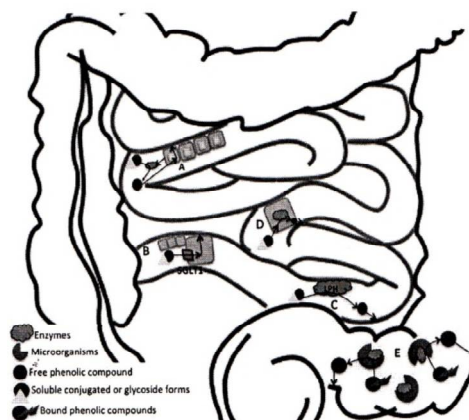
U ranijim ispitivanjima, dobijeni sadržaj polifenola bio je manji od stvarnog, jer se uglavnom određivao samo sadržaj slobodnih polifenola, a ne i sadržaj vezanih, koji se uglavnom nalaze u strukturi ćelijskog zida. Vezani polifenoli čine do 25% ukupnih polifenola povrća (Adom i Liu., 2002; Sun i sar., 2002), dok je kod žitarica taj sadržaj veći, oko 88% (Zhou i sar. 2004).

Vezani polifenoli su obično povezani kovalentnom vezom za strukturne komponente ćelijskog zida kakvi su celuloza, hemiceluloza, lignin, pektini i proteini, kao što je prikazano na slici 16 (Wong, 2006).



Slika 16. Izgled strukture ćelijskog zida biljne ćelije i veze polifenola sa strukturnim jedinjenjima ćelijskog zida: (A) celuloza (B) hemiceluloza (C) strukturni proteini (D) pektin (E) fenolne kiseline (F) lignin (Wong, 2006)

Fenolne kiseline su estarskom vezom vezane za lignin preko hidroksilne grupe aromatičnog prstena ili estarskom vezom sa strukturnim ugljenim hidratima i proteinima preko njihovih karboksilnih grupa (Liyana-Pathirana i Shahidi, 2006; Liu, 2007; Bhanja i sar., 2009).



Slika 17. Put adsorpcije vezanih polifenola u digestivnom traktu (Acosta-Estrada i sar., 2014)

U digestivnom traktu čoveka postoje različiti putevi adsorpcije vezanih polifenolnih jedinjenja, pri čemu su u tom putu uključeni mikroorganizmi, enzimi, a vrlo često i šećeri (slika 17) (Acosta-Estrada i sar., 2014). Vezana polifenolna jedinjenja se ne mogu razgraditi dejstvom enzima čovečjeg digestivnog trakta.

Kada stignu do debelog creva čoveka dejstvom mikroflore debelog creva u toku procesa fermentacije i dejstvom intestinalnih enzima vezani polifenoli se oslobadaju i absorbiraju čime obezbeđuju dodatne koristi za zdravlje čoveka (Acosta-Estrada i sar., 2014).

1.4.2.3. Oslobađanje i ekstrakcija vezanih polifenola

Postoji nekoliko načina obrade hrane u toku kojih dolazi do oslobađanja vezanih polifenola, kao što su fermentacija i termomehanički proces gde spadaju ekstruzioni procesi i alkalna hidroliza. Fermentacijom se povećava sadržaj slobodnih polifenola i njihova antioksidativna aktivnost (Bhanja i sar., 2009). Mikroorganizmi tada sintetišu enzime koji su sposobni da kidaju estarske veze i oslobadaju vezane polifenole (Sanchez-Gonzalez i sar., 2011). Za procese klijanja i stvaranja slada takođe se zna da poboljšavaju nutritivnu vrednost žitarica, ali i da poboljšavaju dostupnost vezanih polifenola (Subbar Rao i Muralikrishna, 2002). Obradom žitarica ekstruzijom takođe se oslobađaju vezani polifenoli usled kidanja veze između konjugovanih jedinica (Rochin-Medina i sar., 2012). Poznato je i da tradicionalni procesi obrade hrane, kao što su tretmani alkalijama (na primer upotreba NaOH ili KOH za uklanjanje ljuske), oslobadaju vezane polifenole i tako menjaju odnos između sadržaja slobodnih i vezanih polifenola.

Alkalna i kisela hidroliza su najčešći postupci za oslobađanje polifenola (Stalikas, 2007), a razlike medju postupcima se sastoje u primeni različitih koncentracija kiselina odnosno baza, vremena i temperature. Kisela hidroliza kida glikozidne veze dok estarske veze generalno ostaju netaknute (Fazary i Ju, 2007), a na višim temperaturama može dovesti do gubitka nekih polifenola (Krygier i sar., 1982; Verman i sar., 2009). Zbog toga je za oslobađanje vezanih polifenola bolja alkalna hidroliza (Kim i sar., 2006) i ona se obično koristi za polifenole žitarica (Kim i sar., 2006; Fazary i Ju, 2007; Verman i sar., 2009). Izvodi se na sobnoj temperaturi (Mussatto i sar., 2007) rastvorom NaOH (1-4 M) u trajanju od 15 min. do stajanja preko noći (Stalikas, 2007). Mnogo specifičniji način oslobađanja vezanih polifenola je enzimaska hidroliza primenom pektinaza, celulaza, amilaza, hemicelulaza i glukanaza (Landbo i Meyer, 2001; Zheng i sar., 2009). Ovi enzimi dezintegrišu ćelijski zid i na taj način ubrzavaju proces ekstrakcije polifenola (Stalikas, 2007; Zheng i sar., 2009).

Od ostalih postupaka oslobađanja vezanih polifenola, treba pomenuti postupak primene mikrotalasa i ultrazvuka. Primenom mikrotalasa povećava se prinos polifenolnih jedinjenja, a smanjuje cena, vreme ekstrakcije i potrošnja rastvarača (Beejmohun i sar., 2007; Gallo i sar., 2010). Metod ultrazvučne hidrolize je u odnosu na tradicionalan način hidrolize znatno brži, s obzirom da poboljšava kontakt između čvrste i tečne faze i tako doprinosi razaranju čestica (Herrera i Luque de Castro, 2004). Tako se polifenoli jagode, kao što su naringin, rutin, naringenin, elaginska kiselina, kvercetin i kaempferol, tri puta efikasnije ekstrahuju ultrazvučnom ekstrakcijom nego meceracijom uz mešanje (Herrera i Luque de Castro, 2004). Oslobođeni polifenoli se obično ekstrahuju rastvaračima kao što su metanol, etanol, aceton, dietil-etar i etil-acetat (Del Pozo-Insfran i sar., 2006, Gutierrez-Urbe i sar., 2010). Ekstremno polarne fenolne kiseline, kao što su benzoeva i cimetna, ne mogu se ekstrahovati čistim organskim rastvaračima već je potrebna primena mešavine rastvarača kao na primer alkohola i vode ili acetona i vode (Stalikas, 2007) ili primena zakišljenih i ključalih rastvora (Rochin-Medina i sar., 2012; Gujral i sar., 2012), a dvofazni ekstrakcioni sistemi obično se sastoje od metanola i heksana (Naczki i Shahidi, 1989).

1.4.2.4. Polifenoli i polifenolne kiseline vrganja

Polifenoli kao biološki aktivna jedinjenja koja se nalaze u pečurkama privukli su veliku pažnju zbog svojih antioksidativnih svojstava (Puttaraju i sar., 2006).

Ispitivanja pojedinih jestivih pečuraka, uključujući i *Boletus edulis*, su pokazala da su ekstrakti ovih pečuraka bogati polifenolnim jedinjenjima i da imaju jaka antioksidativna svojstva (Mau i sar., 2002; Cheung i sar., 2003; Elmastas i sar., 2007).

U literaturi nema podataka o sadržaju slobodnih i vezanih polifenola, ali ima podataka o sadržaju ukupnih polifenola. Ispitivanja antioksidativnih svojstava nekih jestivih pečuraka pokazala su da je sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja u pečurki *Boletus edulis* poreklom iz Španije, bio oko 5,4 mg/g suve mase (Palacios i sar. 2011). Najveći deo polifenolnih jedinjenja prisutnih u pečurkama čije se prisustvo direktno povezuje sa antioksidativnim delovanjem pečuraka, čine fenolne kiseline, među kojima je najzastupljenija homogenistinska sa sadržajem od 2291 µg/g suve mase pečurke, zatim galna, 212 µg/g, protokatehinska, 168 µg/g, hlorogena i genistinska u količini oko 63 µg/g, dok su kafeinska i *p*-hidroksibenzoeva prisutne u količini manjoj od 25 µg/g, a *p*-kumarinska u količini ispod 1µg/g suve mase pečurke. Prisustvo ferulinske kiseline koja je dominantna kiselina kod pšenice, u vrganju nije detektovano. Od ostalih polifenolnih jedinjenja detektovan je još i mircetin u količini oko 18 µg/g (Palacios i sar. 2011).

1.4.2.5. Polifenoli i polifenolne kiseline pšenice

U literaturi postoje značajne razlike u sadržaju polifenola u pšenici u zavisnosti od stepena izmeljavanja, primenjenih agrotehničkih mera, klimatskih uslova i načina gajenja, pri čemu je stepen izmeljavanja faktor koji ima najveći uticaj (Hernández i sar., 2011).

Ferulinska kiselina je dominantna polifenolna kiselina u pšenici, a njen sadržaj je skoro 20 puta manji u pšeničnom brašnu nego u mekinjama. Organski gajena pšenica obično sadrži više sekundarnih metabolita, a time i polifenolna jedinjenja dok klimatski faktori imaju neznatan uticaj na ovaj sadržaj (Andreasen i sar., 2000; Zuchowski i sar., 2009). Ustanovljeno je međutim da je sadržaj polifenola na nižim temperaturama bio viši, s obzirom da oni doprinose odbrani biljke od stresnih uslova izazvanih hladnoćom (Olenichenko i sar., 2006).

Istraživanja različitih sorti pšenice novijeg datuma, pokazuju da je sadržaj vezanih polifenola mnogo veći od sadržaja slobodnih polifenola. Sadržaj vezanih polifenola bio je 661 μg suve materije pšenice, što čini 97,5% od ukupnih polifenola, dok je sadržaj slobodnih polifenola bio samo 17 μg suve materije pšenice što čini 2,5% od ukupnih polifenola (Zhang i sar., 2012).

Fenolne kiseline su uglavnom prisutne u spoljašnjem omotaču pšenice (mekinjama) (Beta i sar., 2005; Gallardo i sar., 2006; Moore i sar., 2006) i strukturno mogu se podeliti na derivate benzoeve i derivate cimetne kiseline (Kim i sar., 2006). U ispitivanim sortama pšenice (Zhang i sar., 2012) ferulinska kiselina, sa učešćem od 77%, bila je dominantna fenolna kiselina vezanih polifenola, dok je siringinska bila dominantna kiselina slobodnih polifenola sa učešćem od 44,7%.

Najveći deo ferulinske kiseline u pšenici nalazi se u vezanom obliku, dok je samo mali deo 10-15% u obliku slobodne ferulinske kiseline (Adom i sar., 2003; Mattila i sar., 2005; Moore i sar., 2005; Mpofo i sar., 2006; Siebenhandl i sar., 2007). Od derivata benzoeve kiseline u u zrnju pšenice, vanilinska i salicilna kiselina su označene kao dominantne kiseline, dok je kafeinska kiselina bila dominantna kao derivat cimetne kiseline (Abdel-Aal i sar., 2001). Od ostalih kiselina u manjoj količini prisutne su još kafeinska, hlorogena, protokatehinska, kumarinska, hlorogena, genistinska i siringinska, sinapinska (Verma i sar., 2009; Wang i sar., 2013; Zhang i sar., 2012; Moore i sar., 2005).

Slobodni polifenoli pšenice se najčešće ekstrahuju etanolom, metanolom i vodenim rastvorima etanola ili metanola, različite koncentracije (80 %), dok se vezani ekstrahuju dietil-etrom nakon hidrolize. Postupak hidrolize izvodi se kao alkalni, primenom 10 M NaOH, kiselinski, primenom 6 M HCl ili kao kombinacija ova dva postupka (Verma i sar., 2009).

Fenolne kiseline u pšenici su prisutne u obliku koji im omogućava brzo oslobađanje, i dostupnost u digestivnom traktu tokom dužeg vremena. Upotreba pšenice u ishrani je u direktnoj vezi sa smanjenjem rizika od pojave hroničnih bolesti, uključujući gojaznost (Liu, 2003), dijabetes, kardiovaskularne bolesti i kancer (Schatzkin i sar., 2007).

Vezani polifenoli pšenice su od posebnog značaja zbog mogućnosti sprečavanja oksidacije biološki važnih molekula u debelom crevu ljudi (Adom i Liu, 2002; Liyana-Pathirana i Shahidi, 2006).

1.4.2.6. Antioksidativna aktivnost polifenola vrganja

U literaturi ima podataka o antioksidativnoj aktivnosti različitih pečurki među kojima je vrganj. Od metoda ispitivanja korišćene su metode ispitivanja kapaciteta neutralisanja DPPH radikala, ispitivanje redukcione snage, metod lipidne peroksidacije, metod ispitivanja sposobnosti heliranja metalnih jona kao i metod ispitivanja sposobnosti inhibicije lipidne peroksidacije reaktivnim jedinjenja tiobarbiturine kiseline.

Ispitivanja kapaciteta neutralisanja DPPH radikala ekstrakata dobijenih iz kape, drške i celog tela pečurke, pokazala su da postoje značajne razlike, tako da ekstrakt kape imaju najaču antioksidativnu aktivnost (94,9%), dok ekstrakti iz drške i celog tela imaju manji kapacitet neutralisanja radikala (87,6, odnosno 60,5%) (Ribeiro i sar., 2008).

Ispitivanje antioksidativne aktivnosti nekih jestivih pečurki poreklom iz Turske, kao što su *Lactarius deterrimus*, *Suillus collitinus*, *Boletus edulis* i *Xerocomus chrysenteron*, pokazala su da je metanolni ekstrakt vrganja imao najači kapacitet neutralisanja DPPH radikala (94,6% pri koncentraciji ekstrakta od 1,5 mg/ml), koji je bio bolji i od kapaciteta neutralisanja radikala ostvarenog sa kontrolnim uzorkom BHT i α -tokoferola iste koncentracije. Od ispitivanih ekstrakata bolju sposobnost heliranja metalnih jona od ekstrakta iz pečurke *Boletus edulis*, čija je vrednost bila 90,2%, imao jedino ekstrakt dobijen iz pečurke *Lactarius deterrimus*, čija je vrednost bila 93,5% pri koncentraciji ekstrakata od 0,5 mg/ml (Sarikurkcu i sar., 2008). U poredjenju sa kontrolnim rastvorom BHT iste koncentracije, oba ekstrakta pokazala su bolju sposobnost heliranja metalnih jona, s obzirom da je za BHT ona iznosila 68,2%. U istom radu, rezultati ispitivanja pokazali su da je ekstrakt polifenola *Boletus edulis* imao manju redukcionu snagu od ekstrakata iz pečurke *Xerocomus chrysenteron* i *Lactarius deterrimus*.

Poredjenje rezultata ispitivanja kapaciteta neutralisanja slobodnih radikala, redukcionu snagu i sposobnosti lipidne peroksidacije ekstrakata *Boletus edulis* i *Boletus auranticus* sa područja Hrvatske, pokazala su da je 50% etanolni ekstrakt dobijen ultrazvučnom ekstrakcijom polifenola pečurke *Boletus edulis* imao bolji kapacitet neutralisanja DPPH radikala jer je IC_{50} vrednost ostvarena pri koncentraciji ekstrakta od 0,016 mg/ml, dok je za ekstrakt *Boletus auranticus* bila potrebna koncentracija od 0,024 mg/ml (Vidović i sar., 2010). Ekstrakt polifenola pečurke *Boletus auranticus* imao je i neznatno veću redukcionu snagu od ekstrakta pečurke *Boletus edulis*, a rezultati ispitivanja sposobnosti inhibicije lipidne peroksidacije ekstrakata ispitivanih pečurki, pokazali su da samo ekstrakt polifenola iz *Boletus edulis* pokazuje ovu sposobnost.

Ispitivanja sposobnosti inhibicije peroksidacije linolenske kiseline, pokazala su da metanolni ekstrakt polifenola iz pečurke *Boletus edulis* ostvaruje procenat inhibicije od 36% i da je ovaj procenat bolji od procenta inhibicije koji postiže ekstrakt *Agaricus bisporu*, koji je iznosio samo 10% (Palacios i sar., 2011).

Ispitivanja antioksidativne aktivnosti ekstrakata polifenolnih jedinjenja dobijenih iz goveđih pljeskavica sa dodatkom liofilizovanog ekstrakta pečurke *Boletus edulis*, dobijenog ekstrakcijom sa 70% v/v vodenim rastvorom acetona, pokazala su da je EC_{50} vrednost DPPH testa ekstrakata polifenolnih jedinjenja iz pljeskavica sa dodatkom od 5% ekstrakta pečurke ostvaren pri koncentraciji od 32,2 mg/ml, da je vrednost absorbanca 0,5 kod testa ispitivanja redukcionu snagu ostvarena pri koncentraciji 2,52 mg/ml, a inhibicija lipidne peroksidacije metodom sa reaktivnih jedinjenja tiobarbiturne kiseline, pri koncentraciji od 5,26 mg/ml (Barros i sar., 2007).

1.4.2.7. Antioksidativna aktivnost polifenola pšenice

U literaturi ima dosta podataka o antioksidativnoj aktivnosti pšenice. Od metoda ispitivanja korišćen je metod ispitivanja kapaciteta neutralisanja DPPH i hidroksil radikala, ispitivanje redukcionu snagu dobijenih ekstrakata, kao i određivanje absorbance kapaciteta neutralisanja radikala kiseonika (ORAC određivanje) i kapacitet neutralisanja oksiradikala (TOSC određivanje). Ispitivanja antioksidativne aktivnosti ekstrakata slobodnih i vezanih polifenola dobijenih iz pšeničnih mekinja nakon kisele i alkalne hidrolize pokazala su da ekstrakt slobodnih polifenola ima manji kapacitet neutralisanja DPPH radikala koji se kretao u granicama 3,9 % do 10,8 %, dok je ekstrakt vezanih polifenola, oslobodjenih kiselom hidrolizom, imao najveći prosečni kapacitet neutralisanja radikala i to u granicama 6,2 do 16,8%.

Junli i sar., (2013) su ispitivali uticaj genotipa, uslova okoline u toku razvoja biljke i njihove interakcije na antioksidativnu aktivnost ozime pšenice i došli do zaključka da uslovi okoline imaju najznačajniji uticaj. Ispitivanja antioksidativne aktivnosti različitih sorti pšenice su pokazala da je ORAC vrednost ekstrakta slobodnih polifenola bila u opsegu 1958 do 3749 μmol Trolox ekvivalenta.

Za vezane polifenole, ta vrednost bila je u opsegu 3190 do 5945 μmol Trolox ekvivalenta, vezani polifenoli doprinose od 52 do 69% ukupnoj ORAC vrednosti (Okarter i sar., 2010). S druge strane, ispitivanja antioksidativne aktivnosti različitih sorti pšenice primenom metoda kapaciteta neutralisanja oksiradikala, pokazala su da je prosečna ukupna antioksidativna aktivnost bila u opsegu 51,2 do 1,5 μmol vitamina C ekvivalenta (Verman i sar., 2009).

1.4.3. Lipidi kao antioksidansi

Lipidi imaju značajnu ulogu u funkcionisanju čovekovog organizma, jer utiču na funkcionisanje hormona ili su njihovi prekursori, pomažu u procesu digestije i jedni su od osnovnih konstituenata u metabolizmu energije.

Takođe, lipidi predstavljaju osnovne strukturne i funkcionalne komponente biomembrana (Burtis i Ashwood, 1996). Osnovne strukturne jedinice koje izgrađuju lipide su masne kiseline.

Masne kiseline se dele na zasićene i nezasićene masne kiseline. Postoji i podela nezasićenih masnih kiselina na zasićene masne kiseline sa jednom nezasićenom vezom i višestruko nezasićene masne kiseline.

Ljudski organizam nije sposoban da sam sintetiše esencijalne masne kiseline, pa se one moraju unositi putem hrane ili fitopreparata. Esencijalne masne kiseline pripadaju grupi polinezasićenih masnih kiselina sa 18, 20 i 22 ugljenikova atoma i sadrže dve do šest dvostrukih veza. Bitne su za organizam jer imaju nekoliko važnih funkcija: služe kao izvor energije, gdivni su elementi fosfolipida (strukturnih elemenata ćelijskih membrana), sastojci su lipoproteina krvne plazme i prekursori su važnih jedinjenja sa hormonskim dejstvom, kao što su prostaglandini, leukotrieni, tromboksani (Dimić, 2005).

1.4.3.1. Lipidi vrganja i pšenice

Vrganj je pečurka koja je bogata vitaminima, proteinima, dijetetskim vlaknima i mineralima, dok je sadržaj masti jako mali. Najveći deo lipida vrganja čine masne kiseline, dok je sadržaj mono- i di-acilglicerola manji.

Ispitivanje sastava masnih kiselina petnaest različitih divljih jestivih gljiva koje pripadaju rodu *Boletus*, je pokazalo da su najzastupljenije masne kiseline linoleinska (38-58%), oleinska (15-42%) i palmitinska (7-17%) (Hanuš i sar., 2008). Vrganj je bogat esencijalnom aminokiselinom lizin, i njen sadržaj kreće se od 52 mg/100g suve materije (Ribeiro i sar., 2008), pa čak do 217 mg/100g suve materije (Tsai i sar., 2008), dok je njen sadržaj u pšenici jako mali.

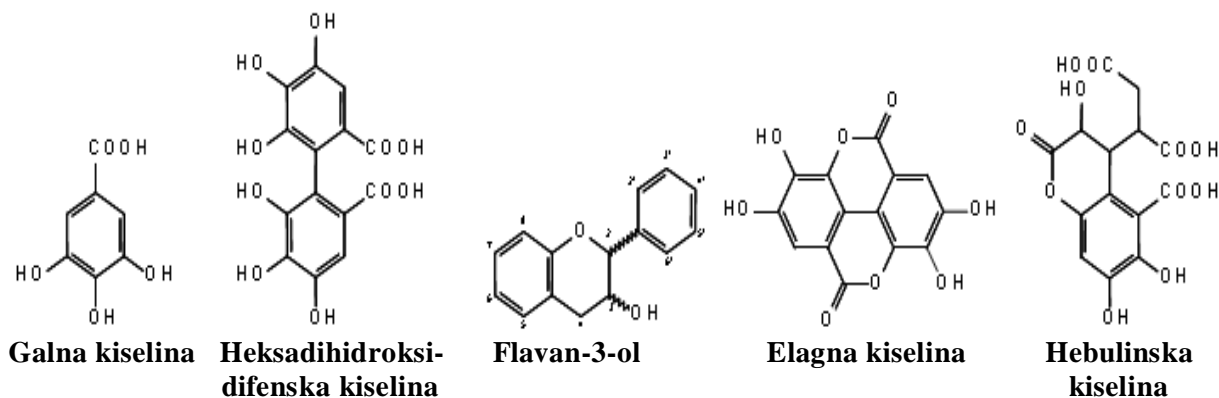
Prinos masnih kiselina dobijen ekstrakcijom vrganja podrkričnim i superkričnim ugljen dioksidom (Vidović i sar., 2011) bio je oko 2% pri čemu je udeo oleinske i linolne kiseline bio oko 40%, a palmitinske oko 10%. Lipidi u pšeničnom zrnu nisu jednako raspoređeni, tako da klica ima najveći sadržaj lipida (oko 28%), a endosperm najniži (oko 1,5%). Od lipida pronađenih u brašnu polovina su nepolarni lipidi (triacil gliceroli, masne kiseline, steroli i njegovi estri), a druga polovina su polarni lipidi (fosfolipidi i glikozidi). Od zasićenih masnih kiselina najzastupljenije su palmitinska i stearinska, a od nezasićenih linolna i oleinska (Žeželj, 2005). Približni sastav lipida pšeničnog brašna je: 30-35% triglicerida, 15-25% mono- i diglicerida, 5-10% slobodnih masnih kiselina, 25% fosfolipida i 15% glikolipida.

1.4.4. Tanini kao antioksidansi

Tanini su široko rasprostranjeni u biljnom svetu. U biljkama se nalaze u citoplazmi parenhimskih ćelija i imaju ulogu da štite biljku od napada insekata i drugih štetočina. Tanini su složena, polifenolna prirodna jedinjenja različite molekulske mase, rastvorna u vodi. Lako reaguju sa proteinima, što je iskorišćeno u procesu štavljenja kože.

Molekulska masa tanina kreće se u rasponu od 500-3000 Da. Mogu formirati u svojoj strukturi veze sa drugim molekulima. Tanini sa niskom molekulskom masom, manjom od 500 Da ne formiraju veze sa drugim molekulima. Stupaju u reakcije sa solima teških metala, alkaloidima i proteinima, pa tako, na ovaj način, grade teško rastvorne komplekse (Quideau i sar., 2011). Tanini nisu toksične supstance, a karakterističan je opor ukus.

Osnovne gradivne jedinice tanina čine galna kiselina, heksahidroksidifenska kiselina, flavan-3-ol, elagna kiselina i hebulinska kiselina (slika 18) (Grujić i Laišić, 1983).



Slika 18. Građivne jedinice tanina

Na osnovu građivnih jedinica i hemijske prirode, mogu se izdvojiti osnovne grupe tanina:

- hidrolizujući (pirogalni)
- kondenzovani (katehinski) tanini
- pseudo tanini i
- mešoviti tanini.

Pseudo tanini nastaju od građivnih jedinica tanina i imaju malu molekulsku masu, dok *mešoviti tanini* predstavljaju uzajamnu kombinaciju dve grupe tanina, hidrolizujućih i kondenzovanih tanina (Schofield i sar., 2001).

Poslednjih godina tanini privlače sve veću pažnju zbog svojih antioksidativnih, antimikrobnih i antikancerogenih svojstava (Arts i Hollman, 2005; Lyall i sar., 2009), pri čemu je jako bitna i sposobnost tanina da reaguju sa proteinima. Wang i sar. (2015), su u svojim istraživanjima pokazali da dodatak tanina poboljšava agregaciju proteina glutena, poboljšava mikrostrukturu glutenske mreže i svojstva mešenja testa, ali mehanizam proteini-tanini u testu i dalje ostaje nerazjašnjen. Ovakav pozitivan uticaj tanina na svojstva testa ukazuje na mogućnost korišćenja tanina kao novog aditiva. Okuda i sar., (1983), su ukazali na to da sposobnost redukcije koju poseduju tanini štite jetru od oštećenja koja izazivaju peroksidi nastali oksidacijom lipida.

1.4.4.1. Tanini vrganja i pšenice

U vrganju i pšenici prisutni su kondenzovani tanini. Tanini iz pšenice su snažni antioksidansi, koji štite ćelije organizma neutralizacijom štetnog uticaja slobodnih radikala nastalih u toku fizioloških procesa (Tadolini, 2000).

Upotreba pšeničnog brašna kao izvora prirodnih tanina, dovodi do sprečavanja kardiovaskularnih oboljenja i podstiče prirodno prečišćavanje krvnih sudova u organizmu čoveka. Sadržaj kondenzovanih tanina u pšeničnom brašnu kreće se od 1,46-4,82 mg/g suve materije. Ljuspe od zrnevlja se upotrebljavaju i za lečenje gastroenteritisa i u dijeti bez glutena kod slučajeva crevnih oboljenja (Brouk, 1975).

Od kondenzovanih tanina u vrganju je najviše su zastupljeni katehini, poznati kao moćni antioksidansi. Katehini redukuju nivo holesterola i regulišu krvni pritisak, i tako smanjuju rizik od srčanih oboljenja (Akindahunsi i Oyetayo, 2005).

Zbog čitavog niza pozitivnih efekata tanina na organizam čoveka, upotreba vrganja u ishrani ljudi je jako bitna. U literaturi nema podataka o sadržaju tanina u vrganju, ali ima podataka o sadržaju tanina i drugih nenutritivnih sastojaka, kao što su cijanidi i fitati, u drugim pečurkama. Akindshunsi i Oyetsyo, (2005), su ispitivali prisustvo nutritivnih i nenutritivnih sastojaka u pečurki *Pleurotus tuber-regium*, poznatoj kao „kralj krtola“. Sadržaj tanina u zavisnosti od dela pečurke bio je u granicama 0,21 do 0,31% u odnosu na suhu masu pečurke. Ovaj sadržaj tanina nema uticaja na nutritivna svojstva pečurke, s obzirom da je sadržaj tanina, zajedno sa sadržajem ostalih nenutritivnih sastojaka, bio manji od 10% sadržaja suve materije pečurke (Osagie, 1998).

Unekwu i sar., (2014), su ispitali sadržaj fenola, flavonoida, saponina, tanina i alkaloida u sledećim divljim jestivim gljivama *Nigerijskim pečurkama*: *Cantharellus cibarius*, *Termitomyces robustus*, *Termitomyces manniformis*, *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus ostreatus*, *Lactarius deliciosus*, *Auricularia auricular* i *Hericium erinaceus*. Sadržaj tanina u ekstraktu kretao se između 59,27-170,56 mg/g suvog ostatka ekstrakta. Najveći sadržaj tanina zabeležen je u pečurki *Termitomyces robustus*, a najmanju u *Hericium erinaceus*.

1.4.5. Mineralne materije

Širom sveta postoji sve veće interesovanje i za minerale kao konstituente biljaka (Ozcan, 2004). Mnogi elementi utiču na sekundarni metabolizam biljaka i samim tim na produkciju biološki aktivnih jedinjenja (Sykorova i sar., 2009). Uopšteno, čoveku su u toku jednog dana potrebne količine pojedinih mineralnih materija u količinama od jednog pikograma pa do jednog grama. Makrosastojci (proteini, ugljeni hidrati i lipidi) ulaze u sastav strukturalnih i funkcionalnih komponenti ćelija i izvor su energije. Mikrosastojci (vitamini i mineralne materije) su komponente enzima i kofaktora koji su neophodni za metaboličke procese.

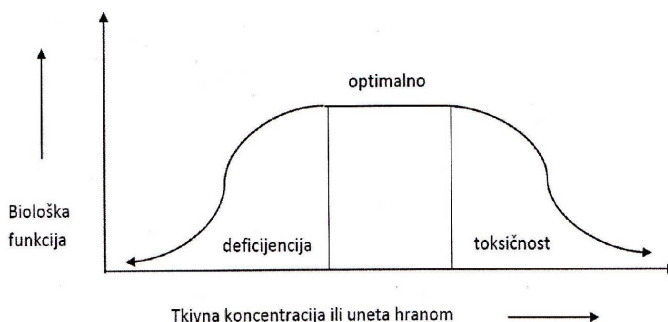
Mineralne materije su neophodne u ishrani za normalno odvijanje metaboličkih funkcija, transmisiju nervnih impulsa, pravilno formiranje kostiju, regulaciju balansa vode i soli (Kalač i Svoboda, 2000). Mineralne materije nisu podjednako zastupljene u strukturi tkiva ljudskog organizma. Na kiseonik, vodonik, ugljik i azot otpada 95% mase tela. Sadržaj ostalih elemenata je mali i pojedinačno ne prelazi 1,5%. Mineralne materije čiji je sadržaj u tkivima veći od 0,01% se nazivaju **makroelementima**, a mineralne materije čija je količina manja od 0,01% nazivaju se **mikroelementima** ili elementima u tragovima. Prema dnevnim potrebama čoveka za mineralnim materijama, minerali se dele na:

-**glavne minerale**, koji su ujedno i esencijalni, a čiji je potreban dnevni unos preko 100 mg (Ca, P, Mg, Na, K, Cl, S),

-**oligoelemente**, čiji je potreban dnevni unos manji od 100 mg, a koji se dalje dele na:

- ✓ esencijalne oligoelemente (Fe, Zn, Cu, Mn, Cr, Co, Se, Mo, F) i
- ✓ oligoelemente, čija esencijalnost nije potvrđena (Si, Ni, Sn, Cd, As, Al, B).

Na slici 19 prikazan je jednostavan model koji ilustruje odnos između koncentracije esencijalnog sastojka u tkivu i zavisnosti biološke funkcije.



Slika 19. Zavisnost između unete koncentracije elementa i njegove biološke funkcije
(Radojković, 2012)

Tabela 5. Potrebne dnevne doze nekih mikro- i makro elemenata

Element (mg)	RDI ¹	DRI ²	UL ³
Ca	1.000	1.300	2.500
Fe	18	18	45
Mg	400	420	350
Zn	15	11	40
Se	70*	55*	400
Co	2	0,9	10
Mn	2	2,3	11

¹Referentni dnevni unos (RDI - Reference daily intake) propisan od strane FDA (Food and Drug Administration)

²Dijetetski referentni unos (DRI - Dietary Reference Intakes) propisan od strane Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine

³Dozvoljena gornja granica unosa (UL - Upper Limit)

*gornja granica unosa za Mg koja se odnosi isključivo na unos kroz dijetetske suplemente ili farmaceutske proizvode
*vrednost za Se je u µg

Ako dođe do smanjenja koncentracije nekog elementa dolazi do izmenjene biološke funkcije, a ako se poveća iznad određene koncentracije isti element ima toksično dejstvo. Svaki element ima svoju karakterističnu krivu zavisnosti. Potrebne dnevne doze nekih mikro- i makro elemenata su prikazane u tabeli 5 (Radojković, 2012).

1.4.5.1 Mineralne materije u vrganju i pšenici

Gyar i Owaku (2011) su ispitivali *Boletus edulis* sa područija Nigerije i određivali sadržaj pojedinih mineralnih materija, a njihovi rezultati prikazani su u tabeli 6. Iz tabele se može videti da u ispitivanom vrganju ima najviše Ca, a najmanje Zn. Kalcijum i fosfor su minerali bitni za mišiće, kosti i zube, dok kalcijum i bakar pomažu u nastajanju hemoglobin i transportu jona (WHO, 1993; Turan i sar., 2003).

Na osnovu mineralnog sastava može se zaključiti da vrganj predstavlja dobar i jeftin izvor gore pomenutih minerala, pa se preporučuje njegova upotreba u ishrani ljudi.

Tabela 6. Koncentracija pojedinih mineralnih materija u *Boletus edulis*

Element	Concentracija (mg/l)
Ca	14,94
Mg	12,3
Mn	0,56
Na	2,44
Zn	0,10
Cr	0,27
Fe	2,55
K	2,01
Cu	0,55

Koncentracija mineralnih materija u brašnu, mekinjama i celom zrnju u velikoj meri zavisi od lokacije i sorte pšenice. Faktori životne sredine takođe bitno utiču na sadržaj mineralnih materija u pšeničnom brašnu. Sadržaj mineralnih materija u žitaricama kreće se od 1,5-2,5% (Bock, 2000).

Najčešće zastupljeni mineral u žitaricama je fosfor. Pšenica, raž i ovas se smatraju dobrim izvorom ovog mineral (200-1200 mg/100g). Pored fosfora pšenica je dobar izvor i drugih mineralnih materija i to Ca (100-200 mg/100 g), Mg (100-200 mg/100 g), Fe (1-5 mg/100 g), Zn (1-5 mg/100 g) i Cu (0,1-1 mg/100 g). Osim pomenutih, pšenica sadrži i druge mineralne materije u tragovima (Kent, 1975).

Dhingra i Jood, (2001) su ispitivali hranljivu vrednost hleba, ustanovili da je sadržaj kalcijuma, gvožđa i cinka u pšeničnom brašnu 57,1, 8,52 i 3,75 mg/100 g brašna). Khan i sar., (2005) ispitivali su sadržaj mineralnih materija u pšeničnom brašnu, a rezultati ispitivanja prikazani su u tabeli 7.

Tabela 7. Sadržaj pojedinih mineralnih materija u čistom pšeničnom brašnu

Element	Koncentracija (mg/g brašna)
Ca	46,50
Mg	153,00
Fe	4,40
Zn	3,40
Mn	3,53
Cu	0,63

1.4.6. Proteini

Proteini ulaze u sastav živih organizama i učestvuju u svim procesima između ćelija. Mnogi protein su enzimi koji katalizuju biohemijske reakcije i značajni su za metabolizam. Drugi imaju strukturne ili mehaničke funkcije.

Proteini su značajni u ćelijskom prenosu signala, adheziji ćelija, imunološkom sistemu i ćelijskom ciklusu. Prvi protein koji je izdvojen bio je insulin od strane Federika Sangera, zatim hemoglobin i mioglobin (Kendrew, 1958; Muirhead i Perutz, 1963).

Molekulska masa proteina može dostići vrednost i od nekoliko miliona daltona, a struktura može obuhvatati i neproteinske molekule. U tom smislu razlikujemo proteine sastavljene od aminokiselina i tzv. **heteroproteine** sastavljene od čisto proteinskog dela, koji se naziva apoprotein, i prostetske grupe. Na osnovu vezivanja lanaca aminokiselina razlikuje se i njihova struktura koja može biti primarna, sekundarna, tercijarna i kvaternarna.

Proteini mogu biti svrstani u tri klase i to:

- globularni protein-uglavnom su rastvorljivi, mnogi proteini ove grupe su i enzimi,
- fibrilarni protein-najčešće imaju strukturnu ili motornu funkciju, u okviru njih spadaju kolagen, elastin, α i β keratin i
- membranski protein-dele se na integralne koji su čvrsto ugrađeni u membranu i periferne koji se lako odvajaju od membrane.

Proteini učestvuju gotovo u svim procesima u organizmu, a posebnu ulogu imaju u toku rasta, razvoja ili regeneracije organizma. Proteini zamenjuju izumrle ćelije, i to: ćelije krvi, bubrega, jetre, kose, mišića, noktiju i zuba. Funkcija proteina u organizmu može biti različita i to strukturna (kolagen, keratin), skladišna (albumin, kazein), transportna (hemoglobin), katalitička (enzimi), kontraktilan (miozin), odbrambena (antitela), signalna (insulin) i modulaciona (PKA) (Walian i sar., 2004)

1.4.6.1. Proteini u vrganju i pšenici

Pečurke roda *Boletus* predstavljaju dobar izvor proteina, mineralnih materija i vitamina. Ribeiro i sar., (2008) ispitivali su prisustvo proteina u više različitih pečuraka, i rezultati su pokazali da pečurke roda *Boletus* imaju najveći sadržaj proteina. Glavne aminokiseline pronađene u vrganju bile su glutamin, alanin, glicin, serin i prolin.

Uzimajući u obzir činjenicu da pečurke predstavljaju dobar izvor prirodnih proteina i da postoji sve veće interesovanje za njihovom upotrebom u ishrani, Kuka i Cakste (2011) su ispitali prisustvo proteina u pečurki roda *Boletus* i to *Boletus edulis f. beticola* i *Boletus edulis f. pinicola*. Rezultati pokazuju da *Boletus edulis f. pinicola* ima veći sadržaj protein u odnosu na *Boletus edulis f. beticola*. Sadržaj proteina u *Boletus edulis f. pinicola* bio je 526 mg/g suve materije pečuraka, a u *Boletus edulis f. beticola*, 325 mg/ g suve materije.

Gyar i Owaku., (2011) su takođe ispitivali prisustvo protein u vrganju. Prema njihovim rezultatima sadržaj protein u vrganju iznosi 5,22%.

Pored toga što žitarice predstavljaju glavni izvor energije i dijetetskih vlakana, one vrlo često predstavljaju i osnovni izvor hranljivih proteina u ishrani ljudi (Bean i sar., 1998). Sadržaj proteina pšenice varira u prilično širokom opsegu (6-18%) u zavisnosti od okruženja i genetskih faktora. Pšenično brašno obično sadrži 1% manje proteina nego samlevena pšenica.

Kod pšeničnog brašna je oko 15% proteina rastvorljivo u vodi ili vodenim rastvorima soli (albumin ili globulini), a preostalih 85% predstavlja uskladišteni protein (prolamini i glutelini). Uskladišteni protein pšenice sastoji se od dve klase proteina, prolamina koji se zovu glijadin, i glutelina koji se zove glutenin. Protein gluten je u najvećoj meri odgovoran što pšenično brašno daje visokoelektrično testo koje zadržava gas tokom fermentacije. Iako postoje izvesne varijacije, gluten se obično sastoji od 52% glijadina i 48% glutenina.

Dhingra i Jood., (2001) vršili su procenu hranljive vrednosti i organoleptičkih svojstava hleba od čistog pšeničnog brašna i mešavine pšeničnog i brašna soje i ječma. Prema njihovim rezultatima sadržaj proteina u pšeničnom brašnu bio je 11,5 g/100 g suve mase, a dodatkom soje sadržaj proteina u mešavini brašna se povećava. Peterson i sar., (1986) ispitivali su uticaj okoline i sorte na sadržaj proteina u pšeničnom brašnu, i prema njihovim istraživanjima sadržaj proteina u pšeničnom brašnu iznosio je 13,3 %.

1.5. Zames testa

Testo predstavlja složeni reološki sistem sa viskozno-elastičnim osobinama koje zavise od velikog broja faktora: kvaliteta brašna, funkcionalnih osobina sirovina, sirovinskog sastava, jačine i vremena dejstva spoljne sile i temperature testa. Strukturno-mehaničke osobine testa formiraju se tokom zamesa kao posledica hidratacije osnovnih sastojaka brašna i struktuiranje proteina glutena. Za objašnjenje viskozno-elastičnih osobina reološkog sistema primenjuju se mehanički elementi:

- predmet na ravnoj površini - koji podseća da pre nego što se pod dejstvom sile pomakne po ravnoj površini, treba da bude savladana sila trenja;
- za viskozno proticanje - klip u cilindru. Pri konstantnom naponu klip se pokreće istom brzinom. Posle dejstva sile prekida se napon i kretanje klipa se zaustavlja. Ova osobina pripada Njutnovskim sistemima u kojima je brzina smicanja proporcionalna naponu smicanja;
- za elastična svojstva - opruga. Pri konstantnom naponu opruga se deformiše i u trenutku kada prestaje dejstvo sile opruga se trenutno vraća u početni položaj, odnosno pokazuje trenutnu elastičnu deformaciju.

Testo od brašna i vode sastoji se od skrobne i proteinske faze koje sačinjavaju visko-elastični sistem u kome gel glutena obrazuje trodimenzionalnu strukturu ispunjenu hidratizovanim skrobom. Voda je u testu prisutna u vezanom i slobodnom obliku. Vezana voda se preko polarnih grupa nalazi u sastavu glutena i drugih proteina brašna, a kapilarna voda je voda koju prima skrob. Tokom zamesa gluten bubri i obrazuje prostornu molekulsku rešetku ispunjenu suspenzijom hidratizovanog skroba.

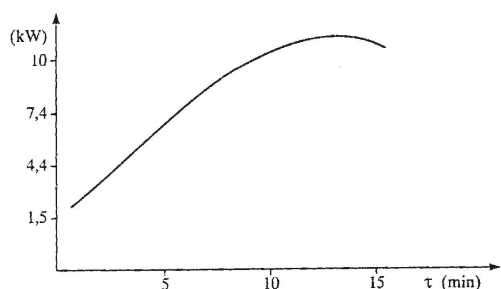
U zavisnosti od sastava mešavine brašna, može se nagraditi testo sa različitim sadržajem vode, koji može biti i veći od vrednosti upijanje vode pšeničnog brašna (Gavrilović, 2000).

1.5.1. Prosesi tokom zamesa testa

U toku zamesa u testu se odvijaju brojne reakcije. Među njima je i proces oksidacije koji dovodi do ugradnje kiseonika u testo i pozitivno utice na povećanje čvrstoće testa (Joye i sar., 2009). Kiseonik se smatra petim sastojkom pri zamesu testa, posle brašna, vode, kvasca i soli. Nedovoljna količina atmosferskog pritiska prilikom zamesa testa, za rezultat ima nedovoljno razvijenu strukturu testa što se manifestuje u toku pečenja (Graveland i sar., 1978).

Zames testa počinje mešanjem svih sirovina i brašna. Osnovni sastojci brašna primaju vodu, skrobna zrnca i gluten bubri, zbog čega se napon u testu povećava, a tečna faza prodire u micelarne prostore. Mešenje testa je egzoterman proces zbog energije mešanja, toplote hidratacije brašna, toplote upotrebljenih sirovina, toplote rastvaranja sredstava za narastanje i toplote okoline pa testo na kraju ima višu temperaturu od ulazne srednje temperature svih sirovina pre zamesa. Iz ovih razloga prostorija u kojoj se vrši zames testa mora biti klimatizovana (Gavrilović, 2000). Ako se elektromotor spoji sa dinamometrom, pisač beleži promene tokom zamesa testa. Utrošena maksimalna snaga znak je da su naponi u testu savladani i da je završena izrada testa. Na slici 20 je dat dijagram rada mešača tokom zamesa.

Vreme trajanja zamesa zavisi od kvaliteta brašna, sirovinskog sastava, temperature sirovine i vrste mesilice. Testo tvrde konzistencije zahteva duže vreme zamesa nego testo meke konzistencije. Zames testa je završen kada je formiran glutenski kompleks (tj. kada je gluten hidratisan).



Slika 20. Dijagram rada mešača

Posle zamesa testo tvrde konzistencije se odmara, da bi se nastavila hidratacija glutena, da bi masti dispergovale i smanjili se naponi. Fermentisana testa odležavaju da bi se nastavila fermentacija, dok se ostala testa oblikuju bez odmaranja (Aureman, 1979).

1.5.2. Uticaj zamesa na sadržaj i sastav polifenola i antioksidativnu aktivnost vrganja i pšenice

Kvantitativna analiza polifenolnih kiselina u pšeničnom brašnu je pokazala da je ferulinska kiselina najzastupljenija polifenolna kiselina. Jackson i Hosenej (1986) su ispitivali uticaj polifenolnih kiselina na svojstva mešanja testa od pšeničnog brašna. Rezultati pokazuju da u toku mešanja ferulinska kiselina deluje na vezu između glutena i skroba, dovodeći do raskidanja veze u kompleksu gluten/skrob. U toku mešanja testa koncentracija slobodne ferulinske kiseline smanjuje se od 1,0 do 0,3 mg/kg suve mase, a koncentracija vezane rastvorne ferulinske kiseline, od 3,8 na 0,9 mg/kg suve mase.

Sadržaj nerastvorne, vezane ferulinske kiselina se ne menja i ostaje 36 mg/kg suve mase. Ovi podaci odgovaraju teoriji da slobodna ferulinska kiselina reaguje sa kompleksom gluten/skob i dovodi do brže razgradnje testa. Kada se iz brašna uklone materije rastvorne u vodi, testo ne gubi svoju elastičnost i stabilnost, što navodi na zaključak da materije rastvorne u vodi dovode do ragradnje testa.

1.6. Termička obrada testa

Pečenje je složena operacija tehnološkog procesa proizvodnje jer tada nastaju značajne fizičko-hemijske i koloidne promene testa i dobija se proizvod željenog kvaliteta. U toku pečenja oblikovano testo menja spoljni izgled, formira oblik određenih dimenzija, boju, ukus i aromatična svojstva.

Neposredno po ulazu testa u prostor za pečenje, toplota prodire sa svih strana i počinje isparavanje slobodne vode. Pod dejstvom toplote slobodna voda isparava skoro u celini. Isparavanje je brže ako je vazduh suv, pa se zato pre pečenja uvodi vodena para kako bi se dostigla vlažnost vrelog vazduha 60 - 70%.

Kada se testo zagreje na 50° C počinje proces dehidracije glutena i delimičnog bubrenja skroba. Struktura glutena se menja i on postaje nosilac strukture proizvoda.

Površinski slojevi delimično hidratizovanih skrobnih zrnaca se isušuju i nastaje dehidratirani skrobni gel. Istovremeno nastaju i jedinjenja termički razloženog skroba i dehidratizovani čvrsti slojevi skrobnih zrnaca

Vitamini sadržani u sirovinama se termički razlažu, neki potpuno kao vitamin C, a neki delimično, kao vitamin A i vitamini B kompleksa.

Tokom pečenja testo dobija poroznu strukturu, a kao posledica toplotnog širenja vodene pare i gasova koji nastaju, zapremina testa se povećava (Auerman, 1979; Gavrilović, 2000).

1.6.1. Procesi tokom termičke obrade testa

Proces termičke obrade se može sagledati u tri faze. U prvoj fazi vlaga se trenutno kondenzuje na površini testa, a zatim počinje njeno isparavanje. Razlika između sadržaja vlage unutrašnjih i površinskih slojeva postaje sve veća jer nije počelo isparavanje vlage iz unutrašnjih slojeva. U ovoj fazi na površini testa sloj kondenzovane pare onemogućava razvoj procesa tamnjenja površine, ali dolazi do ekspanzija testa. U drugoj fazi temperatura unutrašnjih slojeva se znatno povećava i stvaraju se uslovi za isparavanje vlage iz unutrašnjih slojeva.

Nastavlja se ekspanzija zapremine testa i završavaju procesi formiranja strukture proizvoda. Istovremeno počinje stvaranje boje na površini oblikovanog testa .U trećoj fazi isparavanje iz unutrašnjih slojeva se nastavlja pri čemu se brzina isparavanja sa površine postepeno smanjuje i izjednačava sa brzinom isparavanja iz unutrašnjih slojeva proizvoda, što je svojstveno za proces sušenja. Reguliše se visina proizvoda i pojačava boja (Auerman, 1979; Gavrilović, 2000).

1.6.2. Uticaj termičke obrade na sadržaj i sastav polifenola i antioksidativnu aktivnost vrganja i pšenice

Kuvanje, pečenje, prženje, grilovanje i ostali oblici termičke obrada hrane dovode do značajnih promena u teksturi i hemijskom sastavu hrane (Osman i sar., 2010; Wolosiak i sar., 2010; Mandge i sar., 2011; Medoua i Oldewage-Theron, 2011). Antioksidativna aktivnost i sadržaj polifenola u hrani zavise od načina, dužine trajanja i temperature termičke obrade. Pojedina fenolna jedinjenja su nestabilna i pod uticajem visokih temperatura gube svoju antioksidativnu aktivnost.

U toku pečenja visoka temperatura deluje na hidroksilne grupe fenola, dovodeći do njihovog gubitka (Barros i sar., 2007), ili do transformacije polifenola sa velikom antioksidativnom aktivnošću u polifenole sa smanjenom antioksidativnom aktivnošću (Jacobo-Velzquez i Cisneros-Zevallos, 2009), što direktno utiče i na smanjenja ukupne antioksidativne aktivnosti. Sa druge strane, pod uticajem toplote u toku termičke obrade voća, povrća, nekih vrsta pečuraka i žitarica povećava se antioksidativna aktivnost. Kao uzrok povećanja antioksidativne aktivnosti navodi se oslobađanje velikih količina antioksidativnih komponenata koje se nalaze u ćelijskom zidu i sub ćelijskom prostoru (Hayat i sar., 2009), tj. oslobađanjem vezanih fenola. Takođe, povećanje antioksidativne aktivnosti pod uticajem toplote može biti posledica Millard-ovih reakcija (Morales i Babel, 2002). U toku termičke obrade voda brzo isparava sa površine testa pri čemu se stvaraju optimalni uslovi za izvođenje Millardovih reakcija. Slobodna amino grupa lizina, proteina ili peptida može da reaguje sa karbonilnom grupom redukujućih šećera, pri čemu se inicira odvijanje Millardovih reakcija u toku pečenja (Kent-Jones i Amos, 1967; Yilmaz i Toledo, 2005; Michalska i sar., 2008).

Sun i sar. (2002) su ispitali uticaj različitih metoda termičke obrade na sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativnu aktivnost pečurke roda *Boletus* (*Boletus aereus*, *Boletus badius*, *Boletus pinophilus* i *Boletus edulis*).

Korišćeno je pet različitih načina obrade pečuraka i to: kuvanje na pari, kuvanje pod pritiskom, mikrotalasna obrada, prženje i kuvanje u ključaloj vodi. Sadržaj ukupnih polifenola sveže pečurke *Boletus aereus*, *Boletus badius*, *Boletus pinophilus* i *Boletus edulis*, bio je 209,5; 150,5; 184,5 i 220,0 µg galne kiseline/g sveže mase, redom. Nakon ključanja sadržaj ukupnih polifenola za pečurke *Boletus aereus*, *Boletus badius*, *Boletus pinophilus* i *Boletus edulis* bio je 70,5; 57,0; 65,0; 102,0 µg galne kiseline/g sveže mase, redom, dok je kod mikrotalasne obrade gubitak ukupnih polifenola bio mnogo manji i to 149,0; 146,0; 161,0; 216,0 µg galne kiseline/g sveže mase, redom. Sadržaj i sastav fenolnih kiselina određen je HPLC metodom. U vrganju je detektovano pet polifenolnih jedinjenja i to kvercetin, hlorogena, galna, vanilinska i protokatehinska kiselina. Sadržaj protokatehinske kiseline bio je najveći i to 74,4 µg/g sveže mase, dok je sadržaj galne kiseline bio 42,1 µg/g sveže mase. Sadržaj hlorogene i vanilinske kiseline bio je približan, 15,5 i 14,9 µg/g sveže mase, redom, dok je sadržaj kvercetina bio jako mali, svega 1,1 µg/g sveže mase. Generalno, sve metode termičke obrade dovele su do smanjenja sadržaja polifenolnih kiselina u vrganju, jedino je prženje značajno povećalo sadržaj hlorogene (oko 89%) i vanilinske kiseline (oko 77%).

Sadržaj kvercetina se ne menja, ali u uzorcima koji su bili prženi i kuvani kvercetin nije pronađen. Ukupna antioksidativna aktivnost ispitivanih pečuraka određena je DPPH testom i određivanjem redukcione snage.

DPPH test pokazuje da ključanje, mikrotalasna obrada i kuvanje na pari ne dovode do promene antioksidativne aktivnosti kod vrganja, dok kuvanje pod pritiskom i prženje smanjuju ukupnu antioksidativnu aktivnost. Sa druge strane, rezultati određivanja redukcione snage ekstrakata uzoraka nakon termičke obrade pokazuju da se antioksidativna aktivnost značajno smanjuje kod svih metoda obrade.

Pečenje i dalje predstavlja jedan od najčešćih načina obrade proizvoda od žitarica. Različita istraživanja pokazuju da toplota nepovoljno utiče na sadržaj polifenolnih jedinjenja, tj. u toku pečenja hleba sadržaj polifenola se smanjuje. Tako je količina polifenola koja se gubi tokom pečenja u direktnoj vezi sa načinom obrade, dužinom trajanja i visinom temperature (Sensoy i sar., 2006). U kori hleba tokom pečenja, dolazi do nastajanja nekih supstanci sa antioksidativnom aktivnošću što se povezuje sa odvijanjem Millard-ovih reakcija (Lindenmeier i Hofmann, 2004). El-Sayed i sar. (2013) su ispitali uticaj pečenja na slobodne i vezane polifenolne kiseline u pekarskim proizvodima. Uticaj pečenja na sadržaj polifenolnih jedinjenja zavisi od niza faktora, a neki od njih su: uslovi pečenja, sastav testa, kao i tip fenolnih jedinjenja.

Proces pečenja značajno utiče na slobodne i vezane polifenolne kiseline u hlebu, pri čemu u pečenom hlebu imamo znatno više slobodnih polifenolnih kiselina, dok je sadržaj vezanih polifenolnih kiselina manji. Na primer, sadržaj ferulinske kiseline koja je najzastupljenije fenolno jedinjenje u pšenici, se menja pod uticajem toplote. Sadržaj slobodne ferulinske kiseline u kontrolnom testu se povećava za 32,4%, dok se sadržaj vezane ferulinske kiseline smanjuje u toku pečenja za 37,7%. Generalno, pečenje može biti dobar način za poboljšanje bioraspoloživosti polifenolnih kiselina, s obzirom da toplota dovodi do razgradnje konjugovanih polifenolnih jedinjenja, što za posledicu ima povećanje slobodnih polifenolnih jedinjenja u pšeničnom brašnu (Cheng i sar., 2006).

Smatra se da su slobodna polifenolna jedinjenja dostupnija za iskorišćenje od vezanih, tj. bioraspoloživost vezanih polifenolnih kiselina kao dominantnih polifenola u pšenici, je jako mala i svako povećanje slobodnih polifenolnih kiselina dovodi do povećanja bioraspoloživosti polifenolnih jedinjenja.

1.6.3. Uticaj termičke obrade na sadržaj mineralnih materija i proteina vrganja i pšenice

Obrada hrane, uključujući i pripremu, čini hranu ukusnijom, sigurnijom i zdravijom. Međutim, iako su koristi od obrade hrane mnogobrojne, obrada hrane može negativno da utiče na nutritivni kvalitet hrane. Blanširanje, mlevenje i ekstruzija na primer dovode do gubitka vitamina i mineralnih materija. Bioraspoloživost mineralnih materija poput gvožđa, cinka i kalcijuma zavisi od prisustva tanina, vlakana i fitinske kiseline u hrani, čija koncentracija u hrani pak zavisi od načina obrade hrane, uključujući i termičku obradu (Reddy i Love, 1999).

Visoke temperature u toku obrade hrane mogu ne utiču značajno na gubitak mineralnih materija, dok potapanje u vodi i kuvanje mogu uticati. Gubici mineralnih materija prilikom potapanja povrća u vodi mogu se smanjiti korišćenjem minimalne količine vode. Do gubitka mineralnih materija može doći i kao rezultat fizičkog procesa kao npr. odvajanje mekinja u toku mlevenja pšenice. Bioraspoloživost mineralnih materije zavisi od njihove interakcije sa drugim komponentama hrane. Tako na primer oksalati sprečavaju bioraspoloživost kalcijuma, dok vitamin C pozitivno deluje na bioraspoloživost gvožđa.

Akhtar i sar., (2010) ispitivali su uticaj pečenja i skladištenja na sadržaj mineralnih materija u brašnu. Sadržaj gvožđa, cinka, bakra i mangana u ispitivanim uzorcima pre pečenja bio je 54,21; 29, 72; 8,33 i 27,16 mg/kg suve mase brašna, redom. Uticaj procesa pečenja na gvožđe je od velikog značaja, s obzirom da u mnogim zemljama sveta hleb predstavlja jedan od osnovnih izvora gvožđa (Ranum i Loewe, 1978).

Obrada hrane generalno ne utiče na sadržaj mineralnih materija, međutim na osnovu podataka u literaturi njihova dostupnost u hrani može da se menja tokom procesuiranja hrane. U hrani, gvožđe se nalazi u nekoliko različitih oblika, što zavisi od toga da li se hrana prerađuje i da li dolazi do interakcije sa nekim sastojcima hrane. Nakon pečenja procenat gubitka gvožđa, cinka, bakra i mangana u ispitivanim uzorcima bio je 1,19; 2,35; 2,66 i 1,82 %, redom.

Još jedno istraživanje pokazuje da u toku obrade žitarica u finalne proizvode dolazi do smanjenja sadržaja pojedinih mineralnih materija poput gvožđa, cinka, aluminijuma, kalcijum, mangana i bakra. Istraživanja pokazuju da elementarni oblik gvožđa pokazuje odličnu stabilnost u toku obrade, dok je organski oblik gvožđa u žitaricama manje stabilan (Christine i sar., 1996). Mahgoub i sar., (1999) pratili su mikrosastojke u toku pečenja i zaključili da u toku pečenja ne dolazi do značajnih gubitaka mineralnih materija.

U toku termičke obrade hrane smanjuje se i sadržaj proteina u hrani, verovatno kao posledica denaturacije proteina do koje dolazi usled dejstva visoke temperature. Proteini pšenice imaju manju biološku vrednost od proteina životinjskog porekla, zbog male koncentracije lizina kao esencijalne aminokiseline. Biološka vrednost proteina žitarica dodatno se smanjuje u toku termičke obrade, najverovatnije kao rezultat Maillardovih reakcija (Kasarda i sar., 1978; Mauron, 1981; Pedersen i Eggum, 1983). Steve (2012) je ispitivao uticaj procesa klijanja i fermentacije pšenice na sadržaj proteina u pšeničnom brašnu.

Rezultati su pokazali da se klijanjem pšeničnog zrna na sobnoj temperaturi u trajanju od 4 h i fermentacijom na sobnoj temperaturi u trajanju od 3 dana povećava sadržaja proteina, čime se poboljšava kvalitet pšeničnog brašna. Tako se sadržaj proteina od 10,77 g/100 g suve mase brašna koliki je u sirovom pšeničnom brašnu povećava nakon klijanja i fermentacije povećava na 13,50, odnosno 13,70 g/100 g suve mase brašna. Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima Enujiugha i sar. (2003) i Fasasi (2009), koji su došli do zaključka da klijanje i fermentacija pozitivno utiču na poboljšanje kvaliteta prehrambenih proizvoda u pogledu sadržaja proteina dobojenim od ovakve pšenice. Povećanje sadržaja proteina nakon procesa fermentacije može se objasniti činjenicom da prisutni mikroorganizmi koriste prisutne ugljene hidrate za sintezu aminokiselina potrebnih za njihov rast i razvoj. Sa druge strane u toku fermentacije istovremeno dolazi do smanjenja nenutritivnih sastojaka u pšeničnom brašnu poput oksalata i tanina (Obizoba, 1988).

Jaworska i sar., (2011) ispitivali su kako obrada pečuraka (blanširanje) i skaladištenje mogu da utiču na sastav aminokiselina kod konzervisanih pečuraka.

Ispitali su dve vrste pečuraka i to *Boletus edulis* i *Agaricus bisporus*. U toku procesa konzervisanja sadržaj proteina se smanjuje i to uglavnom zbog rastvaranja proteina u slanom rastvoru. Sadržaj sirovog proteina (Nx4,38) pre obrade i konzervisanja vrganja bio je 23,78 g/100 g suve mase (Braaksma i Schaap, 1996).

Konzervirane pečurke su zatim ostavljene da stoje 12 meseci, nakon čega je sadržaj sirovog proteina iznosio 22 g/100 g suve mase, što ukazuje na gubitak proteina od oko 7,5%. Konzervisanje pečuraka i skladištenje dovodi i do gubitka amino kiselina u vrganju i taj gubitak iznosi 1,885-2,357 g/100 g sveže mase.

U literaturi nema podataka o uticaju načina obrade na sadržaj mineralnih materija u vrganju, ali ima o uticaju obrade na sadržaj mineralnih materija u drugim pečurkama.

Tako na primer Ziarati i Rabizadeh (2013) ispitivali su uticaj različitih metoda obrade na sadržaj esencijalnih mineralnih materija u *Agaricus bisporus*. Oni su ispitivali sadržaj Se, Zn, Cu, Ca, Fe, Mg i Mn pre i posle obrade. Od metoda obrade koristili su kuvanje, prženje i mikrotalasnu obradu. Sadržaj Se, Zn, Cu, Ca, Fe, Mg i Mn u *Agaricus bisporus* u svežem stanju bio je 3,11; 125,77; 56,44; 879,11; 66,24; 1434,09 i 5,77 mg/kg suve mase, redom.

Nakon završenog procesa obrade hrane zaključci su bili da različite metode obrade različito utiču na sadržaj pomenutih mineralnih materija.

Nakon kuvanja, prženja i mikrotalasne obrade sadržaj mineralnih materija je bio sledeće: Se (3,54; 3,41; 2,77 mg/kg suve mase), Zn (153,44; 156,44; 133,09 mg/kg suve mase), Cu (59,4; 59,99; 42,11 mg/kg suve mase), Ca (805,16; 834,66; 764,32 mg/kg suve mase), Fe (62,11; 69,45; 60,32 mg/kg suve mase), Mg (1564,01; 1544,32; 1328,37 mg/kg suve mase) i Mn (6,43; 7; 4,39 mg/kg suve mase), redom.

Rezultati pokazuju da je nakon kuvanja sadržaj Ca i Fe u ispitivanom uzorku bio manji, a sadržaj ostalih mineralnih materija veći u odnosu na sadržaj pre obrade hrane, dok je nakon prženja sadržaj Ca bio manji, a sadržaj ostalih mineralnih materija veći.

2. EKSPERIMENTALNI DEO

2.1. Materijal

2.1.1. Pšenično brašno i brašno vrganja (*Boletus edulis* Bull.)

Za analizu je korišćeno pšenično brašno (PŠ), tip 500, "Fidelinka", Subotica, Srbija, kupljeno u lokalnoj prodavnici, sa sadržajem vlage od maksimalno 15%, sadržajem pepela od 0,46-0,55% i stepenom kiselosti maksimalno 3,00, prema specifikaciji proizvođača.

Brašno vrganja (VRG) dobijeno je od pečurke *Boletus edulis* Bull. ubrane 2010. godine sa teritorije Piskupovo, Leskovac, Srbija. Sveža pečurka je najpre sušena na sobnoj temperaturi u trajanju od 3 dana, i na temperaturi od 35° C (ELVAK, sušilnik, Slovenija) u trajanju od 3-4 h. Nakon sušenja pečurka je samlevena i dobijeni materijal prosejan kroz sito otvora veličine 0,5 mm. Ovako dobijeni materijal korišćen je kao brašno vrganja u daljim analizama.

2.1.2. Priprema uzoraka za analizu

Uzorak testa za ispitivanje uticaja zamesa dobijen je zamesom sa pšeničnim brašnom i od mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30 m/m) sa količinom vode koja je određena na osnovu farinografskih ispitivanja. Testo nakon zamesa je isečeno na komadiće veličine 1,5 cm x 1 cm i komadići testa sušeni su na sobnoj temperaturi u trajanju od 24 h. Nakon sušenja, komadići testa su samleveni i prosejani kroz sito otvora veličine 0,50 mm. Uzorak testa za ispitivanje uticaja termičke obrade dobijen je pečenjem odgovarajućeg uzorka testa nakon zamesa, na 180° C u trajanju od 20 min, a zatim samleven i prosejan kroz sito otvora veličine 0,50 mm. Uzorak proizvoda dobijen od pšeničnog brašna (PP) i mešavine pšeničnog brašna i brašna vrganja (PPV), prema postupku opisanom u poglavlju 2.2.13.

2.1.3. Hemikalije i reagensi

Azotna kiselina, vodonik-peroksid, trihloretilen, kalijum-hidroksid u metanolu, rastvor za celulozu, hloroform i natrijum-sulfat (Zorka Šabac), bakar-sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), kalijum-sulfat (K_2SO_4), koncentrovana sumporna kiselina, fenolftalein, natrijum-hidroksid, methanol (J. T. Baker, Deventer, Holandija), natrijum-hidroksid, hlorovodonična kiselina, etil-aceta, dietil etar, Folin-Ciocalteu reagens (Sigma Aldrich, Steinheim, Nemačka), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal (DPPH) (Sigma Aldrich, Steinheim, Nemačka), sirćetna kiselina, natrijum-karbonat, aluminijum hlorid, gvožđe (III) hlorid, kalijum-heksacijanoferat II, trihlorsirćetna kiselina (Sigma Aldrich, Steinheim, Nemačka), fosfatni pufer, polivinilpolipirolidin (PVPP), kvercetin (Sigma Aldrich, Steinheim, Nemačka), askorbinska kiselina, galna kiselina, hlorogena kiselina, protokatehinska kiselina, vanilinska kiselina, kafeinska kiselina, kumarinska kiselina, ferulinska kiselina, genistinska kiselina (Sigma-Aldrich Chemical Co., Oakville, ON, Kanada).

2.2. Metode

2.2.1. Određivanje sadržaja vlage

Sadržaj vlage određuje se tako što se 10 g uzorka stavi na predhodno izmerenu i osušenu aluminijumsku posudu. Uzorak se zatim suši na temperaturi od 105°C u trajanju od 90-120 min. Nakon sušenja i hlađenja u eksikatoru, Sadržaj vlage se određuje na osnovu razlike mase aluminijumske posude dobijene nakon sušenja i mase prazne posude, i preračuna u g/100 g suve mase uzorka.

2.2.2. Određivanje sadržaja pepela

Prazan lončić za žarenje se žari do konstantne mase i odmeri se 5 g uzorka u lončić sa tačnošću $\pm 0.0001\text{g}$. Lončić sa uzorkom se najpre žari direktno na plameniku, a nakon toga u pećnici na 850°C , do konstantne mase. Sadržaj pepela određuje se na osnovu razlike mase lončića dobijene nakon žarenja i mase praznog lončića, i preračuna u g/100 g suve mase uzorka.

2.2.3. Određivanje sastava pepela

2.2.3.1. Mikrotalasna digestija

Odmeri se oko 0,5 g uzorka direktno u kivetu, doda se 10ml HNO_3 i 2ml H_2O_2 . Pre zatvaranja i ubacivanja kiveta u mikrotalasnu peć, kivete se ostave da stoje oko 10 min u digestoru.

Pored uzoraka pripremljene su i tri slepe probe koje sadrže smešu HNO₃ i H₂O₂ i tretiraju se na isti način kao i uzorci. Temperaturni program mikrotalasne peći prikazan je u tabeli 8.

Tabela 8. Temperaturni program mikrotalasne peći

Korak	Ciljna temperatura (°C)	Max pritisak (bar)	RAMP time (min)	HOLD time (min)	Snaga (W)
1	160	30	20	30	800
2	180	30	0	15	800
3	50	30	0	60	800

2.2.3.2. ICP analiza mineralnih materija

2.2.3.2.1. Reagensi i standardni rastvori

Kao noseći gas korišćen je Argon 5,0 (čistoće 99,999%). U tabeli 9 prikazane su odabrane talasne dužine detekcije za svaki element u ispitivanim uzorcima, korelacioni koeficijent (R^2) i limit detekcije (LD).

Pored uzoraka za analizu ranije su pripremljeni i kalibracioni standardi. Za pripremu rastvora za kalibraciju korišćen je Multistandard IV – multielementarni standardni rastvor (Merck, Nemačka), koji sadrži Al, As, B, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Ti, V i Zn u koncentracijama od 1000 ppm.

Tabela 9. Parametri kalibracione prave za određivane elemente

Naziv elementa	Talasne dužine za detekciju (nm)	Korelacioni koeficijent (R^2)	Limit detekcije ($\mu\text{g/L}$)
B	182,641	0,99999	6,43
	249,773	0,99999	
Ba	233,527	0,99995	0,183
	183,801	0,99995	
Ca	396,847	0,99946	2,14
	224,700	0,99999	
Cu	324,754	0,99999	0,259
	259,941	0,99997	
Fe	259,941	0,99997	0,118
In	325,609	1,00000	4
K	404,721	0,99998	0,378
	766,491	0,99999	
Li	323,261	1,00000	$5,75 \times 10^{-2}$
	670,780	0,99997	
Mg	279,553	0,99997	0,115
	285,213	0,99994	
Mn	257,611	0,99992	$3,57 \times 10^{-2}$
	330,237	0,99994	
Na	598,592	0,99989	4,75
	407,771	0,99998	
Sr	407,771	0,99998	$6,23 \times 10^{-3}$
Zn	213,856	0,99997	$8,2 \times 10^{-2}$

Priprema standardnih rastvora za ispitivanje odabranih elemenata vršena je razblaživanjem multistandarda IV, tako da su koncentracije standarda za izradu kalibracionih dijagrama bile u opsegu očekivanih koncentracija ispitivanih elemenata.

2.2.3.2.2. Analiza uzoraka

Sva merenja su vršena na ICP-OES (*Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry*, ARCOS FHE12, SPECTRO, Germany), metodom kvantitativne analize, u skladu sa uputstvima proizvođača. Radni uslovi ICP-OES instrumenta i parametri za određivanje koncentracije odabranih elemenata su dati u tabeli 10.

Tabela 10. Operativni uslovi za ICP-OES

Snaga plazme (W)	1400
Protok gasa (L/min)	
-Coolant	13
-Auxiliary	0,80
Tip nebulajzera	Cross flow
Protok nebulajzera (L/min)	0,95
Brzina pumpe	30
Stabilizaciono vreme (s)	0
Broj proba za svako merenje	3
Pravac posmatranja plazme	aksijalni

2.2.4. Određivanje sadržaja celuloze (po Scharrer-Kirshner-u)

Odmeri se 1g uzorka koji se prenese u tikvicu, dodaje se 25 cm³ rastvora za celulozu, tikvica se spoji sa povratnim hladnjakom i kuva se 30 minuta. Za vreme kuvanja tikvicu promućkati kako bi se skinuli delići sa zidova. Posle kuvanja rastvor se filtrira dok je još vruć kroz stakleni lončić za filtriranje (1G-3) koji je predhodno osušen i izmeren. Filtriranje se vrši uz slabo evakuisanje. Lončić se najpre ispere vrućim reagensom, zatim vrućom vodom i na kraju etanolom. Suši se na 105 - 110 °C do konstantne mase. Posle hlađenja izmeri se masa lončića. Razlika u masi lončića sa sirovim vlaknima i praznog lončića, daje sadržaj sirovih vlakana zajedno sa inkrustiranim mineralnim materijama u izmerenoj količini ispitivanog uzorka (Trajković i sar., 1983).

2.2.5. Određivanje sadržaja glutena

Princip određivanja vlažnog glutena se zasniva na ispiranju u rastvoru kuhinjske soli i mehaničkom pritisku testa, čime se ono oslobađa rastvorljivih sastojaka i skroba, zaostaje gumasta masa glutena, glijadin i glutenin, nerastvorljiva u rastvoru kuhinjske soli (Trajković i sar., 1983).

Na tehničkoj vagi se odmeri 50 g brašna sa tačnošću $\pm 0,01\text{g}$, prebaci u avan i pipetom doda oko 25 ml vode i umesi homogeno testo tako da na zidovima ne zaostaje brašna. Zames testa treba da traje najmanje 4 minuta. Testo se oblikuje u lopticu i ostavi da stoji 30 minuta na sobnoj temperaturi. Testo se zatim ručno ispira 2% rastvorom NaCl, koji u početku ističe kap po kap, a kasnije u tankom mlazu. Testo se ispira gnječenjem između prstiju. Delovi testa koji se sa rastvorom odvoje od osnovne mase zaostaju u situ i povremeno se skupljaju i vraćaju u uzorak. Posle slanog rastvora, ispiranje se završava pod mlazom česmenske vode. Kraj ispiranja se kontroliše tako što se iz gumaste kuglice glutena istiskuju kapi tečnosti iznad čaše vode. Ako kapi mute vodu, skrob je još uvek prisutan u uzorku i ispiranje treba nastaviti. Ispiranje treba završiti za 10 do 12 min. Kada je ispiranje završeno, gluten se najpre osuši između dlanova dok ne počne da se lepi, a zatim se sušenje dovrši presom, tako što se dvadesetak puta pritisne između ploča, uz stalno premeštanje pincetom na suvo mesto. Ploče se povremeno obrišu suvom krpom. Osušeni gluten se stavlja na sahatno staklo, prethodno izmerene mase i izmeri ukupna masa. Razlika između dve mase je masa tzv. vlažnog glutena.

$$SVG(\%) = \frac{a \times 100}{m}$$

Sadržaj vlažnog glutena izražava se u % i izračunava po sledećoj formuli:
gde je:

a - masa vlažnog glutena nakon ispiranja (u g), m - masa uzorka brašna uzeta na ispitivanje (u g).

Sadržaj glutena: ispod 14%, označava se kao vrlo mali; 14-20%, kao mali; 20-24%, zadovoljavajući; 24-27%, dobar i preko 27%, kao vrlo dobar.

Sadržaj suvog glutena dobija se nakon sušenja sirovog glutena na 150 °C (ELVAK, sušilnik, Slovenija) u toku 1,5 h (Trajković i sar., 1983).

2.2.6. Određivanje lipida

2.2.6.1. Ekstrakcija lipida

Za ekstrakciju lipida uzima se 5 g uzorka i stavi u balon u kome se doda 50 ml trihloretilena. Balon se stavi na aparaturu za ekstrakciju uz refluks i počne se sa zagrevanjem. Od momenta ključanja ekstrakcija se nastavlja još 30 min. Sadržaj iz balona se nakon hlađenja filtrira, izmeri zapremina filtrata, a filtrat upari na vakuum uparivaču (IKA-WERKE, Staufen, Nemačka) do uljanog ostatka.

2.2.6.2. Određivanje sadržaja lipida

Sadržaj lipida određuje se tako što se uzima 6 ml filtrata koji je dobijen u postupku ekstrakcije lipida, i stavi se u predhodno osušenu i izmerenu aluminijumsku posudu. Uzorak se zatim suši na temperaturi od 105⁰ C do konstantne mase. Sadržaj lipida određuje se na osnovu razlike mase aluminijumske posude dobijene nakon sušenja i mase prazne posude, i preračuna u g/100 g suve mase uzorka.

2.2.6.3. Određivanje sastava masnih kiselina

2.2.6.3.1 Dobijanje metil-estara masnih kiselina

Metil-esti za gasnohromatografsku analizu sastava masnih kiselina dobijeni su po modifikovanom postuku Liu (1994) tako što se odmeri oko 3 g uljanog ostatka dobijenog u postupku ekstrakcije lipida u balon od 100cm³, doda se 50 cm³ bezvodnog metanola i 1 cm³ 1 M KOH u metanolu. Sadržaj se zagreva da ključa uz povratni hladnjak uz mešanje na magnetnoj mešalici, u trajanju od 10 min. Zatim se mešanje prekine i preko hladnjaka doda 30 cm³ vode. Sadržaj se prenese u levak za odvajanje, balon ispere smešom od 20 cm³ vode i 20 cm³ hloroforma i sipa u levak za odvajanje. Hloroformska faza se posle izdvajanja ispira dva puta sa po 10 cm³ vode i hloroformski rastvor metil estara masnih kiselina osuši preko bezvodnog Na₂SO₄. U slučaju pojave emulzije, emulzija se propusti kroz bezvodni Na₂SO₄ (10 g) i hloroformski ekstrakt ispira sa još 10 cm³ vode i propušta kroz bezvodni Na₂SO₄. Rastvarač se otpari u vakuumu (IKA-WERKE, Staufen, Nemačka) na temperaturi 30-40° C i suši u sušnici (ELVAK, sušilnik, Slovenija) na 40° C u toku 15 minuta. Ovako pripremljeni metil-estri analiziraju se gasnom hromatografijom.

2.2.6.3.2. Gasnohromatografska analiza

Za analizu sastava metil-estara uljanog ostatka korišćen je Hewlett-Packard 6890 N gasni hromatogram sa kapilarnom kolonom HP-5MS (5% fenilmetilsiloksan, 30 m x 0,25 mm, debljine 0,25 μm, Agilent Technologies, USA) i detektorom 5975B iste kompanije. Radna temperatura injektora je 250° C. Brzina zagrevanja je 5 °C/min. Početna temperatura je 150 °C, zatim se povećava do temperature od 340 ° C i održava se na toj temperaturi narednih 10 min. Noseći gas je He sa protokom od 1 ml/min. Uljani ostatak rastvoren u dietil-etru (10 mg/ml). Zapremina injektiranja bila je 1 μL. U prvih 0,5 min, protok je bio 1,5 ml/min, a zatim 1,0 ml/min, pri split ratio 40:1). Masne kiseline se identifikuju poređenjem retencionih vremena komponenata sa standardima, a procentualni sastav uljanog ostatka dobijen je na osnovu površine GC pika bez korekcije (Stojanović i sar., 2011).

2.2.6.4. *Određivanje sastava acilglicerola HPLC metodom*

Za HPLC analizu acilglicerola korišćen je modifikovan HPLC metod Holčapek i sar., (1999). Aparatura se sastoji od hromatografa, opremljenog degaserom, binarnom pumpom, kolonom Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,4 m x 150 mm x 5 µm) i UV/VIS detektorom. Brzina proticanja binarne smeše rastvarača (metanol, rastvarač A i 2-propanol/n-heksan u zapreminskom odnosu 5:4, rastvarač B) je 1ml/min sa linearnim gradijentom (od 100% A do 40% A + 60% B za 15min). Temperatura kolone se održava konstantnom na 40° C. Komponente se detektuju na 205 nm. Uzorci reakcione smeše se rastvaraju u smeši 2-propanol/n-heksan, 5:4 v/v i filtriraju kroz Millipore filtere prečnika 0,45µm (Holčapek i sar., 1999).

2.2.7. *Određivanje sadržaja ukupnih proteina mikro Kjeldahl-ovom metodom*

Sadržaj ukupnih proteina određuje se tako što se odmeri 100 mg ispitivanog uzorka, koji se zatim stavi u tikvicu po Kjeldahl-u i doda 10 ml koncentrovane H₂SO₄ i 10 g smeše katalizatora (10 g CuSO₄·5H₂O + 33,3 g K₂SO₄).

Nakon toga vrši se „spaljivanje“ proteina koje se završava kada rastvor postane potpuno bistar. Po završetku „spaljivanja“ tikvica se montira na aparaturu za određivanje azota po Kjeldahl-u (Trajković i sar., 1983).

U erlenmajer se stavi 30 ml 0,01 mol/dm³ H₂SO₄ uz dodatak par kapi fenolftaleina kao indikatora. Nakon toga u levak se sipa 10 ml 50 % NaOH. Dodavanje baze se vrši oprezno i kada se doda zadnja kap slavina se naglo zatvori. Dodavanjem baze oslobađa se amonijak. Erlenmajer se lagano zagreva plamenikom preko azbestne mrežice, tako da tečnost u tikvici lagano ključa. Gasoviti amonijak destiluje se zajedno sa vodom i apsorbuje se u erlenmajeru. Destilacija traje oko 20 minuta. Nakon završene destilacije erlenmajer se skine sa aparature i sadržaj titriše sa 0,02 mol/dm³ NaOH do promene boje indikatora u ružičastu, sadržaj preračuna po formuli:

Sadržaj proteina (%) = % N x 5,7 (%) , gde je:

$$\%N = \frac{(aF_1 - bF_2) \times 0,28 \times 100}{P}$$

a – ml 0,01 mol/dm³ H₂SO₄,

b – ml 0,02 mol/dm³ NaOH,

P – odvaga uzorka u mg,

F₁ – faktor molarne koncentracije H₂SO₄,

F₂ – faktor molarne koncentracije NaOH.

2.2.8. Ekstrakcija polifenola

2.2.8.1. Ekstrakcija slobodnih polifenola

Odmeri se 5 g uzorka i doda 40 ml 70% metanola. Ekstrakcija se izvodi 24 h na sobnoj temperaturi uz povremeno mešanje na magnetnoj mešalici. Nakon toga se ekstrakt filtrira, filtrat dopuni do 40 ml metanolom uz ispiranje uzorka i koristi u daljim analizama.

2.2.8.2. Ekstrakcija vezanih polifenola

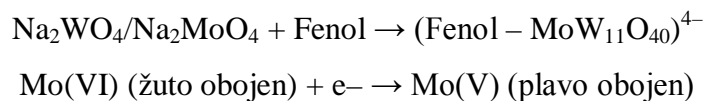
Za ekstrakciju vezanih polifenolnih jedinjenja korišćena je metoda Verman i sar. (2009) Uzorku nakon izdvajanja slobodnih polifenola (5 g) se doda 150 ml destilovane vode i 50 ml 6M NaOH i ostavi 24 h na sobnoj temperaturi. Nakon stajanja pH smeše podesi na 2 pomoću 5M HCl, doda 250 ml smeše dietil etra i etil acetata u odnosu 1:1 (v/v) i ostavi 3 sata uz povremeno mešanje. Zatim se ekstrakt dekantuje, upari do suva na vakuum uparivaču i suvi ostatak rastvori u 10 ml metanola.

2.2.8.3. Određivanje sadržaja suvog ostatka ekstrakta

Ekstrakt slobodnih i vezanih polifenola (3 ml) ulije se u aluminijsku posudu i suši na temperaturi od 105° C do konstantne mase. Sadržaj suvog ostatka se određuje na osnovu razlike mase aluminijske posude dobijene nakon sušenja i mase prazne aluminijske posude i izražava u procentima.

2.2.8.4. Određivanje sadržaja ukupnih fenola

Sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima određen je metodom po Folin-Ciocalteu (Lin i Tang, 2007; Stanojević i sar., 2009). Metoda po Folin-Ciocalteu je zasnovana na merenju redukujućeg kapaciteta polifenolnih jedinjenja, čijom disocijacijom nastaje proton i fenoksidni anjon. Nastali fenoksidni anjon redukuje Folin-Ciocalteu reagens do plavo obojenog jona (Fenol-MoW₁₂O⁴⁰)⁴⁻:



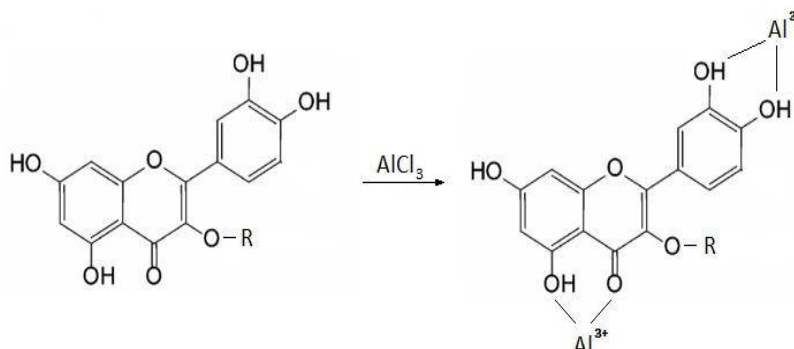
Reakciona smeša priprema se tako što se u uzorke ekstrakata I i II (0,5 ml) dodaje 4,5 ml destilovane vode i 0,5 ml Folin-Ciocalteu reagensa. Ovako pripremljena reakciona smeša ostavi se da stoji 5 min na sobnoj temperaturi. Nakon toga, daodaje se 5 ml 7,5% Na₂CO₃ i inkubira 90 min na sobnoj temperaturi, nakon čega se meri apsorbancija na 765 nm. Kao slepa proba koristi se smeša u kojoj se umesto ekstrakta koristi 0,5 ml destilovane vode.

Ukupan sadržaj fenola u analiziranim uzorcima izražen je kao mg ekvivalenta galne kiseline po g suvog ekstrakta \pm standardna devijacija (mg EGK/g \pm SD), na osnovu kalibracione prave dobijene sa rastvorima galne kiseline koncentracije 10 do 300 μ g/ml kao standardom (slika P1 u prilogu).

2.2.8.5. Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida

Sadržaj ukupnih flavonoida određen je spektrofotometrijskom metodom sa aluminijum (III)-hloridom (Lin i Tang, 2007; Stanojević i sar., 2009). Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida zasnovano je na njihovoj osobini da sa metalima daju odgovarajuće metalo-komplekse, pri čemu je naročito važan Al-kompleks (slika 21) (Gulcin, 2012).

Reakciona smeša priprema se tako što se u uzorke ekstrakata I i II (2 cm³) dodaje 0,1 cm³ 10 % rastvora AlCl₃ heksahidrata, 0,1 cm³ 1M CH₃COOK i 2,8 cm³ destilovane vode. Nakon inkubacije od 40 minuta na sobnoj temperaturi merena je absorbanca reakcione smeše na 415 nm. Kao slepa proba koristi se smeša u kojoj se umesto ekstrakta dodaje 2 cm³ destilovane vode. Ukupan sadržaj flavonoida u analiziranim uzorcima izražen je kao mg ekvivalenta kvercetina po g suvog ekstrakta \pm standardna devijacija (mg QE/g \pm SD) na osnovu kalibracione prave, dobijene sa rastvorima kvercetina koncentracije 10 do 50 μ g/ml (slika P2 u prilogu).

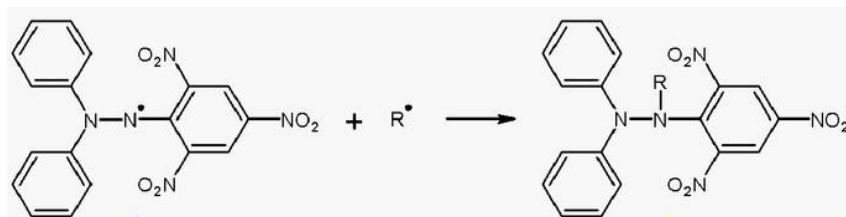


Slika 21. Kompleks flavonoida sa metalima (Gulcin, 2012)

2.2.9. Određivanje antioksidativne aktivnosti

2.2.9.1. Određivanje kapaciteta neutralisanja DPPH radikala

Sposobnost neutralisanja DPPH[•] (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikala određena je primenom spektrofotometrijske metode (Mensor i sar., 2001) koja je zasnovana na praćenju promene boje ljubičasto obojenog rastvora stabilnog DPPH[•] radikala u redukovanu, žuto obojenu formu, DPPH-H. Pojava žute boje objašnjava se sposobnošću pojedinih komponenata da deluju kao donori vodonika ili elektrona, pri čemu DPPH[•] prelazi u redukovani neutralni DPPH-H oblik (slika 22) (Mensor i sar., 2001).



Slika 22. Radikalna i redukovana forma DPPH radikala (Mensor i sar., 2001)

Za razliku od laboratorijski generisanih slobodnih radikala, kao što su superoksid i hidroksil radikal, upotreba ovog stabilnog radikala ima svoje prednosti jer na njega ne mogu uticati sporedne reakcije (heliranje od strane metala ili enzimska inhibicija).

Metanolni rastvor ekstrakta I i II u različitim koncentracijama ($2,5\text{cm}^3$) pomeša se sa 1cm^3 rastvora DPPH radikala u metanolu ($C = 3 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$), ostavi da se inkubira 20 min na sobnoj temperaturi i zatim se meri apsorbanca na 517 nm.

Kao slepa proba koristi se 95% metanol. Antioksidativna aktivnost određena primenom ove metode izražava se preko RSC vrednosti (kapacitet “hvatanja” radikala ili *Radical Scavenging Capacity*), koja se izračunava primenom jednačine:

$$\text{RSC (\%)} = 100 - \left[(A_U - A_B) \times \frac{100}{A_K} \right]$$

gde je:

A_U - apsorbanca „uzorka“ na 517 nm („uzorak“- inkubirana smeša DPPH radikala i ekstrakta),

A_B - apsorbanca „blank-a“ na 517 nm („blank“- ekstrakt u metanolu, razblažen na sledeći način: $2,5 \text{ cm}^3$ ekstrakta date koncentracije + 1cm^3 metanola),

A_K - apsorbanca „kontrole“ na 517 nm („kontrola“- metanolni rastvor DPPH radikala (razblažen u odnosu 1cm^3 DPPH radikala koncentracije $3 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ + $2,5 \text{ cm}^3$ metanola).

IC_{50} vrednost (mg/ml) definisana je kao koncentracija ekstrakta potrebna da reaguje sa 50% DPPH radikala (RSC=50%), pri prethodno definisanim eksperimentalnim uslovima i određena primenom programa Microsoft Excel ed50plus v1.0 software (Mario H. Vargas, Instituto Nacionale de Enfermedades Respiratorias).

Kapacitet neutralisanja DPPH radikala ispitivanih uzoraka poreden je sa kapacitetom neutralisanja askorbinske kiseline i butil-hidroksi anizola kao standarda. Na slici P3 i P4 u prilogu prikazan je DPPH test sa askorbinskom kiselinom i BHA kao standardom.

2.2.9.2. Određivanje redukcijske snage

Redukcijska snaga ispitivanih ekstrakata određena je prema *Reducing power* metodi po Yen i Chen, (1995). Ova metoda zasniva se na praćenju redukcijske sposobnosti ispitivanog uzorka za transformaciju $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$. Kao mera reduktivne sposobnosti koristi se IC_{50} vrednost koja predstavlja koncentraciju ispitivanog uzorka pri kojoj se postiže vrednost apsorbanca od 0,5 na talasnoj dužini od 700 nm. Reakciona smeša priprema se tako što se uzima 2,5 ml ekstrakta I i II koncentracije 0,2-5 ml/mg, doda se 2,5 ml 0,2M fosfatnog pufera pH 6,6 i 2,5 ml 1% $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Dobijena smeša inkubira se 20 min na temperaturi od 50°C. Nakon završene inkubacije smeši se dodaje 2,5 ml 10% trihlorsirćetne kiseline i smeša centrifugira 10 min na 3000 obrt/min. Nakon centrifugiranja uzima se 2,5 ml supernatanta, i doda se 2,5 ml redestilovane vode i 0,5 ml 0,1% FeCl_3 . Apsorbanca dobijene reakcione smeše meri se na 700 nm. Slepa proba se priprema na isti način kao i uzorak, samo što se umesto ekstrakta koristi desilovana voda.

Redukcijska snaga ispitivanih uzoraka definisana je koncentracija ekstrakta (mg/ml) potrebna za postizanje vrednosti apsorbanca od 0,5, i iskazana kao IC_{50} vrednost. Redukcijska snaga ispitivanih ekstrakata upoređena je sa redukcionom snagom butil-hidroksi anizola kao standarda (slika P5 u prilogu).

2.2.10. Određivanje sadržaja pojedinih fenolnih kiselina

Određivanje pojedinih fenolnih kiselina u ekstraktima urađeno je na aparatu Agilent 1100 Series HPLC, po metodi Amakura i sar., (2000). Korišćena je kolona Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,4 m x 150 mm x 5 μm) i UV/VIS detektor. Zapremina injektirana bila je 30 μl , a hromatogrami su snimljeni na talasnoj dužini od 280 nm. Temperatura kolone bila je 40°C. Kao mobilna faza korišćen je smeša rastvora kalijum-dihidrogenfosfata (5 mM, pH 2,5) i acetonitrila, 41:9 v/v, pri protoku od 1 cm^3/min . Polifenolne komponente prisutne u uzorcima su identifikovane poređenjem njihovih retencionih vremena i spektara sa retencionim vremenom i spektrom standarda za svaku fenolnu kiselinu. U tabeli P1 i na slici P6 u prilogu date su molekulske i strukturne formule ispitivanih fenolnih kiselina. Za svaku kiselinu (hlorogenu, galnu, protokatehinsku, kafeinsku, genistinsku i *trans*-ferulinsku), pojedinačno pripremljena je serija rastvora koncentracije 50-300 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ i konstruisana kalibraciona prava kao zavisnost površine pikova od koncentracije standarda (slike P7-P12). Sadržaj pojedinih fenolnih kiselina u ispitivanim uzorcima dobijen je proračunom na osnovu površine pika uzorka i jednačine linearne zavisnosti standardnih rastvora.

2.2.11. Određivanje sadržaja tanina

Za određivanje sadržaja tanina korišćena je metoda sa polivinil-polipirrolidinom (PVPP) koji vezuje tanine. Reakciona smeša priprema se tako što se uzima 1 ml pripremljenog ekstrakta I i II u kome je sadržaj ukupnih fenola predhodno određen i dodaje se 0,1 g PVPP. Ovako dobijena smeša meša se na vorteksu i inkubira 15 min na 4° C. Nakon završene inkubacije smeša se centrifugira 10 min pri čemu je broj obrtaja 3000 min⁻¹. Nakon centrifugiranja uzima se supernatant u kome se određuje sadržaj fenola po postupku opisanom u poglavlju 2.2.8.4. Sadržaj tanina u ispitivanom ekstraktu određuje se iz razlike sadržaja fenola pre centrifugiranja i nakon centrifugiranja (Makkar i sar., 1993).

2.2.12. Reološka ispitivanja testa

2.2.12.1. Farinografska ispitivanja

Određivanje kvaliteta brašna farinografom zasniva se na registrovanju promena fizičkih osobina testa u toku određenog vremena mešanja. Termostat i cirkulaciona pumpa se uključe 30 do 60 min pre početka rada. Pre početka rada se prekontroliše aparat i tek tada se pristupa izradi farinografske krive.



Slika 23. Farinograf Brabender, model 8 10 101, Duisburg, Nemačka

Na vagi se izmeri tačno 300 g brašna ili odgovarajuća mešavina pšeničnog i brašna vrganja. Mesilica se pusti u rad, uključena na brzinu 2, pisac podesi da piše po nultoj liniji i ostavi da piše jedan minut. Ne isključujući mesilicu, dodaje se 300 g brašna tj. mešavine. Brašno tj. Mešavina se meša i temperira najmanje jedan minut. Bireta kao i njen vrh ispod slavine napuni se vodom zagrejanom do 30° C. Pri potpuno otvorenoj bireti u donji desni ugao mesilice dodaje se 50 do 60% vode, računato na brašno, što zavisi od kvaliteta brašna. Mesilica se poklopi i kada se obrazuje testo, zidovi mesilice se očiste plastičnom lopaticom i mesilica se ponovo poklopi. Ako je sredina krive u maksimumu manja od 490 FJ ili veća od 510 FJ, mešenje se prekida. Novi zames se radi sa korigovanom količinom vode.

Korekcija se vrši pomoću Tiborove tabele (očitavaju se ml vode koje treba oduzeti ako je konzistencija ispod 490 FJ, tj. dodati, ako je konzistencija veća od 510 FJ). Kada pri zamesu testa u maksimumu sredina krive postigne konzistenciju od 490-510 FJ, nastavlja se registrovanje krive ukupno 15 min od momenta početka dodavanja vode u mesilicu.

Na osnovu moći upijanja vode određuje se količina vode koju treba dodati brašnu odnosno odgovarajućoj mešavini u toku zamesa testa (Đaković, 1998).

2.2.12.2. Ekstenzografska ispitivanja

Termostat i cirkulaciona pumpa se uključe 1 sat pre početka rada, da bi farinograf i ekstenzograf postigli radnu temperaturu. Udubljenje na stalku za kalupe u komoricama ekstenzografa napuni se vodom. U farinografskoj mesilici zamesi se testo od 300 g brašna, 6 g kuhinjske soli i vode. Način rada je isti kao i pri izradi farinografa, s tim što se potrebna količina vode sipa u čašu u koju je stavljena so. So se rastvori i iz čaše se rastvor soli temperature na 30° C, sipa u prednji desni ugao mesilice za vreme od oko 15 sec. Posle 5 min mešenje se prekida.



Slika 24. Ekstenzograf Brabender, model 8600-01, Duisburg, Nemačka

Sredina krive treba da se nalazi na 500 ± 10 FJ. Ako nije postignuta tražena konzistencija, postupak izrade testa se ponavlja, a korekcija dodate vode se odredi na osnovu tabele po Tiboru. Testo konzistencije od 500 ± 10 FJ se izvadi iz mesilice i odmere se dva komada od po 150 ± 1 g.

Svaki deo se odvojeno stavi u homogenizator i dvadeset puta okrene. Zatim se izvadi iz homogenizatora, malo pospe skrobom, stavi donjom stranom lopte na sredinu valjka i oblikuje. Oblikovani cilindar se stavi na sredinu kalupa, koji je prethodno podmazan tankim slojem parafinskog ulja. Viljuškama se čvrsto pritisne testo i stavi u temperiranu komoricu aparata. Signalni sat se navije na 45 min. Drugi komad testa se oblikuje na isti način i stavi u komoricu na postolje za kalupe. Nakon 45 min od ubacivanja prvog oblikovanog komada testa u komoricu, prvi kalup se postavi na odgovarajući ležaj sistema poluga.

Pisač se podese da piše po nultoj liniji i kuka za istežanje se stavi u pogon. Testo se isteže i kida, a otpor koji pruža registruje se na dijagramskoj hartiji. Kretanje kuke se prekida kada se testo pokida. Kalup se ukloni sa sistema poluga, kuka se ponovo vrati u početni položaj, a dijagramska hartija se vrati na početnu tačku linije rastezanja. Testo se izvadi iz kalupa, ponovo se homogenizuje i oblikuje. Signalni sat se ponovo navije na 45 min. Postupak se ponovi na drugi komad testa.

Postupci rastezanja, ponovnog homogenizovanja i oblikovanja ponavljaju se nakon odležavanja oba komada testa u komori tokom 90 min. Poslednje rastežanje je nakon odležavanja od 135 min (Đaković, 1998).

2.2.12.3. Amilografska ispitivanja

Pored ekstenziografa još jedan instrument koji se koristi za merenje jačine brašna je amilograf. Suspenzija od 80 g brašna i 450 ml destilovane vode se stavlja u odgovarajući sud. Početna temperatura supenzije je 25° C, a vreme pripreme je 1,5 min.



Slika 25. Amilograf Brabender PT 100, Duisburg, Nemačka

Oko posude su smešteni električni grejači koji suspenziju brašna zagrevaju određenom brzinom: na svaki minut, temperatura suspenzije treba da poraste za 1,5° C. Temperatura se povećava do 95° C, a zatim se održava konstantnom (Đaković, 1998).

2.2.13. Priprema proizvoda od čistog pšeničnog brašna i mešavine pšeničnog i brašna vrganja

Proizvod od mešavine pšeničnog i brašna vrganja (PPV) priprema se po sledećoj recepturi. Uzima se 350 g pšeničnog brašna i 150 g brašna vrganja (odnos 70:30, m/m) dodaje se 50 g margarina, 150 g šećera, 5 g praška za pecivo i sve to pomeša sa 200 ml česemske vode. Uzorak se ostavi da odstoji 15-20 min, nakon toga razvlači se kora debljine 1 cm i okruglom modlicom prečnika 5 cm, oblikuje proizvod. Dobijeni proizvod peče se na 180° C, u trajanju od 15-30 min, po potrebi.

Nakon hlađenja proizvodu se odredi gubitak mase tokom pečenja, odnos visine i prečnika proizvoda (h/d) i zapremina proizvoda. Određen broj uzoraka PPV suši se na sobnoj temperaturi 24 h, zatim samelje i proseje kroz sito otvora veličine 0,50 mm. Po istoj recepturi zamesi se proizvod samo od pšeničnog brašna (PP), kao kontrolni uzorak.

2.2.13.1. Gubitak mase tokom termičke obrade

Gubitak mase tokom termičke obrade određuje se tako što se izmeri masa svakog uzoraka PPV pre termičke obrade, a zatim se meri masa uzoraka PPV u toku termičke obrade, u različitim vremenskim intervalima (nakon 5, 7, 10, 15 i 20 min). Razlika u masi uzoraka PPV pre i posle određenog vremena pečenja predstavlja gubitak mase tokom pečenja.

2.2.13.2. Određivanje odnosa h/d

Određivanje odnosa h/d predstavlja odnos između visine i prečnika proizvoda, koji karakteriše njegov oblik i predstavlja tzv. „držanje“ (Đaković, 1998).

2.2.13.3. Određivanje zapremine

Za određivanje zapremine uzima se po jedan kolač od svakog uzorka. Seme prosa sipa se u odgovarajuću posudu do vrha i ispod posude staviti podmetač. Nakon pečenja ohladjeni proizvod stavi se na vrh posude i utisne u posudu sa semenom. Zapremina istisnutog semena prosa, tj. zapremina proizvoda, meri se menzurom (Sivam i sar., 2011).

2.2.14. Energetska vrednost

Energetska vrednost hrane je količina energije koja se nalazi u hrani i koja se iskorišćava u procesu digestije. Izražava se u kalorijama (cal) ili kilokalorijama (kcal). U upotrebi je i jedinica kilodžul (kJ) kao oficijalna preporuka svetske zdravstvene organizacije (WHO), pri čemu je: **1000 cal = 1 Cal = 1 kcal = 4.18 kJ**

Energetska vrednost pšeničnog i brašna vrganja dobijena je na osnovu podataka hemijskog sastava brašna i podataka o energetskoj vrednosti pojedinačnih sastojaka (tabela 11).

Tabela 11. Energetska vrednost osnovnih sastojaka namirnica

Sastojak	Energetska vrednost (kJ/100 g)
Usvojivi ugljeni hidrati	17
Proteini	17
Masti	37
Alkohol	29
Polioli (sorbitol, ksilitol i dr.)	10
Organske kiseline	13

Energetska vrednost namirnice računa se kao:

$$\text{EV (kJ/100 g)} = (\% \text{ SUH} + \% \text{ SP}) \times 17 + (\% \text{ SL}) \times 37$$

gde je: **SUH** – sadržaj ugljenih hidrata, **SP** – sadržaj proteina, **SL** – sadržaja lipida.

2.2.15. Statistička obrada podataka

Ispitivaja hromatografskim metodama i ICP analize ponovljene su dva puta, a analize ostalim metodama, tri puta. Rezultati su prikazani kao srednje vrednosti \pm standardna devijacija. Statistička analiza (korelaciona matrica sa koeficijentima i klaster analiza), urađena je primenom programa STATISTICA (version 5.0). Hijerarhijsko stablo (dendrogram) dobijeno je na osnovu Euclideanovih rastojanja, koju odredjena kao:

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_{k=1}^n (x_{ik} - x_{jk})^2}$$

3. REZULTATI I DISKUSIJA

3.1. Hemijski sastav pšeničnog brašna, brašna vrganja i njihovih mešavina

U tabeli 12 prikazan je hemijski sastav pšeničnog brašna i brašna vrganja. Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 12 vidi se da je sadržaj vlage u pšeničnom brašnu približan sadržaju vlage u brašnu vrganja. Sadržaj proteina i sadržaj celuloze u brašnu vrganju je skoro 3,5 puta veći nego u pšeničnom brašnu. Znatno viši sadržaj pepela detektovan je u brašnu vrganja, čak 16,6 puta više nego u pšeničnom brašnu, dok je sadržaj lipida bio 2,3 puta viši. Sadržaj glutena u pšeničnom brašnu iznosi 26,27 g/100g što se na osnovu tumačenja sadržaja glutena označava kao dobar sadržaj. Brašno vrganja je bez glutena i sa znatno višim sadržajem tanina koji je preko 10 puta viši od sadržaja tanina u pšeničnom brašnu. Bez obzira na razlike u sadržaju ispitivanih komponenti, energetska vrednost brašna vrganja je približno ista energetske vrednosti pšeničnog brašna.

Tabela 12. Hemijski sastav pšeničnog brašna i brašna vrganja

Komponenta/Sadržaj	Pšenično brašno	Brašno vrganja
Vlaga (%)	8,49±1,02	8,53±0,87
Proteini (N x 5,7)	8,62±1,52	28,42±1,87
Pepeo (g/100g)	0,41±0,12	6,81±0,78
Lipidi (g/100 g)	0,95±0,17	2,15±0,12
Ugljeni hidrati (g/100 g) *	81,53±12,5	54,09±4,69
Celuloza (g/100 g)	3,38±0,58	11,8±0,96
Vlažni gluten (g/100 g)	19,15±1,96	-
Suvi gluten (g/100 g)	7,12±1,12	-
Ukupni tanini (µg galne kisline/g) **	157,12±17,41	1604,23±123,65
Energetska vrednost (kJ/100 g)	1567,70	1507,75
(kcal/100 g) ***	374,69	360,36

* $100 - (\% \text{Vlage} + \% \text{Pepela} + \% \text{Proteina} + \% \text{Lipida})$

** µg galne kisline po g brašna

*** Faktor konverzije J u cal: 4,184

Rezultati ukazuju da bi zamenom dela pšeničnog brašna brašnom vrganja, proizvod imao veći sadržaj proteina, lipida, celuloze i tanina, a manji sadržaj glutena i ugljenih hidrata.

Nasuprot verovanju da tanini imaju negativno dejstvo na zdravlje i probavu kod čoveka, istraživanja novijeg datuma pokazuju da monomeri i metaboliti tanina mogu povoljno uticati na zdravlje čoveka, jer poseduju antioksidativna i antikancerogena svojstva, pri čemu se mora voditi računa o količini tanina (Shahrzad i sar., 2001). Tanini imaju sposobnost da reaguju sa proteinima (Bravo, 1998; Arts i Hollman, 2005; Lyall i sar., 2009), a u literaturi ima podataka o pozitivnom uticaju tanina na dijabetes (Kumari i Jain, 2012), kao i o uticaju tanina na svojstva testa. Tako dodatak tanina pšeničnom brašnu poboljšava snagu i vreme mešanja testa, u utiču na strukturu proteina brašna i poboljšavaju reološka svojstva testa (Wang i sar., 2015).

U tabeli 13 prikazani su rezultati koji se odnose na hemijski sastav mešavine pšeničnog brašna i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja. Rezultati pokazuju da se zamenom dela pšeničnog brašna brašnom vrganja povećava sadržaj proteina, lipida, pepela, celuloze i tanina, a opada sadržaj ugljenih hidrata i glutena (tabela 12).

Tabela 13. Hemijski sastav mešavine pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja

Komponenta/Sadržaj	Odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja, m/m				
	95:5	90:10	85:15	80:20	70:30
Vlaga (g/100g)	8,49	8,49	8,49	8,49	8,50
Proteini (N x 5,7)	9,61	10,60	11,59	12,58	14,56
Pepeo (g/100g)	0,73	1,05	1,37	1,69	2,33
Lipida (g/100 g)	1,01	1,07	1,13	1,19	1,31
Ugljeni hidrati (g/100 g)*	80,16	78,78	77,44	76,05	73,30
Celuloza (g/100 g)	3,80	4,22	4,64	5,06	5,91
Vlažni gluten (g/100 g)	18,19	17,23	16,27	15,32	13,41
Suvi gluten (g/100 g)	6,76	6,41	6,05	5,70	4,98
Ukupni tanini (µg/g)**	229,47	301,83	374,18	446,54	591,25
Energetska vrednost (kJ/100 g)	1563,43	1559,15	1554,88	1550,60	1542,06
(kcal/100 g)***	373,67	372,65	371,63	370,60	368,56

* $100 - (\% \text{Vlage} + \% \text{Pepela} + \% \text{Proteina} + \% \text{Lipida})$

** µg galne kisline po g brašna

*** Faktor konverzije J u cal 4,184

3.2. Sadržaj glavnih minerala i oligoelemenata u pšeničnom brašnu, brašnu vrganja i njihovim mešavinama

U tabeli 14 prikazan je sadržaj glavnih minerala i oligoelemenata u pšeničnom i brašnu vrganja. Od glavnih minerala u pšeničnom brašnu i brašnu vrganja prisutni su Ca, Mg, Na, K, Cl i S. Sadržaj magnezijuma je u brašnu vrganja znatno viši u odnosu na pšenično brašno (za oko 2,6 puta veći sadržaj).

Tabela 14. Sadržaj glavnih minerala i oligoelemenata u pšeničnom i brašnu vrganja

Sadržaj (mg/kg)	Glavni minerali		Sadržaj (mg/kg)	Oligoelementi	
	Pšenično brašno	Brašno vrganja		Pšenično brašno	Brašno vrganja
Ca	232,39±32,56	388,36±52,31	B	4,59±0,65	5,79±0,56
Mg	253,19±65,25	661,87±52,63	Ba	3,14±0,78	13,57±1,54
Na	41,52±3,25	196,11±25,12	Cu	1,89±0,15	11,27±1,25
K	1245,29±145,62	14875,17±165,71	Fe	47,7±12,3	2969,36±125,69
			In	2,09±0,96	5,08±1,02
			Li	1,09±0,09	1,29±0,23
			Mn	1,99±0,08	104,79±10,25
			Sr	1,09±0,45	3,09±1,05
			Zn	9,48±0,67	22,64±3,21

Veći sadržaj magnezijuma je od značaja za zdravlje čoveka, jer je magnezijum četvrti mineral po količini prisutan u telu čoveka i ima bitnu ulogu u velikom broju biohemijskih i fizioloških procesa u organizmu (omogućava normalno funkcionisanje mišića i nervnog sistema i normalan rad srčanog ritma). Nedostatak utiče na aritmiju, a može dovesti do infarkta miokarda (Shils, 1999). Smatra se da reguliše i nivo šećera u krvi i da utiče na krvni pritisak (Saris i sar., 2000). Epidemiološka istraživanja pokazuju da magnezijum igra značajnu ulogu u regulaciji krvnog pritiska (IOM, 1999). Magnezijum doprinosi zdravlju kardiovaskularnog sistema i pomaže u prevenciji od srčanih napada. Takođe se smatra da visok dnevni unos magnezijuma u organizam smanjuje rizik od moždanog udara (Ascherio i sar., 1998).

U brašnu vrganja sadržaj kalijuma je za oko 12 puta veći od sadržaja u pšeničnom brašnu, a poznato je da je kalijum značajan za metabolizam ugljenih hidrata, membranski transporta i održavanje razlika potencijala kroz ćelijsku membranu (Veljković i Vučković, 2010).

Od oligoelemenata u pšeničnom brašnu i brašnu vrganja detektovano je prisustvo B, Ba, Cu, Fe, In, Li, Mn, Sr i Zn. Znatno viši sadržaj gvožđa detektovan je u brašnu vrganja, čak 62 puta veći od sadržaja u pšeničnom brašnu. Ovako veliki sadržaj gvožđa u brašnu vrganja je od značaja jer je gvožđe jedan od najvažnijih oligoelementa, ulazi u sastav hemoglobina, mioglobulina i respiratornih enzima. Povećava otpornost prema bolestima, sprečava zamor i anemiju. Smanjena količina gvožđa ogleda se u izraženom zamoru, slabom apetitu i smanjenoj otpornosti organizma (Veljković i Vučković, 2010). Od unete količine gvožđa organizam apsorbuje samo 10%. Visok sadržaj gvožđa u hrani je od velikog nutritivnog značaja (Imran i sar., 2010). Sadržaj mangana i cinka u brašnu vrganja je 52, odnosno 2,4 puta veći u poređenju sa njihovim sadržajem u pšeničnim brašnom.

Poznato je da je cink esencijalni oligoelement koji povećava broj odbrambenih T ćelija i njihovu efikasnost, pomaže u lečenju neplodnosti, čira na želucu, ubrzava zarastanje rana. Smatra se da oko 48% globalne populacije ima rizik od nedostatka ovog esencijalnog elementa (Oteiza i Mackenzie, 2005). Mangan ima ulogu u metabolizmu masti, izgradnji kostiju, vezivnom tkivu, proizvodnji energije i sintezi nukleotida DNK.

Akpoghelie i Ierhievwie, (2013) ispitivali su prisustvo mineralnih materija u *Boletus edulis* sa područja Nigerije. Najprisutniji mineral u uzorcima koje su ispitivali bio je Ca, zatim K, Mg, Na, a od oligoelemenata Fe, Cu, Zn. U našem uzorku brašna od vrganja najzastupljeniji mineral je K, zatim K, Mg, Na, a od oligoelemenata Fe, Zn i Cu. Dhingra i Jood, (2001) i Khan i sar., (2005) ispitivali su prisustvo mineralnih materija u pšeničnom brašnu. Razlike u sadržaju pojedinih minerala između njihovih i naših rezultata mogu biti posledica sorte pšenice, uslova gajenja, područja.

U tabelama 15 i 16 prikazan je sadržaj glavnih minerala i oligoelementa mešavine pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja.

Tabela 15. Sadržaj glavnih minerala mešavine pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja

Sadržaj (mg/kg)	Odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja, m/m				
	95:5	90:10	85:15	80:20	70:30
Ca	240,19	247,99	255,78	263,58	279,12
Mg	273,62	294,06	314,49	334,93	375,79
Na	49,25	56,98	64,71	72,45	87,89
K	1926,78	2608,28	3289,77	3971,27	5334,25

Tabela 16. Sadržaj oligoelemenata mešavine pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja

Sadržaj (mg/kg)	Odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja, m/m				
	95:5	90:10	85:15	80:20	70:30
B	4,65	4,71	4,77	4,83	4,95
Ba	3,66	4,18	4,70	5,23	6,27
Cu	2,36	2,83	3,30	3,77	4,70
Fe	193,75	339,83	485,92	632,00	924,17
In	2,24	2,39	2,54	2,69	2,99
Li	1,10	1,11	1,12	1,13	1,15
Mn	7,13	12,27	17,41	22,55	32,83
Sr	1,19	1,29	1,39	1,49	1,69
Zn	10,14	10,80	11,45	12,11	13,43

S obzirom da je sadržaj Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn veći u brašnu vrganja nego u pšeničnom brašnu, zamenom dela pšeničnog brašna brašnom vrganja povećava se sadržaj ovih minerala u mešavini.

3.3. Sadržaj lipida, acilglicerola i slobodnih masnih kiselina lipida u pšeničnom brašnu, brašnu vrganja i njiuhovim mešavinama

Sadržaj lipida, acilglicerola i slobodnih masnih kiselina lipida pšeničnog brašna i brašna vrganja prikazan je u tabeli 17. Lipidi pšeničnog brašna u svom sastavu najviše sadrže triacilglicerole (preko 60%) i najmanje monoacilglicerole (oko 3%). U odnosu na literaturne podatke (Žeželj, 2005), sadržaj triacilglicerola je bio viši (60% umesto 30-35%), a sadržaj mono- i di-acilglicerola niži (oko 3 i 7,7%, umesto, 15-25%). Sa druge strane lipidi brašna vrganja imaju najveći sadržaj slobodnih masnih kiselina (preko 73%), a najmanji sadržaj mono- i di-acilglicerola (približno 5%).

Tabela 17. Sadržaj lipida, acilglicerola i slobodnih masnih kiselina lipida pšeničnog brašna i brašna vrganja

Komponenta/Sadržaj	Pšenično brašno	Brašno vrganja
Lipidi (g/100 g brašna)	0,95±0,54	2,15±0,62
Slobodne masne kiseline*	28,64±3,24	73,20±14,23
Slobodne masne kiseline**	269,34±12,58	1544,25±178,22
Monoacilgliceroli*	3,01±0,78	5,25±1,23
Monoacilgliceroli**	28,48±6,23	111,12±9,54
Diacilgliceroli*	7,72±1,11	5,21±0,47
Diacilgliceroli**	73,23±5,14	110,25±14,52
Triacilgliceroli*	60,54±5,89	16,35±1,25
Triacilgliceroli**	567,47±76,74	345,21±46,23

* g po 100 g izolovanih lipida

** mg po 100 g brašna

Na slici P13 u prilogu, prikazan je HPLC hromatogram acilglicerola u ekstraktu lipida dobijenog iz pšeničnog brašna, a na slici P14, HPLC hromatogram acilglicerola u ekstraktu lipida dobijenog iz brašna vrganja, a u tabeli 18 su prikazani podaci koji se odnose na mešavine u kojima je udeo brašna vrganja 5, 10, 15, 20 i 30% m/m.

Tabela 18. Sadržaj lipida, acilglicerola i slobodnih masnih kiselina lipida mešavine pšeničnog i brašna vrganja, pri različitom odnosu mešanja

Komponenta/Sadržaj	Odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja, m/m				
	95:5	90:10	85:15	80:20	70:30
Lipidi (g/100 g)	1,01	1,07	1,13	1,19	1,31
Slobodne masne kiseline*	30,87	33,096	35,32	37,55	42,01
Slobodne masne kiseline**	332,75	396,50	460,25	524	651,50
Monoacilgliceroli*	3,12	3,23	3,35	3,46	3,68
Monoacilgliceroli**	32,15	36,30	40,45	44,60	52,90
Diacilgliceroli*	7,59	7,47	7,34	7,22	6,97
Diacilgliceroli**	74,85	76,70	78,55	80,40	84,10
Triacilgliceroli*	58,33	56,12	53,91	51,70	47,28
Triacilgliceroli**	555,90	544,80	533,70	522,60	500,40

* g po 100 g izolovanih lipida

** mg po 100 g mešavine bra

Na osnovu rezultata vidi se da se zamenom dela pšeničnog brašna brašnom vrganja dobija mešavina promenjenog sadržaja lipida, acilglicereola i slobodnih masnih kiselina. Sa povećanjem udela brašna vrganja u mešavini, sadržaja lipida, masnih kiselina, mono- i diacilglicerola se povećava, dok se sadržaj triacilglicerola smanjuje. U mešavini u kojoj je odnos pšeničnog i brašna vrganja 70:30 m/m sadržaj lipida povećava se za 27,5%, masnih kiselina za 59%, monoacilglicerola za 47% i diacilglicerola za 13% u odnosu na čisto pšenično brašno. U istoj mešavini sadržaj triacilglicerola smanjuje se za 22% u odnosu na čisto pšenično brašno. Porast sadržaja masnih kiselina u mešavini, dodavanjem brašna vrganja, može biti značajan zbog njihove antibakterijske aktivnosti (Desbois i Smith, 2010).

3.3.1. Sastav masnih kiselina lipida pšeničnog brašna, brašna vrganja i njihovih mešavinama

Sastav masnih kiselina lipida čistog pšeničnog brašna i brašna vrganja, kao i mešavina pšeničnog brašna i brašna vrganja u kojoj je udeo vrganja 5, 10, 15, 20 i 30% m/m određen je GC metodom.

Table 19. Sastav masnih kiselina lipida pšeničnog brašna i brašna vrganja

Komponenta	Pšenično brašno	Brašno vrganja
Palmitinska kiselina (16:0)*	15,36±0,63	4,39±1,23
Palmitinska kiselina (16:0)**	144,01±18,78	93,23±12,32
Stearinska kisleina (18:0)*	1,03±0,09	nd
Stearinska kisleina (18:0)**	9,70±1,23	nd
Behenska kiselina (22:0)*	0,18±0,05	nd
Behenska kiselina (22:0)**	1,70±0,87	nd
Oleinska kiselina (18:1)*	13,34±1,54	1,41±0,08
Oleinska kiselina (18:1)**	125,21±14,23	29,32±3,21
Linolenska kiselina (18:2)*	66,57±7,85	45,08±6,92
Linolenska kiselina (18:2)**	623,31±42,13	951,21±23,12
Ftalna kiselina*	0,46±0,08	0,43±0,28
Ftalna kiselina**	4,3±1,23	9,00±1,17
UZmk*	15,57	4,39
UZmk**	155,41	93,23
UMZmk*	13,34	1,41
UMZmk**	125,21	29,21
UPZmk*	66,57	45,08
UPZmk**	623,31	951,21
UNmk*	79,91	46,49
UNmk**	748,52	980,42
UNmk/UZmk	4,82	10,52

* g po 100 g lipida

** mg po 100 g brašna

nd – nije detektovana; UZmk – ukupne zasićene masne kiseline;

UMZmk – ukupne monozasićene masne kiseline;

UPZmk – ukupne polinezasićene masne kiseline; UNmk- ukupne nezasićene masne kiseline;

UNmk/UZmk – odnos ukupnih nezasićenih i ukupno zasićenih masnih kiselina.

Sastav masnih kiselina lipida pšeničnog brašna i brašna vrganja prikazan je u tabeli 19, a GC hromatogrami na slikama P15 i P16 u prilogu. Na osnovu dobijenih rezultata vidimo da je sadržaj ukupnih zasićenih masnih kiselina pšeničnog brašna veći za 40%, a sadržaj ukupnih nezasićenih masnih kiselina manji za 23,6% u odnosu na brašno vrganja. Sadržaj ukupnih mononezasićenih masnih kiselina pšeničnog brašna veći je za 76,6%, dok je sadržaj ih ukupnih polinezasićenih masnih kiselina manji za 34,5% u odnosu na brašno vrganja.

U brašnu vrganja nije detektovano prisustvo stearinske i behenske kiseline. U pšeničnom brašnu njihov sadržaj iznosi 9,70, odnosno, 1,70 mg/ 100g brašna. Odnos ukupnih nezasićenih i ukupnih zasićenih masnih kiselina veći je za brašno vrganja i iznosi 10,52, a za pšenično brašno ovaj odnos iznosi 4,82. GC analizom osim masnih kiselina, detektovano je prisustvo i drugih komponenata kao što su ergosterol i lanosterol čiji je sadržaj bio 191 mg/ 100 g (9,05 g/100 g lipida) i 32 mg/100 g (1,51 mg/100 g lipida), redom.

Table 20. Sastav masnih kiselina lipida mešavina pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja

Komponenta	Odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja, m/m				
	95:5	90:10	85:15	80:20	70:30
Palmitinska kiselina (16:0)*	14,81	14,26	13,71	13,17	12,07
Palmitinska kiselina (16:0)**	141,45	138,90	136,35	133,80	128,70
Stearinska kiselina (18:0)*	0,98	0,93	0,86	0,82	0,72
Stearinska kiselina (18:0)**	9,25	8,73	8,24	7,76	6,79
Behenska kiselina (22:0)*	0,17	0,16	0,15	0,14	0,13
Behenska kiselina (22:0)**	1,62	1,53	1,44	1,36	1,19
Oleinska kiselina (18:1)*	12,74	12,15	11,55	10,95	9,76
Oleinska kiselina (18:1)**	120,20	115,40	110,60	105,80	96,2
Linolenska kiselina (18:2)*	65,49	64,42	63,34	62,27	60,12
Linolenska kiselina (18:2)**	639,40	655,80	672,20	688,60	721,40
Ftalna kiselina*	0,46	0,46	0,46	0,45	0,45
Ftalna kiselina**	4,54	4,77	5,01	5,24	5,71
UZmk*	16,81	16,16	15,51	14,85	13,55
UZmk**	160,45	156,90	153,35	149,80	142,70
UMZmk*	12,74	12,15	11,55	10,95	9,76
UMZmk**	121,15	116,30	111,45	106,60	96,90
UPZmk*	65,49	64,42	63,35	62,27	60,12
UPZmk**	642,25	658,50	674,75	691,01	723,50
UNmk*	78,24	76,57	74,90	73,23	69,88
UNmk**	762,45	773,90	785,35	796,80	819,70
UNmk/UZmk	4,88	5,18	5,75	5,77	6,37

* g po 100 g lipida

** mg po 100 g brašna, tj, mešavine brašna

UZmk – ukupne zasićene masne kiseline; UMZmk – ukupne mononezasićene masne kiseline;

UPZmk – ukupne polinezasićene masne kiseline; UNmk- ukupne nezasićene masne kiseline;

UNmk/UZmk – odnos ukupnih nezasićenih i ukupno zasićenih masnih kiselina.

Ribeiro i sar., (2009) ispitivali su sastav masnih kiselina različitih vrsta divljih jestivih gljiva, među kojima je bio i vrganj. Prema njihovim rezultatima najzastupljenija je oleinska kiselina sa 11,58, zatim linolenska sa 7,53, palmitinska sa 5,28, stearinska sa 3,08, behenska sa 0,154 mg/kg suve mase. Sastav masnih kiselina u divljem vrganju sa područja Poljske ispitivali su Pietrzak- Fiećko i sar., (2016), a dominante masne kiseline u njihovim uzorcima bile su linolenska, oleinska i palmitinska kiselina. Nikolić i sar., (2008) ispitivali su sastav masnih kiselina i reološka svojstva pšeničnog brašna i mešavine pšeničnog brašna i pirinča.

U tabeli 20 prikazani su rezultati koji se odnose na sastav masnih kiselina lipida mešavina pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja.

Najzastupljenija masna kiselina u pšeničnom brašnu bila je linolenska, zatim oleinska, palmitinska, stearinska, i na kraju behenska kiselina sa najmanjim sadržajem. Ovakvi rezultati ukazuju da je sastav masnih kiselina različit u zavisnosti od ispitivane vrste i sorte. Sadržaj ukupnih zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina opada sa porastom udela brašna vrganja, i u mešavini u kojoj je odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja 70:30 m/m manji je za 8%, odnosno 6%, u odnosu na sadržaj u čistom pšeničnom brašnu. U slučaju nezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina situacija je drugačija.

Sadržaj ukupnih nezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina raste sa porastom udela brašna vrganja, i u mešavini u kojoj je odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja 70:30 m/m veći je za 8,7%, odnosno 13,86%, u odnosu na sadržaj u čistom pšeničnom brašnu.

Upoređivanjem sastava masnih kiselina u čistom pšeničnom brašnu i mešavini možemo da zaključimo da odnos UNmk/UZmk raste sa porastom udela brašna vrganja u smeši, što ukazuje da sa povećanjem udela brašna vrganja u smeši raste sadržaj UNmk, a sadržaj UZmk opada. Povećanje sadržaja nezasićenih masnih kiselina, koje se još nazivaju i “dobrim mastima”, pozitivno utiče na nivo holesterola u krvi, usporava upalne procese, stabilizuje rad srca.

Takođe, veći unos nezasićenih masnih kiselina povoljno utiče na krvni pritisak, poboljšava se nivo lipida i smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti. Ovo navodi na zaključak da konzumiranje proizvoda u kojima je deo pšeničnog zamenjen brašnom od vrganja može pozitivno da utiče na sprečavanje niza različitih bolesti.

3.4. Reologija testa

3.4.1. Farinografska ispitivanja

Rezultati dobijeni farinografskim ispitivanjima testa dobijenog od čistog pšeničnog brašna i testa dobijenog od mešavina pšeničnog i brašna vrganja sa različitim udelom brašna vrganja (5, 10, 15 i 20, m/m) prikazani su u tabeli 21. Sa porastom udela brašna vrganja u mešavini moć upijanja vode (MUV) se povećava za 8%, a glavna komponenta testa koja utiče na sposobnost upijanja vode je gluten.

Kako je brašno vrganja bez glutena, ali sa većom količinom proteina i celuloze od pšeničnog brašna, može se zaključiti da su pojedine proteinske komponente i celuloza u brašnu vrganju odgovorne za veću moć upijanja vode.

Tabela 21. Farinogramska svojstva pšeničnog brašna i mešavina pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja

Svojstvo	PŠB	Odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja, m/m			
		95:5	90:10	85:15	80:20
MUV (ml)	54,1±0,6	55,0±0,6	55,5±0,6	57,9±0,6	58,5±0,7
Razvoj testa (min)	1,5±0,1	1,9±0,1	2,0±0,1	2,5±0,2	4,5±0,3
Stabilnost testa (min)	0,5±0,1	2,5±0,2	3,0±0,2	3,0±0,1	3,0±0,1
Stepen omekšanja (FJ)	65±2	215±6	205±5	185±6	165±3
Kvalitetni broj	58,7±2,7	32,1±1,5	34,1±1,8	35,3±1,8	44,3±1,9
Kvalitetna grupa	B ₁	C ₁	C ₁	C ₁	B ₂

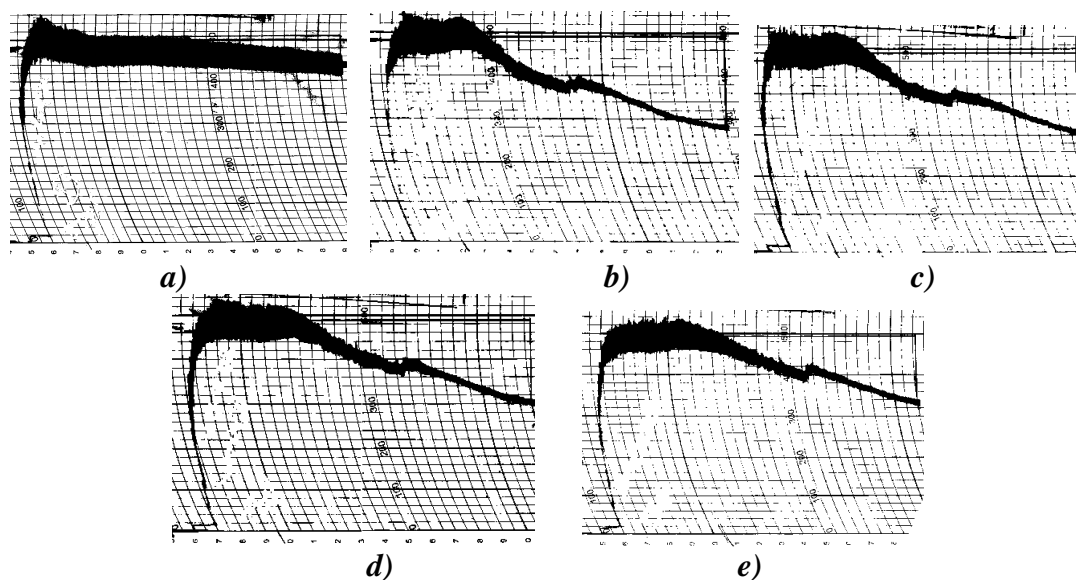
MUV – moć upijanja vode

U literaturi postoje podaci da *Boletus edulis* sadrži čak 28,8% dijetetskih vlakana (Nikolova, 2011) i da dijetetska vlakna poboljšavaju moć upijanja vode. Dijetetska vlakna u svojoj strukturi imaju veći broj hidroksilnih grupa što omogućava veći broj inetrakcija sa vodom putem vodoničnih veza, čime se može objasniti uticaj brašna vrganja na povećanje moći upijanja vode. Povećanje moći upijanja vode primećeno je i kod zamene dela pšeničnog brašna brašnom bukovače sa teritorije Nigerije (Okafor i sar., 2012) i Egipta (Hesham i sar., 2007).

U zavisnosti od udela brašna vrganja u mešavini (5-20% m/m) razlikuje se i vreme potrebno za razvoj testa. Sa porastom udela brašna vrganja u mešavini raste i vreme potrebno za razvoj testa, i kreće se u intervalu od 1,8 do 4,5 min. Stepent omekšavanja opada sa porastom udela brašna vrganja u mešavini od 215 do 165 FJ, ali su sve vrednosti mnogo veće od 65 FJ, koliko iznosi za čisto pšenično brašno. Dodavanjem brašna vrganja u mešavini menja se i kvalitetni broj i kvalitetna grupa. Povećanjem udela brašna vrganja u mešavini kvalitetni broj raste, ali je u poređenju sa čistim pšeničnim brašnom kvalitetni broj svih ispitivanih mešavina manji.

Kvalitetna grupa mešavina manja je od kvalitetne grupe pšeničnog brašna i zavisi od udela brašna vrganja u mešavini. Tako je kod udela od 5, 10 i 15%, kvalitetna grupa C₁, a kod udela 20%, B₂ (Djaković, 1998).

Upoređivanjem dobijenih rezultata sa literaturnim podacima koji se odnose na brašno bukovače, uticaj brašna bukovače na vreme razvoja testa i otpora testa je isti, dok se ostali reološki podaci razlikuju (MUV, stabilnost testa, stepen omekšavanja) (Hong i sar., 2005; Hesham i sar., 2007; Okafor i sar., 2012). Razlike u poređenju naših i literaturnih podataka su verovatno zbog vrste i porekla pečuraka.



Slika 26. Farinogram čistog pšeničnog brašna (a) i mešavine pšeničnog i brašna vrganja pri različitim odnosima mešanja: 95:5 m/m (b), 90:10 m/m (c), 85:15 m/m (d), 80:20 m/m (e)

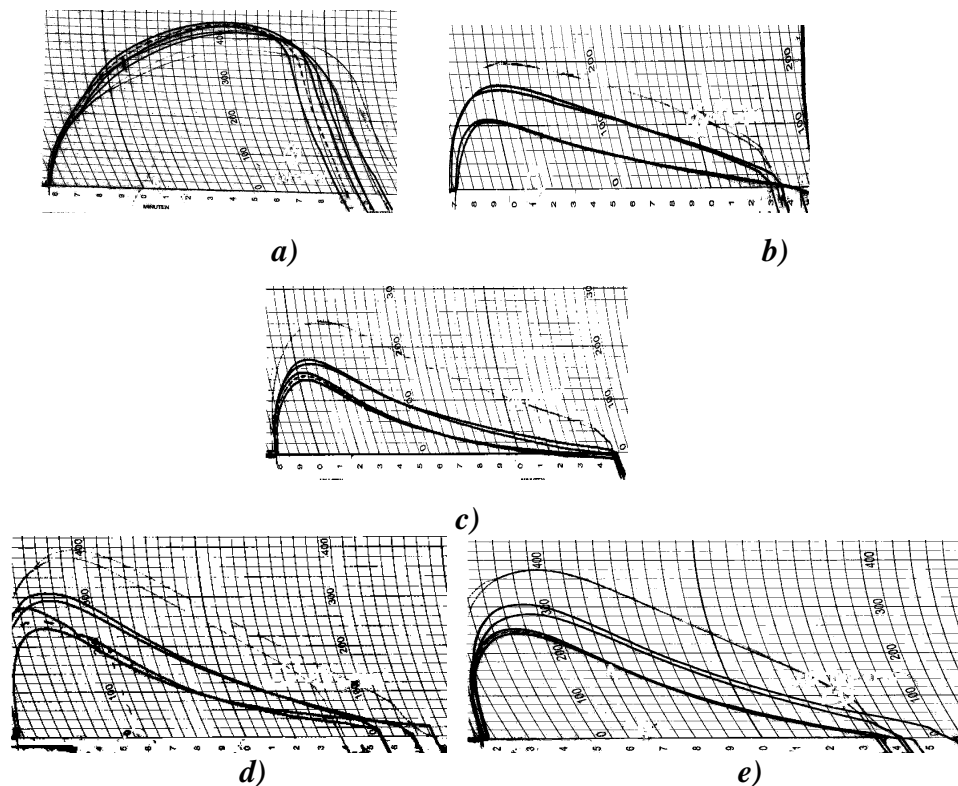
Hemijski sastav takođe utiče na razlike u rezultatima, a najveći uticaj na podatke dobijene farinografskim ispitivanjem verovatno imaju proteini koji su i najzastupljeniji u pečurkama. Na slici 26 prikazan je farinogram čistog pšeničnog brašna i mešavine pšeničnog i brašna vrganja sa različitim udelom brašna vrganja u mešavini (5, 10, 15 i 20, m/m).

3.4.2. Ekstenziografska ispitivanja

Rezultati dobijeni ekstenziografskim ispitivanjem testa od čistog pšeničnog brašna i testa dobijenog zamenom dela pšeničnog brašna brašnom vrganja prikazani su u tabeli 22, a na slici 27 prikazan je ekstenziogram čistog pšeničnog brašna i mešavine pšeničnog i brašna vrganja sa različitim udelom brašna vrganja u mešavini (5, 10, 15 i 20, m/m).

Dobijeni rezultati pokazuju da dodavanje brašna vrganja pšeničnom brašnu, dovodi do smanjenja vrednosti koje se odnose na energiju testa i otpor pri rastezanju.

Vrednosti za rastegljivost testa rastu sa porastom udela brašna vrganja u mešavini, u odnosu na čisto pšenično brašno, osim u mešavini u kojoj je odnos 80:20 m/m gde je vrednost za rastegljivost testa manja u odnosu na pšenično brašno. Odnos otpora pri rastezanju i rastegljivosti testa (OR/R) kreće se u intervalu od 0,49 do 1,49. Vrednosti OR/R za ispitivane mešavine su manje u odnosu na iste vrednosti za čisto pšenično brašno (2,56) što ukazuje na to da testo sa brašnom vrganja može biti manje otporno na process fermentacije (Djaković, 1998).



Slika 27. Ekstenziogram čistog pšeničnog brašna (a) i mešavine pšeničnog i brašna vrganja pri različitim odnosima mešanja: 95:5 m/m (b), 90:10 m/m (c), 85:15 m/m (d), (80:20 m/m (e)

Tabela 22. Ekstenziogramska svojstva pšeničnog brašna i mešavina pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja

Svojstvo	PŠB	Odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja, m/m			
		95:5	90:10	85:15	80:20
Energija testa (cm ²)	76,4±3,5	15±1,2	16,8±0,9	33,0±1,1	25,1±1,1
OR (EJ)	345±15	85±8	95±12	180±14	185±14
Rastegljivost, R (EU)	135±7	136±8	162±7	175±7	121±5
OR/R	2,56	0,48	0,70	1,17	1,49

OR – otpor pri rastezanju; R –rastegljivost; OR/R – odnos otpora pri rastezanju i rastegljivosti testa

3.4.3. Amilografska ispitivanja

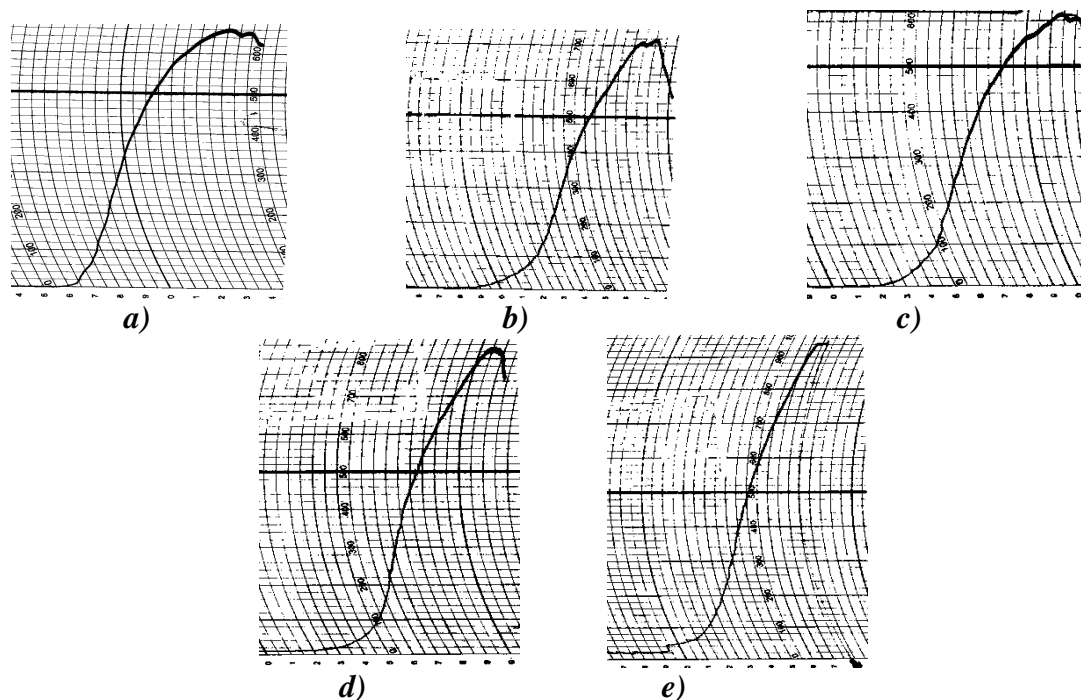
U tabeli 23 prikazani su rezultati amilografskih ispitivanja testa od pšeničnog brašna i testa dobijenog zamenom dela pšeničnog brašna brašnom vrganja. Na osnovu podataka koji su dobijeni amilografskim ispitivanjem vidimo da testo u koje se dodaje brašno vrganja pokazuje veću temperature želatizacije (T_{max}) i maksimalni viskozitet suspenzije (η_{max}).

Tabela 23. Amilogramska svojstva pšeničnog brašna i mešavina pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja

Svojstvo	PŠB	Odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja, m/m			
		95:5	90:10	85:15	80:20
T_{max} (°C)	77,5±0,5	80,0±0,4	81,0±0,3	81,5±0,3	82,0±0,3
η_{max} (AJ)	680±32	690±33	720±23	830±34	995±42

T_{max} – temperatura želatizacije; η_{max} – maksimalni viskozitet suspenzije

Ovakvi rezultati ukazuju na to da neke komponente vrganja verovatno inaktiviraju aktivnosti amilolitičkih enzima. Na slici 28 prikazan je amilogram čistog pšeničnog brašna i mešavine pšeničnog i brašna vrganja sa različitim udelom brašna vrganja u mešavini (5, 10, 15 i 20, m/m).



Slika 28. Amilogram čistog pšeničnog brašna (a) i mešavine pšeničnog i brašna vrganja pri različitim odnosima mešanja: 95:5 m/m (b), 90:10 m/m (c), 85:15 m/m (d), (80:20 m/m (e)

3.5. Sadržaj polifenola, tanina i flavonoida u pšeničnom brašnu, brašnu vrganja i njihovim mešavinama

Polifenolna jedinjenja deluju kao redukujući agensi, donori vodonika, imaju osobine heliranja metala i utiču na antioksidativno delovanje ekstrakata u kojima se nalaze. Rezultati spektrofotometrijskog određivanja sadržaja slobodnih i vezanih polifenola i tanina, i sadržaja flavonoida u pšeničnom brašnu i brašnu vrganja prikazani su u tabeli 24.

Sadržaj slobodnih i vezanih polifenola u pšeničnom i brašnu vrganja se u znatnoj meri razlikuje. U brašnu vrganja sadržaj slobodnih polifenola znatno je veći u odnosu na sadržaj u pšeničnom brašnu, čak 191 put, dok je sadržaj vezanih polifenola u brašnu vrganja manji za 6,5 puta u odnosu na pšenično brašno. U pšeničnom brašnu flavonoidi nisu detektovani, dok je u brašnu vrganja sadržaj slobodnih flavonoida bio 14,97 μg kvercetina po g brašna.

Što se tiče sadržaja tanina, u pšeničnom brašnu sadržaj vezanih tanina veći je za skoro 9 puta u odnosu na brašno vrganja, dok je u brašnu vrganja sadržaj slobodnih tanina veći za 100 puta u odnosu na njihov sadržaj u pšeničnom brašnu.

Tabela 24. Sadržaj slobodnih i vezanih polifenola i tanina i sadržaj flavonoida u pšeničnom i brašnu vrganja

Komponenta	Pšenično brašno	Brašno vrganja
<i>Polifenoli ($\mu\text{g/g}$)*</i>		
Slobodni	22,46 \pm 1,23	4300,12 \pm 241,36
Vezani	983,95 \pm 78,52	151,93 \pm 12,36
Ukupno	1006,41	4452,05
<i>Tanini ($\mu\text{g/g}$)**</i>		
Slobodni	15,60 \pm 1,56	1588,23 \pm 175,36
Vezani	141,42 \pm 11,23	16,00 \pm 1,23
Ukupno	157,02	1604,23

* $\mu\text{g/g}$ – μg galne kiseline po g brašna

** $\mu\text{g/g}$ – μg taninske kiseline po g brašna

U literaturi nema podataka o sadržaju slobodnih i vezanih polifenola u vrganju, ali ima podataka o sadržaju ukupnih fenola. Tako je sadržaj ukupnih fenola u vrganju poreklom iz Španije bio je 5,4 mg/g suve mase (Palacios i sar. 2011), a Zang i sar., (2012) su u svom radu objavili da je sadržaj slobodnih polifenola u pšeničnom brašnu mnogo manji u odnosu na sadržaj vezanih polifenola, što je u skladu sa našim rezultatima. Prema njihovim rezultatima sadržaj vezanih polifenola čini 97,5 % ukupnih polifenola, dok je sadržaj slobodnih polifenola bio samo 2,5 % sadržaja ukupnih polifenola.

U tabeli 25 prikazan je sadržaj slobodnih i vezanih polifenola i tanina, i sadržaj flavonoida u mešavini pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja.

Mala odstupanja između naših i literaturnih podataka u sadržaju ukupnih fenolnih jedinjenja su najverovatnije posledica različite tehnike ekstrakcije, primenjene metode za analizu fenolnih jedinjenja ili različitog analiziranog materijala.

Katsube i sar., (2009) su dokazali da temperatura sušenja biljnog materijala takođe može imati uticaj na sadržaj polifenola. Istraživanja ukazuju da na sadržaj polifenolnih jedinjenja utiču još i genotip, mesto i tehnika gajenja, kao i razlike u zrelosti biljke (Orhan i sar., 2007). Dokazano je da na sadržaj flavonoida utiču UV zračenje i koncentracija ugljendioksida (Daniel i sar., 1999; Caldwell i sar., 2005).

Takođe, i ostali spoljašnji faktori (svetlost, temperatura, prisustvo hranljivih materija u zemljištu) mogu uticati na sadržaj polifenola (Dixon i Paiva, 1995).

Tabela 25. Sadržaj slobodnih i vezanih polifenola i tanina i sadržaj flavonoida u mešavini pšeničnog i brašna vrganja pri različitom odnosu mešanja

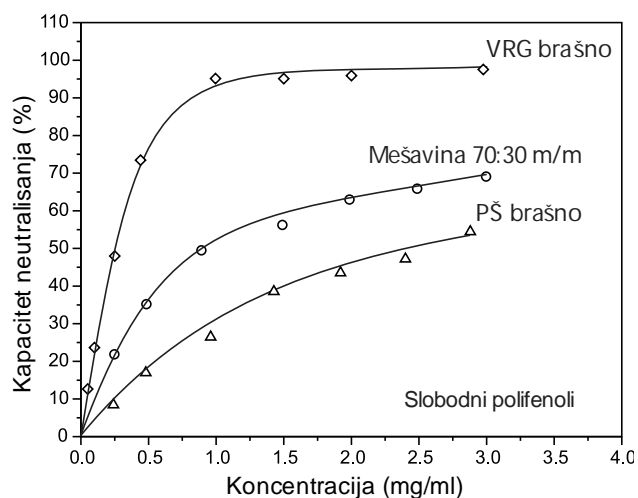
Svojstvo	Odnos mešanja pšeničnog i brašna vrganja, m/m				
	95:5	90:10	85:15	80:20	70:30
<i>Polifenoli (µg/g)*</i>					
Slobodni	236,34	450,22	664,11	877,99	1305,76
Vezani	942,35	900,75	859,15	817,55	734,35
Ukupno	1178,69	1350,97	1523,26	1695,54	2040,11
<i>Tanini (µg/g)*</i>					
Slobodni	94,23	172,86	251,49	330,13	487,39
Vezani	135,15	128,89	122,61	116,34	103,79
Ukupno	229,38	301,74	374,10	446,47	591,18

* µg/g – µg galne kiseline po g mešavine brašna

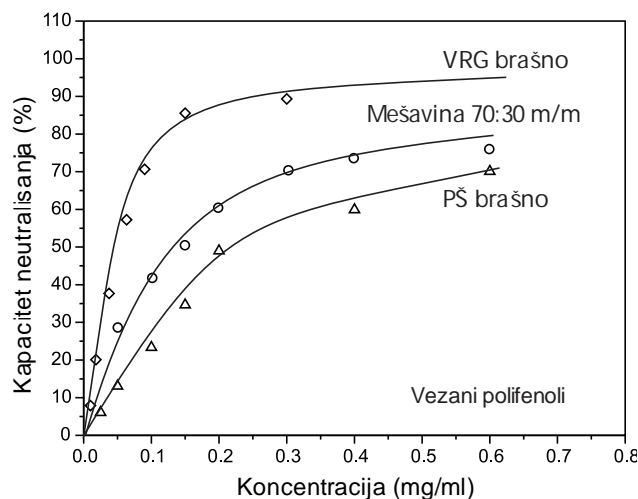
Sa povećanjem udela brašna vrganja u mešavini sadržaj slobodnih polifenola i tanina povećava. U mešavini u kojoj je odnos pšeničnog i brašna vrganja 70:30 m/m sadržaj slobodnih polifenola i tanina povećava se za 98% odnosno 96,8%, dok se sadržaj vezanih polifenola i tanina smanjuje za 25% odnosno 26%, u odnosu na njihov sadržaj u čistom pšeničnom brašnu. Kako m flavonoidi u čistom pšeničnom brašnu nisu detektovani, porastom udela brašna vrganja u ispitivanoj mešavini sadržaj flavonoida se povećava, tako da je u zavisnosti od udela, taj sadržaj iznosi od 0,75 do 4,49 µg kvercetina po g mešavine brašna.

3.6. Antioksidativna aktivnost pšeničnog brašna, brašna vrganja i njihovih mešavina

Na slici 29 prikazana je zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna, brašna vrganja (VRG) i mešavine brašna, pri najvećem udelu brašna vrganja u mešavini (70:30, m/m, dok je na slici 30 prikazana je zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna, brašna vrganja (VRG) i mešavine brašna, pri odnosu mešanja 70:30, m/m.



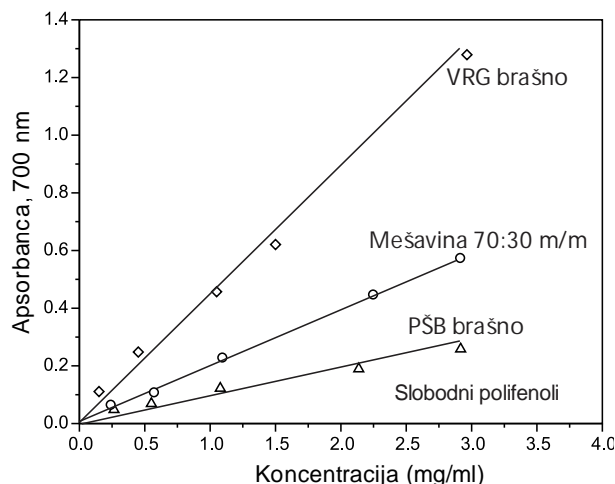
Slika 29. Zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna, brašna vrganja (VRG) i mešavine brašna, pri odnosu mešanja 70:30, m/m



Slika 30. Zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna, brašna vrganja (VRG) i mešavine brašna, pri odnosu mešanja 70:30, m/m

Redukciona snaga (*Reducing power*) neke komponente može da posluži kao značajan indikator njegove potencijalne antioksidativne aktivnosti (Meir i sar., 1995). Merenje redukcionne snage zasniva se na praćenju i ispitivanju transformacije $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ u prisustvu ekstrakata primenom metode po Makkar i sar., 1993. Veća apsorbanca ukazuje na veću redukcionu snagu. U ovoj metodi žuta boja test rastvora menja se u različite nijanse zelene ili plave, u zavisnosti od redukcionne moći prisutnih komponenata u ispitivanom uzorku. U prisustvu reduktanata (antioksidativnih komponenata) dolazi do redukcije Fe^{3+} fercijanidnog kompleksa u Fe^{2+} formu, a ova transformacija se prati na talasnoj dužini od 700 nm merenjem koncentracije nastalog Perlovo-prusijansko plavog kompleksa (Ferreria i sar., 2007).

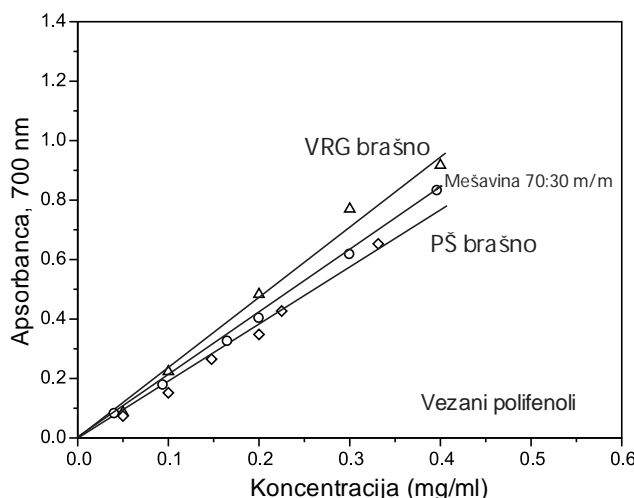
Na slici 31 prikazana je zavisnost redukcionne snage od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna, brašna vrganja (VRG) i mešavine brašna, pri odnosu mešanja 70:30, m/m, dok je na slici 32 prikazana zavisnost redukcionne snage od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna, brašna vrganja (VRG) i mešavine brašna, pri odnosu mešanja 70:30, m/m.



Slika 31. Zavisnost redukcionne snage od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna, brašna vrganja (VRG) i mešavine brašna, pri odnosu mešanja 70:30, m/m

Sadržaj slobodnih i vezanih polifenola i IC_{50} vrednosti za DPPH test i redukcionu snagu u ekstraktima slobodnih i vezanih fenola u pšeničnom brašnu, brašnu vrganja i mešavini prikazan je u tabeli 26. Kako niže vrednosti IC_{50} ukazuju na veću antioksidativnu aktivnost, radi lakšeg poredjenja rezultata, sračunata je recipročna vrednost vrednosti IC_{50} i prikazana je u istoj tabeli. U literaturi je ova vrednost je označena kao antiradikalaska aktivnost (Maisuthisakul i sar., 2007).

Ekstrakti vezanih polifenola pšeničnog brašna takođe imaju veću antioksidativnu aktivnost u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola.



Slika 32. Zavisnost redukcionne snage od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna, brašna vrganja (VRG) i mešavine brašna, pri odnosu mešanja 70:30, m/m

Sposobnost neutralizacije DPPH radikala ekstrakata vezanih polifenola veća je za 11 puta, a redukciona snaga za 25 puta u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola pšeničnog brašna.

Table 26. Vrednost IC_{50} za DPPH test i test redukcionne snage ekstrakta slobodnih i vezanih polifenola pšeničnog brašna, brašna vrganja i mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m)

Polifenoli	Pšenično brašno		Brašno vrganja		Mešavina, 70:30 m/m	
	Slobodni	Vezani	Slobodni	Vezani	Slobodni	Vezani
Sadržaj polifenola*	22,46	983,95	4300,12	151,93	1305,76	734,35
Ukupno	1006,41		4452,05		2040,11	
IC_{50} ^{**} (DPPH test)	2,48	0,23	0,22	0,06	0,86	0,13
$1/IC_{50}$ ^{***} (DPPH test)	0,40	4,34	4,54	16,67	1,16	7,69
IC_{50} ^{**} (Redukciona snaga)	5,12	0,21	0,87	0,28	2,55	0,24
$1/IC_{50}$ (Redukciona snaga)	0,19	4,76	1,15	3,57	0,39	4,17

* μg galne kiseline po g brašna tj, mešavine brašna

** mg suvog ostatka po ml ekstrakta

Poređenjem dobijenih IC_{50} vrednosti ekstrakata brašna vrganja i pšeničnog brašna, vidi se da ekstrakti iz brašna vrganja imaju znatno veću antioksidativnu aktivnost od odgovarajućih ekstrakata iz pšeničnog brašna, osim u slučaju ekstrakta vezanih polifenola iz brašna vrganja koji ima manju redukcionu sposobnost u odnosu na ekstrakt vezanih polifenola iz pšeničnog brašna. Rezultati ukazuju da bi zamena dela pšeničnog brašna brašnom vrganja u prehrambenoj industriji imala uticaj na povećanje antioksidativnog potencijala finalnih proizvoda.

3.7. Sadržaj pojedinih fenolnih kiselina u ekstraktu polifenola pšeničnog brašna, brašna vrganja i njihove mešavine

Sadržaj ukupnih polifenolnih jedinjenja dobijen metodom po Folin-Ciocalteu ne pruža kompletnu kvalitativnu i kvantitativnu sliku polifenolnih jedinjenja sadržanih u ekstraktima, zbog mogućeg prisustva interferirajućih jedinjenja (šećeri, aromatični amini, sumpor-dioksid, vitamin C, organske kiseline, Fe(II) i ostale supstance koje nisu polifenolnog porekla) koja utiču na nerealno povećanje rezultata merenja (Singleton i sar., 1999). Metoda za određivanje sadržaja ukupnih flavonoida pokazuje nejednaku selektivnost prema jedinjenjima, jer pozitivnu reakciju daju samo jedinjenja koja imaju *o*-dihidroksifenolne, 3-hidroksihromonske, 5-hidroksihromonske i *o*-hidroksikarbonilne funkcionalne grupe (Merken i Beecher, 2000; Sakakibara i sar., 2003). Iz ovih razloga je primenom HPLC metode (Amakura i sar., 2000) urađena analiza sadržaja i sastava pojedinih fenolnih kiselina.

Sadržaj detektovanih polifenolnih kiselina u ekstraktu slobodnih i vezanih polifenola pšeničnog, brašna vrganja i mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) prikazan je u tabeli 27.

Tabela 27. Sadržaj pojedinih polifenolnih kiselina u ekstraktu slobodnih i vezanih polifenola pšeničnog brašna, brašna vrganja i mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m)

Fenolna kiselina	Pšenično brašno	Brašno vrganja	Mešavina, 70:30 m/m
Slobodni polifenoli ($\mu\text{g/g}$)*			
Galna	5,21±1,14	289,39±18,56	90,46
Protokatehinska	13,96±1,64	523,06±65,42	166,69
Ukupno slobodnih	19,17	812,45	257,15
Vezani polifenoli ($\mu\text{g/g}$)*			
Hlorogena	nd	35,46±2,31	10,64
Galna	33,56±2,45	104,39±9,78	54,81
Protokatehinska	1,01±0,23	1,11±0,23	1,04
Kafeinska	2,92±0,25	nd	2,05
Genistinska	6,11±1,24	0,75±0,09	4,49
<i>trans</i> -Ferulinska	652,24±52,45	nd	456,57
Ukupno vezanih	695,84	141,71	529,60
Ukupno slobodnih i vezanih pojedinih polifenolnih kiselina ($\mu\text{g/g}$)*			
Hlorogena	-	35,46	10,64
Galna	38,77	393,78	145,27
Protokatehinska	14,97	524,17	167,73
Kafeinska	2,92	nd	2,05
Genistinska	6,11	0,75	4,49
<i>trans</i> -Ferulinska	652,24	nd	456,57
Ukupno	715,01	954,16	786,75

* μg odgovarajuće kiseline po g brašna tj, mešavine brašna

nd – nije detektovana

Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli vidimo da ekstrakt brašna vrganja ima veći sadržaj ukupnih slobodnih i vezanih polifenolnih kiselina za 25% odnosu na ekstrakt pšeničnog brašna. U ekstraktu pšeničnog brašna sadržaj ukupnih vezanih polifenolnih kiselina veći je od sadržaja ukupnih slobodnih polifenolnih kiselina za 99%, dok je u ekstraktu brašna vrganja sadržaj ukupnih slobodnih polifenolnih kiselina veći od sadržaj ukupnih vezanih polifenolnih kiselina za 98%. Upoređivanjem rezultata prikazanih u tabeli za ekstrakte pšeničnog i brašna vrganja vidimo da ekstrakt brašna vrganja ima veći sadržaj ukupnih slobodnih polifenolnih kiselina u odnosu na isti sadržaj u ekstraktu pšeničnog brašna za 97%. Sa druge strane ekstrakt pšeničnog brašna ima veći sadržaj ukupnih vezanih polifenolnih kiselina u odnosu na ekstrakt brašna vrganja za skoro 80 %.

Zamenom dela pšeničnog brašna, brašnom vrganja menja se sadržaj polifenolnih kiselina u ispitivanim uzorcima. Sadržaj ukupnih slobodnih polifenolnih kiselina u ekstraktu mešavine povećava se za 92% u odnosu na sadržaj u ekstraktu pšeničnog brašna, dok se sadržaj ukupnih vezanih polifenolnih kiselina smanjuje za 23%. Sadržaj ukupnih slobodnih i vezanih polifenolnih kiselina u ekstraktu mešavini veći je za 10% u poređenju sa ekstraktom pšeničnog brašna.

Prisustvo pojedinih polifenolnih jedinjenja u ispitivanim ekstraktima zavisi od uslova pod kojima se uzgaja biljka, načina pripreme materijala za ekstrakciju, kao i načina izolovanja aktivnih komponenata (Zhishen i sar., 1999). Zhang i sar., (2010) ispitivali su prisustvo polifenolnih kiselina u pšenici iz Kine. Prma njihovim rezultatima najdominantnija vezana polifenolna kiselina bila je ferulinska kiselina, a od slobodnih je to bila siringinska polifenolna kiselina. U literature nema podataka o sadržaju slobodnih i vezanih polifenolnih kiselina u vrganju, ali ima o sadržaju ukupnih polifenolnih kiselina. U istraživanju koje su uradili Palacios i sar., (2011) najprisutnija je homogenistinska, zatim galna, protokatehinska, hlorogena, genistinska kiselina.

3.8. Uticaj zamesa i termičke obrade

3.8.1. Uticaj zamesa i termičke obrade na hemijski sastav mešavine i testa

U tabeli 28 prikazan je hemijski sastav mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade. Sadržaj proteina nakon zamesa smanjuje se u odnosu na sadržaj proteina u mešavini, dok se nakon termičke obrade sadržaj proteina povećava što je u skladu sa podacima pronađenim u literaturi.

Porast sadržaja proteina u toku termičke obrade može se objasniti kao gubitak vlage (vode) usled denaturacije proteina zbog čega je manja količina vode zarobljena u strukturi proteina i zadržana kapilarnim silama (Aaslyng i sar., 2003).

Tabela 28. Hemijski sastav mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade

Komponenta/Sadržaj	Mešavina, 70:30, m/m	Zames	Termička obrada
Vlaga (%)	8,50	11,07±1,02	10,74±1,24
Proteini (N x 5,7)	14,56	12,63±1,14	16,14±1,25
Pepeo (g/100g)	2,33	1,92±0,78	1,12±0,54
Lipidi (g/100 g)	1,31	1,29±0,63	0,65±0,07
Ugljeni hidrati (g/100 g)*	73,30	73,42±6,54	72,02±6,32
Celuloza (g/100 g)	3,80	6,14±1,12	8,93±0,71

*100-(%Vlage + % Pepela + % Proteina + % Lipida)

U toku zamesa i termičke obrade testa sadržaj lipida se smanjuje. Sadržaj ugljenih hidrata se u toku zamesa i termičke obrade praktično ne menja, dok se sadržaj celuloze povećava. U literaturi postoje različiti podaci o promeni sadržaja celuloze u toku termičke obrade, pri čemu može doći do povećanja, ali i do smanjenja sadržaja celuloze, što zavisi od biljnog materijala u kome se celuloza nalazi (Tiwari i O'Donnell, 2012; Rabe, 1999).

3.8.2. Uticaj zamesa i termičke obrade na sadržaj glavnih minerala i oligoelemenata u pšeničnom brašnu, mešavini i testu

U tabelama 29 i 30 prikazani su rezultati sadržaja glavnih minerala i oligoelemenata u pšeničnom brašnu i testu dobijenom nakon zamesa i termičke obrade. Rezultati ukazuju da proces zamesa testa dovodi do povećanja sadržaja glavnih minerala i oligoelemenata u testu. Tako se nakon zamesa sadržaj Na, K, Cl, Ba, Cu, Sr i Zn povećava, a zames testa najviše utiče na sadržaj Na, čiji se sadržaj povećava 3,12 puta u odnosu na sadržaj u pšeničnom brašnu. Dodatkom vode tokom zamesa verovatno se povećava rastvorljivost jedinjenja u kojima su ovi elementi prisutni, što rezultira njihovim većim sadržajem u uzorku testa nakon zamesa.

Sadržaj ostalih minerala i oligoelemenata se nakon zamesa smanjuje. Termička obrada dovodi do smanjenja sadržaja gotovo svih minerala i oligoelemenata, što je u skladu sa literaturnim rezultatima (Akhtar i sar., 2010; Christine i sar., 1996).

U cilju ispitivanja uticaja dodatka brašna vrganja na sadržaj minerala i oligoelemenata u testu nakon zamesa i termičke obrade, napravljena je mešavina pšeničnog brašna i brašna vrganja u odnosu 70:30, m/m.

Tabela 29. Sadržaj glavnih minerala pšeničnog brašna i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade

Sadržaj (mg/kg)	Pšenično brašno	Zames	Termička obrada
Ca	232,39±32,56	235,29±31,25	159,43±9,56
Mg	253,19±65,25	253,89±18,69	217,62±16,87
Na	41,52±3,25	129,67±14,56	18,2±1,23
K	1245,29±145,62	1267,03±79,63	1137,78±132,11

U tabeli 31 i 32 prikazan je sadržaj glavnih minerala i oligoelemenata za mešavinu pšeničnog brašna i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade. Dodavanjem brašna vrganja pšeničnom brašnu dolazi do povećanja sadržaja svih glavnih minerala i oligoelemenata u odnosu na njihov sadržaj u čistom pšeničnom brašnu. Sadržaj Fe je u mešavini veći za skoro 20 puta, dok je sadržaj Mn veći za 16,49 puta u odnosu na njihov sadržaj u čistom pšeničnom brašnu.

Tabela 30. Sadržaj oligoelemenata pšeničnog brašna i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade

Sadržaj (mg/kg)	Pšenično brašno	Zames	Termička obrada
B	4,59±0,65	4,76±0,28	2,67±0,23
Ba	3,14±0,78	3,72±0,32	2,33±0,32
Cu	1,89±0,15	2,00±0,84	1,62±0,56
Fe	47,7±12,3	47,79±1,25	24,09±1,56
In	2,09±0,96	2,12±0,23	0,91±0,09
Li	1,09±0,09	1,11±0,23	0,29±0,08
Mn	1,99±0,08	2,19± 0,51	1,73±0,41
Sr	1,09±0,45	1,22±0,69	0,98±0,12
Zn	9,48±0,67	15,24±1,12	9,22±1,41

Tabela 31. Sadržaj glavnih minerala mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade

Sadržaj (mg/kg)	Mešavina 70:30, m/m	Zames	Termička obrada
Ca	279,12	279,13±16,82	152,62±11,34
Mg	375,79	397,17±12,36	307,23±11,54
Na	87,89	87,83±6,69	31,57±2,69
K	5334,25	6666,58±265,23	6660,21±289,63

Tabela 32. Sadržaj oligoelemenata mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade

Sadržaj (mg/kg)	Mešavina, 70:30, m/m	Zames	Termička obrada
B	4,95	4,98±0,53	5,19±1,21
Ba	6,27	6,13±0,98	5,38±0,98
Cu	4,70	5,14±0,74	4,25±0,47
Fe	924,17	964,17±15,98	568,19±54,69
In	2,99	3,06±0,87	1,74±0,77
Li	1,15	1,45±0,12	0,46±0,08
Mn	32,83	39,76±2,45	10,34±1,26
Sr	1,69	2,00±0,09	1,03±0,07
Zn	13,43	14,02±0,46	14,81±1,49

U toku zamesa testa sadržaj ispitivanih minerala i oligoelemenata se povećava, dok termička obrada dovodi do smanjenja njihovog sadržaja. I pored toga što termička obrada dovodi do smanjenja sadržaja glavnih minerala i oligoelemanta, sadržaj pojedinih minerala i oligoelemenata u mešavini je i po nekoliko puta veći u odnosu na njihov sadržaj u testu dobijenom od čistom pšeničnom brašnu.

3.8.3. Uticaj zamesa i termičke obrade na sadržaj lipida i acilglicerola u mešavini i testu

Sadržaj lipida i sastav acilglicerola mešavine pšeničnog brašna i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade prikazan je u tabeli 33.

Tabela 33. Sadržaj lipida i sastav acilglicerola mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade

Komponenta/Sadržaj	Mešavina, 70:30, m/m	Zames	Termička obrada
Lipidi (g/100 g brašna)	1,31	1,29±0,09	0,65±0,08
Slobodne masne kiseline*	42,01*	50,24±2,14	47,43±1,43
Slobodne masne kiseline**	651,50**	648,27±78,29	306,24±29,
Monoacilgliceroli*	3,68	4,76±0,08	6,57±0,98
Monoacilgliceroli**	52,90	61,21±1,62	43,28±0,57
Diacilgliceroli*	6,97	5,93±1,05	5,01±0,67
Diacilgliceroli**	84,10	75,35±7,03	32,64±1,25
Triacilgliceroli*	47,28	41,00±3,54	39,07±2,12
Triacilgliceroli**	504,40	500,24±48,96	264,72±32,49

* g po 100 g izolovanih lipida

** mg po 100 g brašna, tj, mešavine brašna

Zames testa skoro da ne utiče na sadržaj lipida u mešavini pšeničnog i brašna vrganja, dok je sadržaj lipida nakon termičke obrade manji za 50% u odnosu na sadržaj lipida u mešavini. Sadržaj slobodnih masnih kiselina se nakon zamesa praktično ne menja u odnosu na sadržaj masnih kiselina u mešavini pre zamesa, dok se nakon termičke obrade sadržaj slobodnih masnih smanjuje za 53% u odnosu na sadržaj masnih kiselina u mešavini.

Promene u sadržaju mono-, di- i tri-acilglicerola nakon zamesa i termičke obrade su različite. Sadržaj monoacilglicerola se nakon zamesa povećava za 13,5%, dok se sadržaj di- i triacilglicerola povećava za 10%, odnosno 1% u odnosu na sadržaj masnih kiselina u mešavini. Nakon termičke obrade sadržaj monoacilglicerola se smanjuje za 18%, a sadržaj di- i triacilglicerola za 61%, odnosno 47% u odnosu na njihov sadržaj u mešavini.

Na slici P17 u prilogu prikazan je HPLC hromatogram acilglicerola u ekstraktu lipida od testa nakon zamesa, a na slici P18 HPLC hromatogram acilglicerola u ekstraktu lipida od testa nakon pečenja.

3.8.4. Uticaj zamesa i termičke obrade na sastav masnih kiselina lipida u mešavini i testu

U tabeli 34 prikazan je sastav masnih kiselina lipida mešavine pšeničnog brašna i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade. Na osnovu podataka prikazanih u tabeli vidimo da se sadržaj palmitinske, oleinske i linolenske kiseline smanjuje nakon zamesa i termičke obrade u odnosu na njihov sadržaj u mešavini.

Tabela 34. Sastav masnih kiselina lipida mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade

Komponenta	Mešavina, 70:30, m/m	Zames	Termička obrada
Palmitinska kiselina (16:0)*	12,07	2,79±0,49	1,26±0,18
Palmitinska kiselina (16:0)**	128,70	35,96±2,65	8,19±1,41
Stearinska kiselina (18:0)*	0,72	nd	nd
Stearinska kiselina (18:0)**	6,79	nd	nd
Behenska kiselina (22:0)*	0,13	nd	nd
Behenska kiselina (22:0)**	1,19	nd	nd
Oleinska kiselina (18:1)*	9,76	4,29±0,98	1,47±0,24
Oleinska kiselina (18:1)**	96,2	57,09±4,66	9,56±0,91
Linolenska kiselina (18:2)*	60,12	8,63±1,21	3,63±0,12
Linolenska kiselina (18:2)**	721,40	111,24±13,29	23,59±3,24
ftalna kiselina*	0,45	0,89±0,07	nd
ftalna kiselina**	5,71	11,47±1,19	nd
UZmk*	13,55	2,79	1,29
UZmk**	142,70	35,96	8,19
UMZmk*	9,76	4,29	1,45
UMZmk**	96,90	57,09	9,56
UPZmk*	60,12	8,63	3,63
UPZmk**	723,50	111,24	23,59
UNmk*	69,88	12,92	5,08
UNmk**	819,70	168,33	33,18
UNmk/UMZmk	6,37	4,68	4,05

* g po 100 g lipida

** mg po 100 g testa nakon zamesa odnosno termičke obrade

nd- nije detektovna

UZmk – ukupne zasićene masne kiseline; UMZmk – ukupne mononezasićene masne kiseline;

UPZmk – ukupne polinezasićene masne kiseline; UNmk- ukupne nezasićene masne kiseline;

UNmk/UMZmk – odnos ukupnih nezasićenih i ukupno zasićenih masnih kiselina

Nakon zamesa i termičke obrade prisustvo behenske i stearinske nije detektovano, dok se sadržaj ftalne kiseline nakon zamesa povećava za 50% u odnosu na njen sadržaj u mešavini, dok nakon termičke obrade nije detektovano njeno prisustvo. Sadržaj ukupnih zasićenih masnih kiselina se nakon zamesa smanjuje za 75%, a nakon termičke obrade za 95% u odnosu na njihov sadržaj u mešavini.

Nakon zamesa sadržaj ukupnih nezasićenih masnih kiselina se smanjuje za 80%, a nakon termičke obrade za 95% u odnosu na njihov sadržaj nakon zamesa.

S obzirom da se sadržaj ukupnih zasićenih i nezasićenih masnih kiselina nakon zamesa i termičke obrade smanjuje, smanjuje se i odnos UNmk/Uzmk.

Na slici P19 i P20 u prilogu dati su GC hromatogrami masnih kiselina lipida testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade.

3.8.5. Uticaj zamesa i termičke obrade na sadržaj polifenola i tanina u pšeničnom brašnu, mešavini i testu

Sadržaj slobodnih i vezanih polifenola i tanina pšeničnog brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade prikazan je u tabeli 35. Na osnovu rezultata vidi se zames testa utiče na povećanje sadržaja slobodnih i smanjenje sadržaja vezanih polifenola za 23%, odnosno 11% u odnosu na njihov sadržaj u pšeničnom brašnu. Nakon termičke obrade sadržaj slobodnih i vezanih polifenola se smanjuje za 4%, odnosno 27% u odnosu na njihov sadržaj u pšeničnom brašnu. Sadržaj ukupnih polifenola se nakon zamesa i termičke obrade smanjuje za 10%, odnosno 25% u odnosu na njihov sadržaj u pšeničnom brašnu.

Tabela 35. Sadržaj slobodnih i vezanih polifenola i tanina pšeničnog brašna i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade

Komponenta	Pšenično brašno	Zames	Termička obrada
<i>Polifenoli (µg/g)*</i>			
Slobodni	22,46±1,23	29,22±2,32	21,63±1,46
Vezani	983,95±78,52	875,53±74,25	713,74±69,87
Ukupno	1006,41	904,75±48,97	753,37±58,32
<i>Tanini (µg/g)*</i>			
Slobodni	15,60±1,56	10,90±1,28	10,10±0,78
Vezani	141,42±11,23	56,18±4,69	94,58±0,56
Ukupno	157,02	67,08±5,98	104,68±13,24

* µg/g – µg galne kiseline po g brašna tj, testa nakon zamesa i termičke obrade

Zames i termička obrada testa utiču na smanjenje sadržaja slobodnih i vezanih tanina. Nakon zamesa sadržaj slobodnih i vezanih tanina se smanjuje za 30%, odnosno 60% u odnosu na njihov sadržaj u pšeničnom brašnu, dok se nakon termičke obrade sadržaj slobodnih i vezanih tanina smanjuje za 35%, odnosno 33% u odnosu na njihov sadržaj u pšeničnom brašnu. Sadržaj ukupnih tanina se nakon zamesa i termičke obrade takođe smanjuje za 57%, odnosno 33% u odnosu na njihov sadržaj u pšeničnom brašnu.

Do smanjenja sadržaja polifenola u toku termičke obrade može se objasniti kao posledica njihove direktne degradacije pod uticajem visokih temperatura (Nicoli i sar., 1999).

U tabeli 36 prikazani su rezultati sadržaja slobodnih i vezanih polifenola i tanina, kao i sadržaj flavonoida u mešavini pšeničnog brašna i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade.

U toku zamesa testa dolazi do povećanja sadržaja slobodnih polifenola za 30% u odnosu na sadržaj u mešavini, dok se sadržaj vezanih polifenola u toku zamesa praktično ne menja. Termička obrada utiče na povećanje sadržaja slobodnih polifenola za 8% u odnosu na sadržaj u mešavini, dok se sadržaj vezanih polifenola smanjuje za 6%. Sadržaj ukupnih polifenola se nakon zamesa povećava za 21%, a nakon termičke obrade za 3% u odnosu na njihov sadržaj u mešavini.

U toku zamesa testa sadržaj slobodnih i vezanih tanina smanjuje se za 38%, odnosno 42%, dok se u toku termičke obrade njihov sadržaj smanjuje za 42%, odnosno 25% u odnosu na sadržaj u mešavini. Tokom zamesa testa sadržaj ukupnih tanina smanjuje se za 35%, a tokom termičke obrade za 39% u odnosu na njihov sadržaj u mešavini.

Tabela 36. Sadržaj slobodnih i vezanih polifenola, flavonoida i slobodnih i vezanih tanina mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade

Komponenta	Mešavina 70:30, m/m	Zames	Termička obrada
<i>Polifenoli (µg/g)*</i>			
Slobodni	1305,76	1852,38±198,23	1411,36±156,41
Vezani	734,35	743,95±87,56	690,74±71,24
Ukupno	2040,11	2596,33±325,62	2102,10±156,23
<i>Tanini (µg/g)**</i>			
Slobodni	487,39	300,26±25,64	282,48±21,43
Vezani	103,79	82,14±7,23	78,23±81,24
Ukupno	591,18	382,40±23,14	360,71±39,45

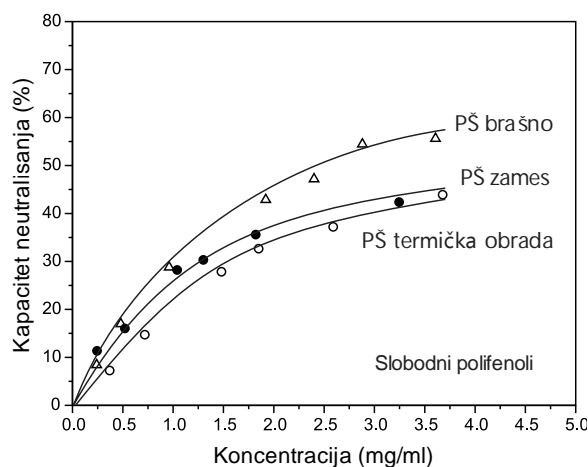
* µg/g – µg galne kiseline po g mešavine brašna tj, testa nakon zamesa i termičke obrade

Rezultati ispitivanja su pokazali da zames i termička obrada povoljno utiču na sadržaj slobodnih flavonoida. Sadržaj flavonoida bio je za 65% veći u odnosu na sadržaj u mešavini, i iznosio je 12,78 i 12,68 µg kvercetina po g testa nakon zamesa odnosno termičke obrade. U literaturi postoje podaci da sadržaj flavonoida može biti promenljiv u zavisnosti od UV zračenja i koncentracije CO₂ (Caldwell i sar., 2005; Daniel i sar., 1999), a nema podataka o uticaju zamesa i termičke obrade na sadržaj flavonoida.

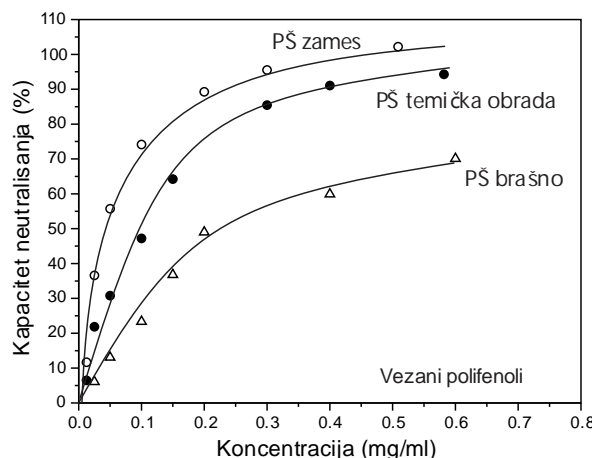
3.8.6. Uticaj zamesa i termičke obrade na antioksidativnu aktivnost

3.8.6.1. Uticaj zamesa i termičke obrade na antioksidativnu aktivnost testa od pšeničnog brašna

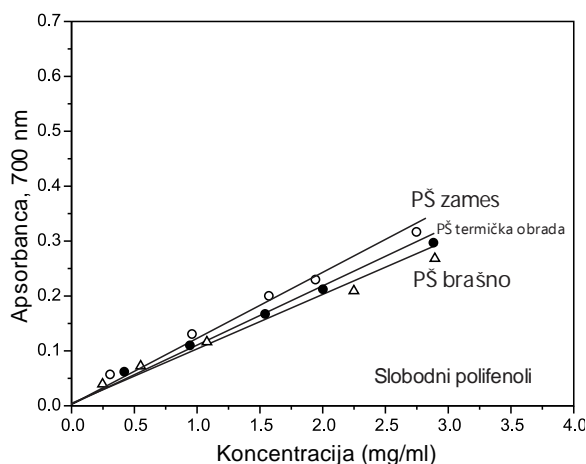
Na slici 33 prikazana je zavisnosti kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakta slobodnih polifenola pšeničnog brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade, a na slici 34 zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakta vezanih polifenola pšeničnog brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade. Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola pšeničnog brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade prikazana je na slici 35, dok je zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola pšeničnog brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade prikazana na slici 36.



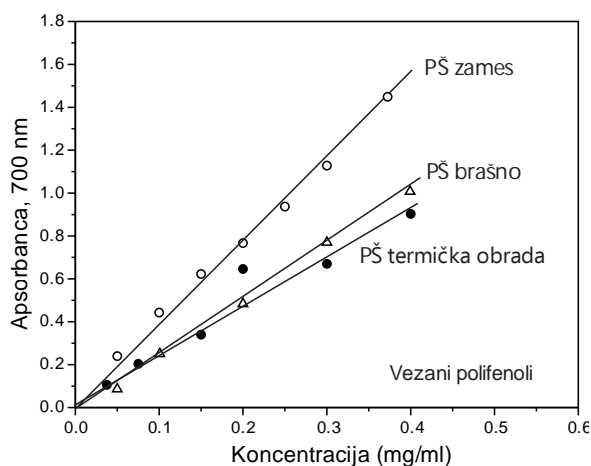
Slika 33. Zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade



Slika 34. Zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade



Slika 35. Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade



Slika 36. Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola pšeničnog (PŠ) brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade

U tabeli 37 prikazane su dobijene IC_{50} vrednosti za DPPH test i test redukcione snage ekstrakata slobodnih i vezanih polifenola pšeničnog brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade. Radi lakšeg poređenja antioksidativne aktivnosti u tabeli su date i njihove recipročne vrednosti ($1/IC_{50}$).

Table 37. Vrednost IC_{50} za DPPH test i test redukcione snage ekstrakta slobodnih i vezanih polifenola pšeničnog brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade

Polifenoli	Pšenično brašno		Zames		Termička obrada	
	Slobodni	Vezani	Slobodni	Vezani	Slobodni	Vezani
Sadržaj polifenola*	22,46	983,95	29,26	875,27	21,67	713,74
Ukupno	1006,41		904,53		735,41	
IC_{50} (DPPH test)	2,48	0,23	5,37	0,04	5,61	0,09
$1/IC_{50}$ (DPPH test)	0,40	4,35	0,19	25,00	0,18	11,11
IC_{50} (Redukciona snaga)	5,12	0,21	4,19	0,13	4,70	0,22
$1/IC_{50}$ (Redukciona snaga)	0,19	4,76	0,24	7,69	0,21	4,54

* μg galne kiseline po g brašna tj, mešavine brašna

** mg suvog ostatka po ml ekstrakta

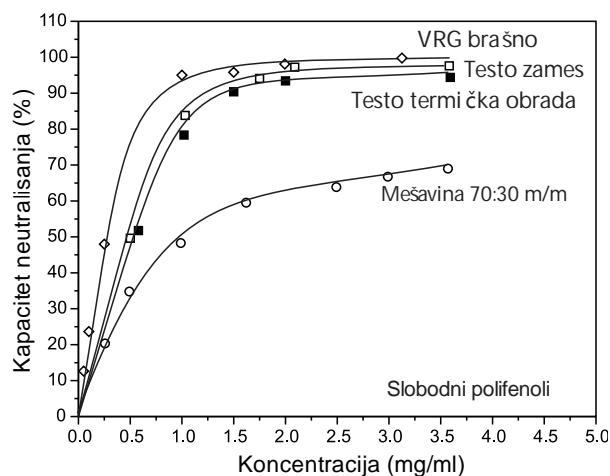
*** $(\text{mg suvog ostatka po ml ekstrakta})^{-1}$

Kapacitet neutralizacije DPPH radikala ekstrakta slobodnih polifenola nakon zamesa i termičke obrade se smanjuje 2 puta u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola pšeničnog brašna. U slučaju ekstrakta vezanih polifenola kapacitet neutralizacije DPPH radikala nakon zamesa povećava se za skoro 6 put, a nakon termičke obrade za 2,5 puta u odnosu na ekstrakte vezanih polifenola pšeničnog brašna. Redukciona snaga ekstrakta slobodnih polifenola nakon zamesa i termičke obrade se povećava 1,3 puta, odnosno 1,1 puta u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola pšeničnog brašna.

Kod ekstrakata vezanih polifenola redukciona snaga se nakon zamesa povećava 1,6 puta, dok se nakon termičke obrade redukciona snaga praktično ne menja, u odnosu na ekstrakte pšeničnog brašna.

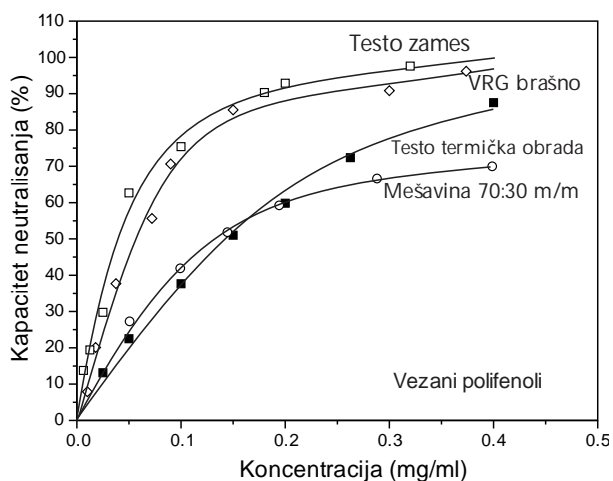
3.8.6.2. Uticaj zamesa i termičke obrade na antioksidativu aktivnost testa od mešavine brašna

Zavisnosti kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakta slobodnih polifenola mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade prikazana je na slici 37, a na slici 38 zavisnosti kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakta vezanih polifenola mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade.

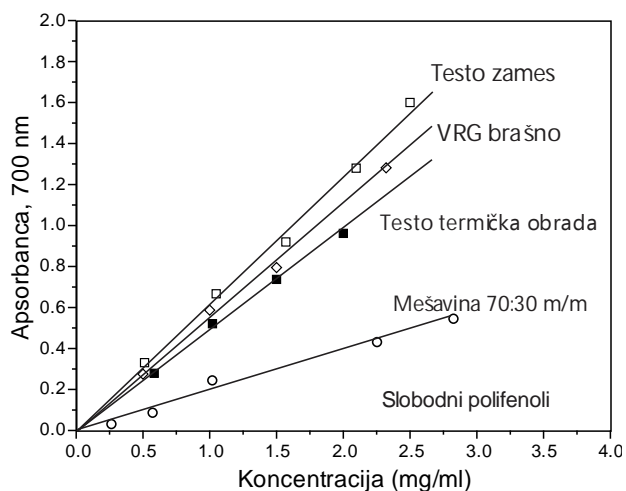


Slika 37. Zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola brašna vrganja (VRG), mešavine pšeničnog (PŠ) i brašna vrganja (VRG) (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade

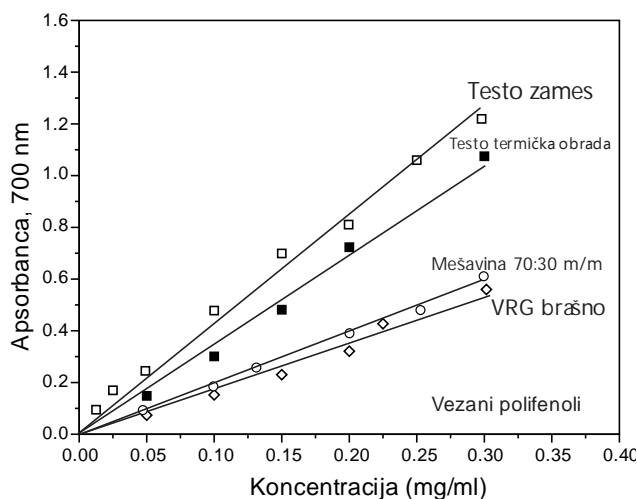
Zavisnost redukcionne snage od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola mešavine pšeničnog i brašna vrganja i testa nakon zamesa i termičke obrade prikazana je na slici 39, dok je na slici 40 prikazana zavisnost redukcionne snage od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola mešavine pšeničnog i brašna vrganja i testa nakon zamesa i termičke obrade.



Slika 38. Zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola brašna vrganja (VRG), mešavine pšeničnog (PŠ) i brašna vrganja (VRG) (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade



Slika 39. Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola brašna vrganja (VRG), mešavine pšeničnog (PŠ) i brašna vrganja (VRG) (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade



Slika 40. Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola brašna vrganja (VRG), mešavine pšeničnog (PŠ) i brašna vrganja (VRG) (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade

U tabeli 38 prikazane su dobijene IC_{50} i njihove recipročne vrednosti za DPPH test i test redukcione snage ekstrakata slobodnih i vezanih polifenola mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade.

Kapacitet neutralizacije DPPH radikala nakon zamesa i termičke obrade za ekstrakte slobodnih polifenola povećava se skoro 2 puta, odnosno 1,3 puta u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola pšeničnog brašna.

Table 38. Vrednost IC_{50} za DPPH test i test redukcione snage ekstrakta slobodnih i vezanih polifenola mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade

Polifenoli	Mešavina, 70:30, m/m		Zames		Termička obrada	
	Slobodni	Vezani	Slobodni	Vezani	Slobodni	Vezani
Sadržaj polifenola*	1305,76	734,35	2261,92	743,96	1764,24	690,61
Ukupno	2040,11		3005,88		2454,85	
IC_{50}^{**} (DPPH test)	0,86	0,13	0,45	0,04	0,65	0,14
$1/IC_{50}^{***}$ (DPPH test)	1,16	7,69	2,22	25,00	1,54	7,14
IC_{50}^{**} (Redukciona snaga)	2,55	0,24	0,84	0,12	1,06	0,14
$1/IC_{50}^{***}$ (Redukciona snaga)	0,39	4,17	1,19	8,33	0,94	7,14

* μ g galne kiseline po g brašna tj, mešavine brašna

** mg suvog ostatka po ml ekstrakta

*** $(\text{mg suvog ostatka po ml ekstrakta})^{-1}$

U slučaju vezanih polifenola kapacitet neutralizacije DPPH radikala nakon zamesa povećava se 3,2 puta, a nakon termičke obrade gotovo se i ne menja u odnosu na ekstrakte vezanih polifenola pšeničnog brašna. Redukciona snaga za ekstrakte slobodnih polifenola nakon zamesa i termičke se povećava za 3 puta, odnosno 2,5 puta u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola pšeničnog brašna. Ekstrakti vezanih polifenola pokazuju bolju redukcionu snagu u odnosu na ekstrakte vezanih polifenola pšeničnog brašna za 2 puta, odnosno 1,7 puta.

Dobijeni rezultati pokazuju da se zamenom dela pšeničnog brašna brašnom vrganja antioksidativna aktivnost ekstrakata slobodnih i vezanih polifenola mešavina brašna povećava u odnosu na ekstrakte slobodnih i vezanih polifenola pšeničnog brašna. Bolja antioksidativna aktivnost ekstrakata slobodnih i vezanih polifenola mešavina može se objasniti time što se zamenom dela pšeničnog brašna brašnom vrganja povećava sadržaj antioksidativnih jedinjenja u mešavinama čime se povećava i antioksidativna aktivnost.

3.8.7. Uticaj zamesa i termičke obrade na sadržaj polifenolnih kiselina u pšeničnom brašnu, mešavini i testu

Sadržaj pojedinih polifenolnih kiselina u ekstraktu slobodnih i vezanih polifenola pšeničnog brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade prikazan je u tabeli 39. Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli vidimo da zames testa praktično ne menja sadržaj slobodnih polifenolnih kiselina, dok se nakon termičke obrade sadržaj slobodnih polifenolnih kiselina smanjuje za 35% u odnosu na sadržaj u ekstraktu pšeničnog brašna.

Tabela 39. Sadržaj pojedinih fenolnih kiselina u ekstraktu slobodnih i vezanih polifenola pšeničnog brašna i testa nakon zamesa i termičke obrade

Fenolna kiselina	Pšenično brašno	Zames	Termička obrada
<i>Slobodne polifenolne kiseline (µg/g)*</i>			
Galna	5,21±1,14	5,78±0,99	4,82±0,94
Protokatehinska	13,96±1,64	14,04±1,25	7,61±1,56
Ukupno slobodnih	19,17	19,82	12,43
<i>Vezane polifenolne kiseline (µg/g)*</i>			
Hlorogena	nd	87,29±6,59	nd
Galna	33,56±2,45	62,20±7,24	49,79±3,21
Protokatehinska	1,02±0,23	1,26±0,39	0,75±0,38
Kafeinska	2,92±0,25	4,37±0,87	2,91±0,95
Genistinska	6,11±1,24	3,61±1,12	3,23±1,41
Kumarinska	nd	3,12±0,09	3,26±0,12
<i>trans</i> -Ferulinska	652,24±52,45	651,28±65,74	638,38±48,96
Ukupno vezanih	695,85	813,13	689,32
<i>Ukupno slobodnih i vezanih pojedinih polifenolnih kiselina (µg/g)*</i>			
Hlorogena	nd	87,29	nd
Galna	38,77	67,98	54,61
Protokatehinska	14,98	15,30	8,36
Kafeinska	2,92	4,37	2,91
Genistinska	6,11	3,61	3,23
Kumarinska	nd	3,12	3,26
Ferulinska	652,24	651,28	638,38
Ukupno	715,02	832,95	701,75

* µg/g – µg odgovarajuće kiseline po g brašna tj, mešavine brašna
nd – nije detektovana

Sadržaj vezanih polifenolnih kiselina nakon zamesa povećava se za 15% u odnosu na njihov sadržaj u ekstraktu pšeničnog brašna, dok je nakon termičke obrade sadržaj vezanih polifenolnih kiselina skoro nepromenjen. Sadržaj ukupnih slobodnih i vezanih polifenolnih kiselina nakon zamesa se povećava za 14%, dok se nakon termičke obrade njihov sadržaj smanjuje za oko 2% u odnosu na njihov sadržaj u ekstraktu pšeničnog brašna.

Sadržaj pojedinih fenolnih kiselina u ekstraktu slobodnih i vezanih polifenola mešavine pšeničnog brašna i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade prikazan je u tabeli 40. Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli vidimo da se nakon zamesa i termičke obrade testa sadržaj ukupnih slobodnih polifenolnih kiselina smanjuje za 5%, odnosno 42% u odnosu na njihov sadržaj u ekstraktu mešavine. Sadržaj vezanih polifenolnih kiselina se nakon zamesa povećava za 45%, dok nakon termičke obrade sadržaj ostaje nepromenjen u odnosu na njihov sadržaj u ekstraktu mešavine. Zames testa povećava sadržaj ukupnih slobodnih i vezanih polifenolnih kiselina za 35%, a termička obrada smanjuje njihov sadržaj za 13,5% u odnosu na njihov sadržaj u ekstraktu mešavine.

Tabela 40. Sadržaj pojedinih fenolnih kiselina u ekstraktu slobodnih i vezanih polifenola mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) i testa nakon zamesa i termičke obrade

Fenolna kiselina	Mešavina 70:30, m/m	Zames	Termička obrada
<i>Slobodne polifenolne kiseline (µg/g)*</i>			
Galna	90,46±2,47	95,46±4,35	76,75±7,42
Protokatehinska	166,69±7,54	149,95±8,74	72,30±9,47
Ukupno slobodnih	257,15	245,41	149,05
<i>Vezane polifenolne kiseline (µg/g)*</i>			
Hlorogena	10,64±1,47	328,06±27,89	nd
Galna	54,81±12,30	184,29±16,76	110,70±15,46
Protokatehinska	1,04±0,14	1,43±0,26	1,72±0,84
Kafeinska	2,05±0,27	1,42±0,17	1,24±0,19
Genistinska	4,49±0,81	0,39±0,14	nd
<i>trans</i> -Ferulinska	456,57±35,87	448,96±45,62	418,55±41,61
Ukupno vezanih	529,60	964,55	532,21
<i>Ukupno slobodnih i vezanih pojedinih polifenolnih kiselina (µg/g)*</i>			
Hlorogena	10,64	328,06	nd
Galna	156,07	279,75	187,45
Protokatehinska	167,73	151,38	74,02
Kafeinska	2,05	1,42	1,24
Genistinska	4,49	0,39	nd
<i>trans</i> -Ferulinska	456,57	448,96	418,55
Ukupno	786,75	1209,96	681,26

µg/g – µg odgovarajuće kiseline po g brašna tj, mešavine brašna
nd – nije detektovana

HPLC hromatogrami fenolnih kiselina u ekstraktima slobodnih i vezanih polifenola dobijenih iz pšeničnog brašna, brašna vrganja, mešavine pšeničnog i brašna vrganja i testa dobijenog nakon zamesa i termičke obrade dati su u prilogu (slika P21-P24).

3.9. Analiza proizvoda

Proizvod od pšeničnog brašna (PP) i mešavine pšeničnog brašna i brašna vrganja (PPV) pripremljen je po recepturi datoj u poglavlju 2.2.13.

3.9.1. Sadržaj polifenola u proizvodima nakon zamesa i termičke obrade

U tabeli 41 prikazani su rezultati sadržaja slobodnih i vezanih polifenola u ekstraktima slobodnih i vezanih polifenola proizvoda od čistog pšeničnog brašna i mešavine pšeničnog i brašna vrganja, nakon zamesa i termičke obrade.

Sadržaj slobodnih i vezanih polifenola u proizvodu od pšeničnog brašna nakon termičke obrade smanjuje se za 18,5%, odnosno 35% u odnosu na njihov sadržaj u proizvodu od pšeničnog brašna nakon zamesa, usled čega je i sadržaj ukupnih polifenola nakon termičke obrade manji u odnosu na sadržaj polifenola nakon zamesa.

Tabela 41. Sadržaj slobodnih i vezanih polifenola ($\mu\text{g/g}$) u ekstraktima slobodnih i vezanih polifenola proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna i mešavine pšeničnog i brašna vrganja, nakon zamesa i termičke obrade

Polifenoli	Proizvod od pšeničnog brašna, nakon zamesa	Proizvod od pšeničnog brašna, nakon termičke obrade	Proizvod od mešavine brašna, nakon zamesa	Proizvod od mešavine brašna, nakon termičke obrade
Slobodni	216,82±16,25	176,68±16,52	287,07±26,71	314,49±29,37
Vezani	348,46±43,51	227,57±26,54	279,13±25,68	458,69±47,68
Ukupno	565,28	404,25	566,2	773,18

* $\mu\text{g/g}$ – μg galne kiseline po g uzorka

U proizvodu dobijenom od mešavine pšeničnog i brašna vrganja sadržaj slobodnih i vezanih polifenola se nakon termičke obrade povećava za 8,7%, odnosno 39% u odnosu na njihov sadržaj u proizvodu od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa.

Sadržaj ukupnih polifenola u proizvodu od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon termičke obrade veći je u odnosu na isti sadržaj u proizvodu od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa za 27%.

Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 41 vidimo da je sadržaj ukupnih polifenola nakon zamesa isti u proizvodu od čistog pšeničnog brašna i proizvodu od mešavine pšeničnog i brašna vrganja, dok je nakon termičke obrade sadržaj ukupnih polifenola veći u proizvod od mešavine pšeničnog i brašna vrganja u odnosu na proizvod od pšeničnog brašna za 48%.

Porast u sadržaju polifenola nakon termičke obrade može se objasniti hemijskim promenama u strukturi polifenola pod uticajem toplote kada dolazi do oslobađanja antioksidativnih jedinjenja koja se nalaze u ćelijskom zidu, tj. oslobađanjem vezanih polifenola (Hayat i sar., 2009).

3.9.2. Uticaj zamesa i termičke obrade na DPPH test i redukcionu snagu kod proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna i mešavine pšeničnog i brašna vrganja

U tabeli 42 prikazane su IC_{50} vrednosti za DPPH test i test redukcione snage ekstrakata slobodnih i vezanih polifenola proizvoda dobijenog od čistog pšeničnog brašna nakon zamesa i termičke obrade. Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli vidimo da ekstrakti vezanih polifenola proizvoda nakon zamesa pokazuju veći kapacitet neutralizacije DPPH radikala i redukcionu snagu za 18 puta, odnosno 35 puta u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola proizvoda nakon zamesa. Nakon termičke obrade ekstrakti vezanih polifenola takođe pokazuju veći kapacitet neutralizacije DPPH radikala i redukcionu snagu u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola proizvoda za 8,5 puta, odnosno 4,5 puta.

Tabla 42. Vrednost IC_{50} za DPPH test i test redukcione snage ekstrakta slobodnih i vezanih polifenola proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna nakon zamesa i termičke obrade

Polifenoli	Zames		Termička obrada	
	Slobodni	Vezani	Slobodni	Vezani
IC_{50}^* (DPPH test)	11,38	0,63	8,54	0,99
$1/IC_{50}^{**}$ (DPPH test)	0,088	1,59	0,12	1,01
IC_{50}^* (Redukciona snaga)	31,52	0,89	5,98	1,28
$1/IC_{50}^{**}$ (Redukciona snaga)	0,032	1,12	0,17	0,78

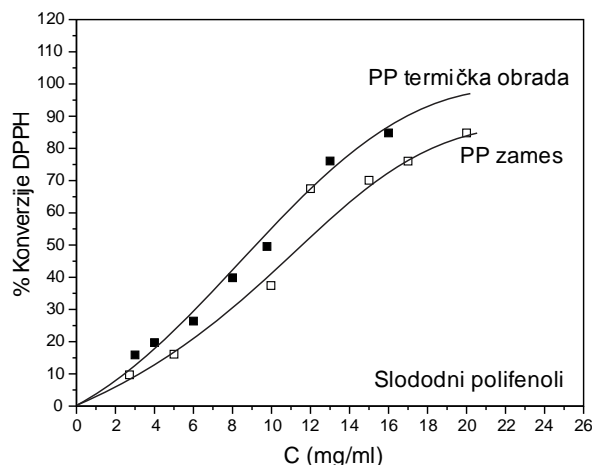
* mg suvog ostatka po ml ekstrakta

** $(\text{mg suvog ostatka po ml ekstrakta})^{-1}$

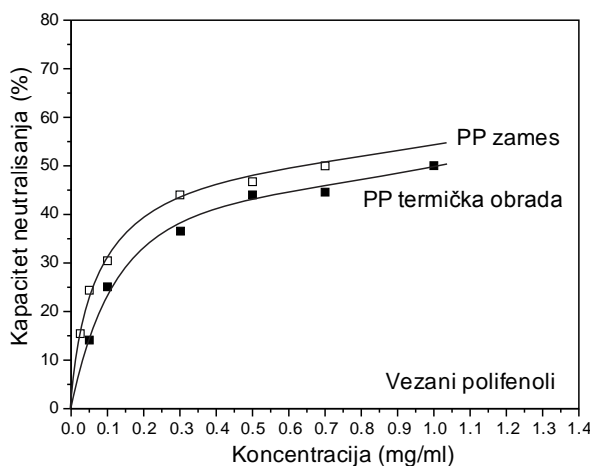
Ovakvi rezultati navode na zaključak da ekstrakti vezanih polifenola pokazuju bolju sposobnost neutralizacije DPPH radikala i redukcionu snagu, tj. bolju antioksidativnu aktivnost, nakon zamesa i termičke obrade u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola.

Nakon termičke obrade povećava se kapacitet neutralizacije DPPH radikala i redukciona snaga ekstrakta slobodnih polifenola za 1,3 puta, odnosno 5,3 puta u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola proizvoda nakon zamesa. Povećanje kapaciteta neutralizacije DPPH radikala i redukcione snage proizvoda nakon termičke obrade može biti posledica Millard-ovih reakcija kada nastaju jedinjenja koja imaju antioksidativnu aktivnost (Morales i Babel, 2002).

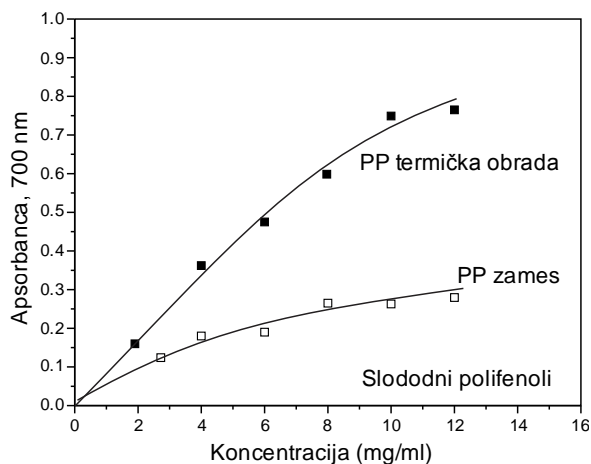
U slučaju ekstrakata vezanih polifenola proizvoda kapacitet neutralizacije DPPH radikala i redukciona snaga nakon termičke obrade smanjuju se za 1,5 puta, odnosno 1,4 puta u odnosu na ekstrakte vezanih polifenola proizvoda nakon zamesa. Smanjenje kapaciteta neutralizacije DPPH radikala i redukciona snaga vezanih polifenola može se objasniti sastavom vezanih polifenola. Verovatno se dejstvom toplote oslobadjaju vezani polifenoli koji imaju manju sposobnost neutralizacije DPPH radikala i redukcionu snagu, ili se jedinjenja koja se ekstrahuju tokom zamesa, a koja imaju ove sposobnosti, degradiraju tokom termičke obrade.



Slika 41. Zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna nakon zamesa i nakon termičke obrade

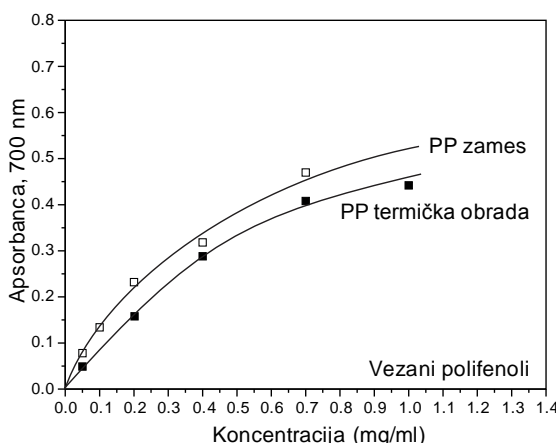


Slika 42. Zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna nakon zamesa i nakon termičke obrade



Slika 43. Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna nakon zamesa i termičke obrade

Na slici 41 prikazana je zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna nakon zamesa i termičke obrade, dok je na slici 42 prikazana zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna nakon zamesa i termičke obrade. Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna nakon zamesa i termičke obrade prikazana je na slici 43, dok je na slici 44 prikazana zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna nakon zamesa i termičke obrade.



Slika 44. Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata slobodnih vezanih polifenola proizvedenog od pšeničnog brašna nakon zamesa i termičke obrade

U tabeli 43 prikazane su IC_{50} vrednosti za DPPH test i redukcionu snagu ekstrakata slobodnih i vezanih polifenola proizvedenih od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa i termičke obrade. Na osnovu podataka prikazanih u tabeli vidimo da nakon zamesa i termičke obrade ekstrakti vezanih polifenola proizvedenog pokazuju bolji kapacitet neutralizacije DPPH radikala i redukcionu snagu, odnosno bolju antioksidativnu aktivnost, u odnosu na ekstrakte slobodnih polifenola proizvedenog.

Tabela 43. Vrednost IC_{50} za DPPH test i test redukcione snage ekstrakta slobodnih i vezanih polifenola proizvedenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) nakon zamesa i termičke obrade

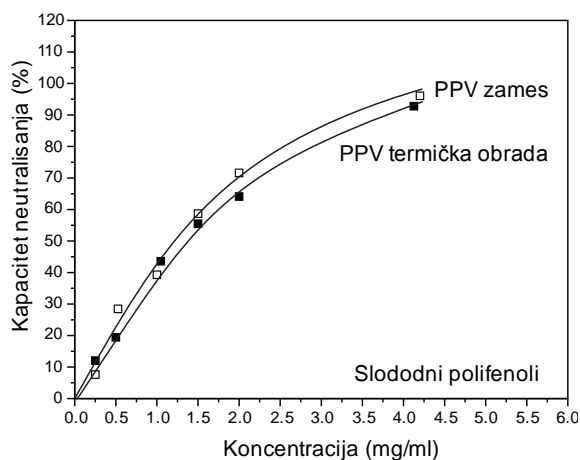
IC ₅₀ vrednost	Zames		Termička obrada	
	Slobodni	Vezani	Slobodni	Vezani
IC ₅₀ [*] (DPPH test)	1,18	0,41	1,37	0,28
1/ IC ₅₀ ^{**} (DPPH test)	0,85	2,44	0,73	3,57
IC ₅₀ [*] (Redukciona snaga)	8,07	1,02	8,51	1,18
1/ IC ₅₀ ^{**} (Redukciona snaga)	0,13	0,98	0,12	0,85

* mg suvog ostatka po ml ekstrakta

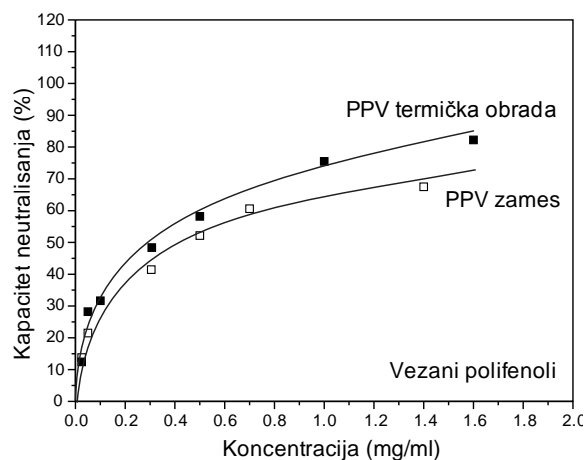
** (mg suvog ostatka po ml ekstrakta)⁻¹

Termička obrada utiče na smanjenje kapaciteta neutralizacije ekstrakata slobodnih polifenola proizvedenog za 1,2 puta, dok se kapacitet neutralizacije ekstrakta vezanih polifenola proizvedenog povećava za 1,5 puta u odnosu na ekstrakte slobodnih i vezanih polifenola proizvedenog nakon zamesa. Redukciona snaga za ekstrakte slobodnih polifenola proizvedenog se nakon termičke obrade smanjuje 1,1 puta, a za ekstrakte vezanih polifenola proizvedenog za 1,2 puta u odnosu na ekstrakte slobodnih i vezanih polifenola proizvedenog nakon zamesa. Na slici 45 prikazana je zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola proizvedenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa i termičke obrade, dok je na slici 46 prikazana zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola proizvedenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa i termičke obrade.

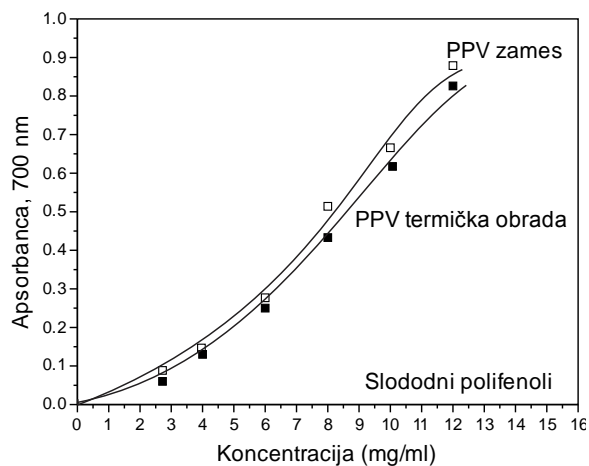
Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola proizvoda dobijenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa i termičke obrade prikazana je na slici 47, dok je na slici 48 prikazana zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola proizvoda dobijenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa i termičke obrade.



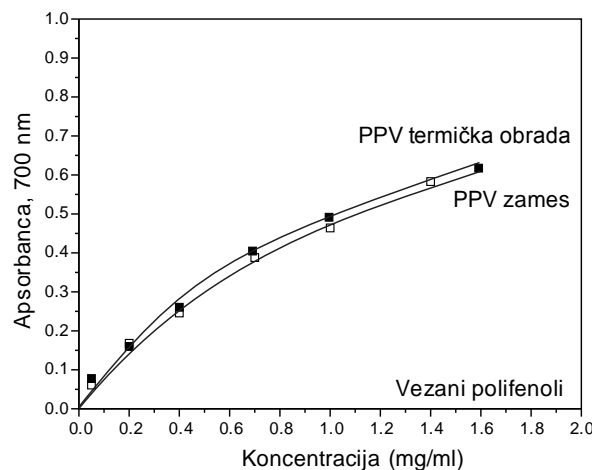
Slika 45. Zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola proizvoda dobijenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa i nakon termičke obrade



Slika 46. Zavisnost kapaciteta neutralisanja DPPH radikala od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola proizvoda dobijenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa i nakon termičke obrade



Slika 47. Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata slobodnih polifenola proizvoda dobijenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa i termičke obrade



Slika 48. Zavisnost redukcione snage od koncentracije ekstrakata vezanih polifenola proizvoda dobijenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon zamesa i termičke obrade

Rezultati prikazani u tabelama 42 i 43 pokazuju da vezani polifenoli proizvoda od mešavine pšeničnog i brašna vrganja dobijenog nakon termičke obrade, pokazuju bolju sposobnost neutralizacije DPPH radikala i redukcionu snagu, dok slobodni polifenoli proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna, nakon termičke obrade pokazuju bolju sposobnost neutralizacije DPPH radikala i manju redukcionu snagu u odnosu na proizvode od mešavine pšeničnog i brašna vrganja.

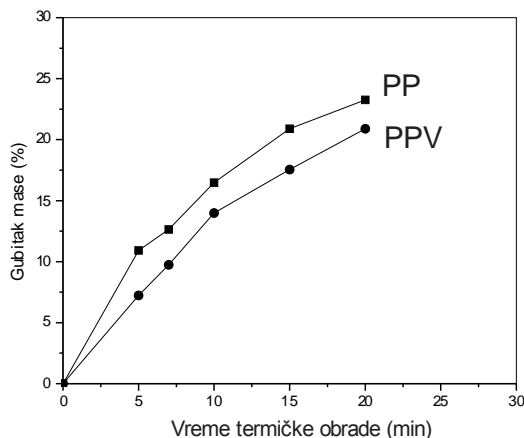
Na slici 49 prikazan je izgled proizvoda od pšeničnog brašna, a na slici 50 izgled proizvoda od mešavine pšeničnog i brašna vrganja, nakon pečenja, a na slici 51 prikazan je gubitak mase tokom termičke obrade proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna (PP) i proizvoda dobijenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja (PPV).



***Slika 49. Izgled proizvoda od pšeničnog brašna nakon pečenja
(odozgo, sa strane i na poprečnom preseku)***



***Slika 50. Izgled proizvoda od mešavine pšeničnog i brašna vrganja nakon pečenja
(odozgo, sa strane i na poprečnom preseku)***



Slika 51. Gubitak mase tokom termičke obrade proizvoda od pšeničnog brašna (PP) i proizvoda od mešavine pšeničnog i brašna vrganja (PPV)

U tabeli 44 prikazani su podaci koji se odnose na karakterizaciju proizvoda dobijenog od pšeničnog brašna (PP) i proizvoda dobijenog od mešavine pšeničnog i brašna vrganja (PPV).

Tabela 44. Karakterizacija proizvoda od pšeničnog brašna (PP) i proizvoda od mešavine pšeničnog i brašna vrganja (PPV)

Proizvod	Gubitak mase* (g/100g)	Držanje nakon zamesa, Dz**	Držanje nakon termičke obrade, Dto**	Dto/Dz	Zapremina (cm ³)
PP	23,27±2,14	0,33±0,07	0,51±0,08	1,54	12,50
PPV	20,89±1,98	0,34±0,06	0,58±0,05	1,03	17,50

*nakon 20 minuta termičke obrade

** h/d

Nakon 20 min termičke obrade proizvod dobijen od PPV pokazuje manji gubitak mase u odnosu na proizvod dobijen od PP. Zapremina dobijenog proizvoda od PP iznosi 12,50 cm³, i manja je u odnosu na zapreminu proizvoda dobijenog od PPV koja iznosi 17,50 cm³. Nakon dodavanja brašna vrganja pšeničnom brašnu smanjuje se držanje proizvoda nakon termičke obrade verovatno kao posledica manjeg sadržaja glutena, kao glavnog sastojka odgovornog za strukturu finalnog proizvoda.

3.10. Statistička obrada podataka

Korelacioni koeficijenti između pojedinih hemijskih parametara pšeničnog i brašna vrganja (sadržaja proteina, magnezijuma, celuloze, monoacilglicerola, linolenske kiseline i ukupnih polifenola, kao i antioksidativne aktivnosti slobodnih i vezanih polifenola ispitivane kao sposobnost neutralisanja DPPH radikala, i nekih reoloških svojstava testa dobijenih od ispitivanih brašna i njihovih mešavina, (moć upijanja vode, stabilnost testa, temperatura želatinizacije i vrednost maksimalnog viskoziteta suspenzije) prikazani su u tabeli 45.

Broj uzoraka bio je deset ($N=10$ (5×2): pšenično brašno, brašno vrganja i mešavine sa udelom brašna vrganja od 5, 10 i 20%, i dobijene maksimalne i minimalne vrednosti. S obzirom na veliki broj visokih vrednosti korelacionih koeficijenata, diskutovane su samo korelacije čije su vrednosti veće od 0,95.

Tabela 45. Korelaciona matrica između sadržaja nekih komponenti i reoloških svojstava pšeničnog brašna, brašna vrganja i njihovih mešavina ($p < 0.05$, $N=10$)

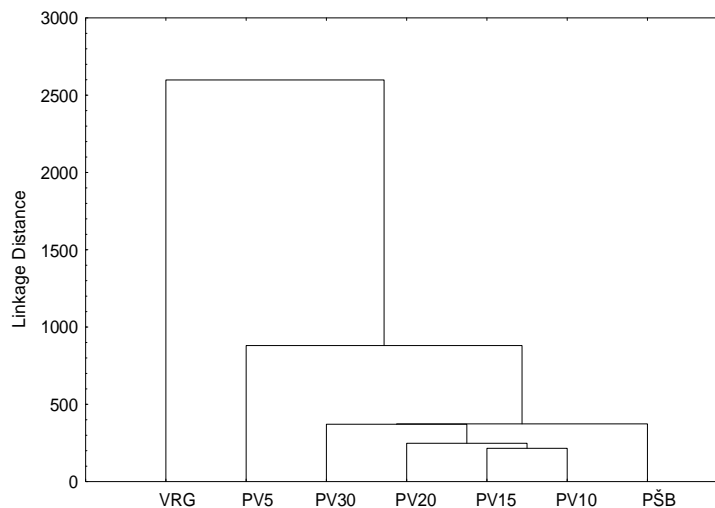
Parametar	Proteini		Celuloza		MAG		Linolenska		Polifenoli		AOA S		AOA V		MUV		Stabilnost		T _{max}		η _{max}	
Mg	0,96	Mg	0,97	Celuloza	0,97	MAG	0,97	Linolenska	0,97	Polifenoli	0,97	AOA S	0,92	AOA V	0,91	MUV	0,75	Stabilnost	0,95	T _{max}	0,78	η _{max}
Celuloza	0,96	0,97	Celuloza	0,97	MAG	0,97	Linolenska	0,97	Polifenoli	0,97	AOA S	0,92	AOA V	0,91	MUV	0,75	Stabilnost	0,95	T _{max}	0,78	η _{max}	
MAG	0,96	0,97	0,97	MAG	0,97	Linolenska	0,97	Polifenoli	0,97	AOA S	0,92	AOA V	0,91	MUV	0,75	Stabilnost	0,95	T _{max}	0,78	η _{max}		
Linolenska	0,96	0,97	0,97	0,97	Linolenska	0,97	Polifenoli	0,97	AOA S	0,92	AOA V	0,91	MUV	0,75	Stabilnost	0,95	T _{max}	0,78	η _{max}			
Polifenoli	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	Polifenoli	0,97	AOA S	0,92	AOA V	0,91	MUV	0,75	Stabilnost	0,95	T _{max}	0,78	η _{max}				
AOA Slo	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	AOA S	0,92	AOA V	0,91	MUV	0,75	Stabilnost	0,95	T _{max}	0,78	η _{max}					
AOA Vez	0,94	0,93	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	AOA V	0,92	AOA V	0,91	MUV	0,75	Stabilnost	0,95	T _{max}	0,78	η _{max}				
MUV	0,91	0,96	0,91	0,93	0,93	0,93	0,92	0,81	0,91	MUV	0,75	Stabilnost	0,95	T _{max}	0,78	η _{max}						
Stabilnost	0,74	0,77	0,74	0,75	0,75	0,75	0,73	0,72	0,65	0,75	Stabilnost	0,95	T _{max}	0,78	η _{max}							
T _{max}	0,81	0,87	0,82	0,83	0,83	0,83	0,86	0,81	0,78	0,87	0,95	T _{max}	0,78	η _{max}								
η _{max}	0,72	0,71	0,69	0,72	0,72	0,72	0,73	0,63	0,75	0,84	0,69	0,78	η _{max}									

Sve korelacije bile su pozitivne, najveći broj korelacija je između hemijskih parametara. Tako visok sadržaj proteina ukazuje na visok sadržaj magnezijuma, celuloze, monoacilglicerola, linolenske kiseline, ukupnih polifenola i antioksidativne aktivnosti slobodnih polifenola, visok sadržaj magnezijuma na visok sadržaj celuloze, monoacilglicerola, linolenske kiseline, ukupnih polifenola i antioksidativne aktivnosti slobodnih polifenola, visok sadržaj monoacilglicerola na visok sadržaj linolenske kiseline, ukupnih polifenola i antioksidativne aktivnosti slobodnih polifenola, dok je visok sadržaj linolenske kiseline upućuje na visok sadržaj polifenola i jaču antioksidativnu aktivnost, kako slobodnih tako i vezanih polifenola.

Od dobijenih korelacija treba izdvojiti pozitivnu korelaciju između monoacilglicerola i linolenske kiseline, koja može upućivati na to da je linolenska kiselina najzastupljenija masna kiselina u monoacilglicerolima, kao i korelacije koje postoje između hemijskih i reoloških parametara i korelacije između reoloških parametara. Tako je visok sadržaj magnezijuma ukazuje na veliku moć upijanja vode kao reološko svojstvo u ispitivanim testima, a visoka temperatura želatinizacije upućuje na dužu stabilnost testa. Poslednja korelacija je i jedina koja je dobijena između dva reološka svojstva ispitivanih testa.

Primenom klaster analize metodom potpunog povezivanja, gde se udaljenost tj. Euclidean-ovo rastojanje između dva klastera računa na osnovu udaljenosti između dva najudaljenija člana, uzorci pšeničnog brašna, brašna vrganja i njihovih mešavina klasifikovani su u grupe.

Broj varijabla bio je sedam: pšenično brašno (PŠB), brašno vrganja (VRG) i mešavine sa udelom brašna vrganja od 5, 10, 15, 20 i 30% (PV5, PV10, PV15, PV20 i PV30, redom).



Slika 52. Dendrogram pšeničnog brašna, brašna vrganja i njihovih mešavina

Broj parametara trinaest (devet hemijskih: sadržaj proteina, magnezijuma, celuloze, slobodnih masnih kiselina, monoacilglicerola, linolenske kiseline, ukupnih polifenola i antioksidativna aktivnost slobodnih i vezanih polifenola, određena kao kapacitet neutralisanja DPPH radikala, i četiri reoloških: moć upijanja vode, stabilnost testa, temperature želatinizacije i vrednost maksimalnog viskoziteta suspenzije). Dobijena Euclidean-ova rastojanja prikazana su denrogramom na slici 52.

Mešavine pšeničnog i brašna vrganja u odnosu 90:10 i 85:15, m/m povezane su sa pšeničnim brašnom na najbližem Euclidean-ovom rastojanju od 209, dok se ostale mešavine nalaze na većim rastojanjima, i to mešavina 80:20, m/m na rastojanju od 256, mešavina 70:30, m/m na rastojanju od 384, a mešavina 95:5, m/m na rastojanju od 887. Zato se u cilju dobijanja testa sa reološkim i hemijskim karakteristikama bliskim pšeničnom brašnu, a koja su istovremeno obogaćena sastojcima vrganja, preporučuju mešavine sa udelom brašna vrganja od 10 do 15%.

4. ZAKLJUČAK

Radi procene mogućnosti korišćenja brašna vrganja (*Boletus edulis*) u cilju dobijanja prehrambenih proizvoda sa boljim nutritivnim i funkcionalnim svojstvima, u disertaciji je izvršena karakterizacija brašna vrganja određivanjem sadržaja proteina, ukupnih lipida, pepela, celuloze i mineralnih materija, udeo mono-, di- i tri-acilglicerola i masnih kiselina. Određen sadržaj slobodnih i vezanih polifenola i njihova antioksidativna aktivnost određivanjem kapaciteta neutralisanja DPPH radikala i redukcione snage, kao i uticaj različitih udela brašna vrganja u mešavinama sa pšeničnim brašnom na reološke osobine testa. Posebno je ispitan uticaj obrade testa, tj. uticaj zamesa i termičke obrade na sadržaj slobodnih i vezanih polifenola, pojedinih fenolnih kiselina i njihovu antioksidativnu aktivnost.

Na osnovu dobijenih rezultata izvedeni su sledeći zaključci:

1. Dodatkom brašna vrganja pšeničnom brašnu povećava se sadržaj proteina, lipida, pepela, celuloze i tanina, a smanjuje sadržaj ugljenih hidrata i glutena.

2. Zamena dela pšeničnog brašna brašnom vrganja predstavlja dobar način da se sadržaj minerala kao što su Mg, Na, K, Fe i Cu poveća. Sadržaj ovih minerala se povećava sa povećanjem udela brašna vrganja.

3. Povećanjem udela brašna vrganja u mešavini povećava se sadržaj lipida, slobodnih masnih kiselina i monoacilglicerola, a smanjuje sadržaj di- i tri-acilglicerola. Zamenom dela pšeničnog brašna brašnom vrganja sadržaj ukupnih zasićenih masnih kiselina se smanjuje, a povećava sadržaj ukupnih nezasićenih masnih kiselina.

4. Dodatkom brašna vrganja pšeničnom brašnu, moć upijanja vode raste u odnosu na pšenično brašno. Dodatak brašna vrganja ima uticaj na proces želatinizacije skroba u mešavinama, tako što temperatura želatinizacije (T_{\max}) i maksimalni viskozitet suspenzije (η_{\max}) rastu sa povećanjem udela brašna vrganja u mešavini.

5. Zamenom dela pšeničnog brašna brašnom vrganja povećava se sadržaj ukupnih polifenola. Ekstrakti slobodnih i vezanih fenola brašna vrganja imaju znatno veću antioksidativnu aktivnost od odgovarajućih ekstrakata pšeničnog brašna, zbog čega se zamenom dela pšeničnog brašnom vrganja povećava antioksidativna aktivnost mešavine brašna.

6. Zamenom 30% pšeničnog brašna brašom vrganja, sadržaj slobodnih polifenola je dvostruko veći u odnosu na sadržaj vezanih, a slobodni polifenoli čine veći deo u sadržaju ukupnih polifenola.

7. Zamesom testa i termičkom obradom menja se hemijski sastav u odnosu na hemijski sastav mešavine brašna, a uticaj obrade je različit u zavisnosti od ispitivanog sastojka.

8. Nakon zamesa testa, sadržaj slobodnih polifenola je za oko 70% veći u odnosu na sadržaj u mešavini brašna, verovatno kao posledica hidratacionih reakcija, kada se rastvorljivost polifenola povećava. Sadržaj vezanih polifenola je približno isti kao pre zamesa, što ukazuje da zames testa ne utiče na povećanje rastvorljivosti vezanih polifenola.

9. Nakon termičke obrade testa sadržaj i slobodnih i vezanih polifenola je manji u odnosu na testo posle zamesa (sadržaj slobodnih je manji za oko 22%, a vezanih za oko 7%), ali još uvek viši u odnosu na sadržaj u mešavini brašna.

10. Zamesom testa kapacitet neutralisanja DPPH radikala se povećava, a termičkom obradom smanjuje, ali ekstrakti obe forme polifenola i dalje imaju veći kapacitet neutralisanja radikala u odnosu na mešavinu brašna. Ovo upućuje na zaključak da dodatak brašna vrganja predstavlja dobar način povećanja kapaciteta neutralisanja DPPH radikala termički obrađenih prehrambenih proizvoda od mešavine pšeničnog i brašna vrganja, pri čemu zames testa predstavlja ključnu fazu, verovatno usled reakcije hidratacije kada se povećava rastvorljivost polifenolnih jedinjenja.

11. Istraživanja redukcione snage slobodnih i vezanih polifenola pokazuju da se zamesom redukciona snaga povećava, a termičkom obradom smanjuje, ali u odnosu na testo, smanjenje redukcione snage nakon termičke obrade vezanih polifenola iznosi samo 14%. Uopšteno, vezani polifenoli imaju bolji kapacitet neutralisanja DPPH radikala i redukcione snage nego slobodni polifenoli.

12. U ekstraktima slobodnih i vezanih polifenola identifikovano je sedam fenolnih kiselina: hlorogena, galna, protokatehinska, kafeinska, genistinska i *trans*-ferulinska. Uticaj zamesa i termičke obrade na sadržaj ovih kiselina zavisi od sadržaja i forme u kojoj se nalaze.

Uopšteno, nakon zamesa sadržaj detektovanih fenolnih kiselina u ekstraktu slobodnih polifenola se ne menja, dok se sadržaj vezanih skoro udvostručuje. U ukupnom sadržaju, udeo detektovanih kiselina povećava se oko 54%. Nakon termičke obrade smanjuje se sadržaj galne i protokatehinske kiseline u ekstraktu slobodnih, i sadržaj galne, kafeinske i *trans*-ferulinske u ekstraktu vezanih polifenola, dok se hlorogena i genistinska kiselina skoro u potpunosti razgradjuju. U ukupnom sadržaju 87% detektovanih kiselina u odnosu na sadržaj u mešavini brašna, nakon termičke obrade nerazgrađen.

13. Proizvod dobijen od mešavine pšeničnog i brašna vrganja po opisanoj recepturi ima veći sadržaj ukupnih polifenola, bolju antioksidativnu aktivnost, manji gubitak mase tokom termičke obrade i veću zapreminu u odnosu na proizvod dobijen samo od pšeničnog brašna.

14. U cilju dobijanja testa i prehrambenih proizvoda sa reološkim i hemijskim svojstvima bliskim pšeničnom brašnu, a istovremeno obogaćenim sastojcima brašna vrganja, preporučuje se mešavina sa udelom brašna vrganja od 10-15%.

5. LITERATURA

- Aaslyng, M. D., Bejerholm, C., Ertbjerg, P., Bertram, H. C., Andersen, H. J. (2003). Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure. *Food Quality and Preferences*, 14(4), 277-288.
- Abang Zaidel, D. N., Chin, N. L., Yusof, Y. A. (2010). A review on rheological properties and measurements of dough and gluten. *Journal of Applied Sciences*, 10(20), 2478-2490.
- Abdel-Aal, E. S. M., Hucl, P., Sosulski, F. W., Graf, R., Gillott, C., & Pietrzak, L. (2001). Screening spring wheat for midge resistance in relation to ferulic acid content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3559–3566.
- Acker, L. (1974). Getreide, Mehl i Brot, 28(7), 181-187.
- Acosta-Estrada, B. A., Gutierrez-Uribe, J. A., Serna-Saldivar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152 46–55.
- Adewusi, S. R. A., Alofe, F. V., Odeyemi, O. (1993). Studies on some edible wild mushrooms from Nigeria: 1. Nutritional, teratogenic and toxic consideration. *Plant foods for Human Nutritional*, 43, 115-21.
- Adom, K. K., Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6182–6187.
- Adom, K. K., Sorrells, M. E., Liu, R. H. (2003). Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 51 (26), 7825–7834.
- Akhtar, M., Yaqub, M., Iqbal, Z., Ashraf, M.Y., Akhterand J., Hussain F. (2010). Improvement in yieldand nutrient uptake by co-cropping of wheat andchickpea.Pakistan Journal of Botany, 42, 4043-4049.
- Akindahunsi, A., Oyetayo, F. (2005). Nutrient and antinutrient distribution of edible mushrooms, *Pleurotus tuber-regium* (fries) singer. *Biochemistry*, 39(5), 548-553.
- Akpogheli, J. O., Irerhievwie, G. O. (2015). Nutritional and Metal Composition of *Lepiota procera*, *Boletus edulis* and *Boletus badius* (Mushroom) Species in Owhelogbo, Isoko North Local Government Area of Delta State, Nigeria. *International Journal of Science and Research*, 4, 1182-1185.
- Aletor, V. A. (1995). Compositional studies on edible tropical species of mushrooms. *Food Chemistry*, 54, 265-268.
- Alofe, F. V. (1991). Amino acids and trace minerals of three edible wild mushrooms from Nigeria. *Journal of Food Composition and Analysis*, 4, 167-174.

- Amakura, Z., Okada, M., Zasuhide T. (2000). Determination of phenolic acids in fruit juices by isocratic column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 891, 183-188.
- Anderson, E. E., Fellers, C. R. (1942). The food value of mushrooms (*A. Campestris*). Proceedings of the American Society for Horticultural Science.
- Andreasen, M., Christensen, L., Meyer, A., Hansen, A. (2000). Content of phenolic acids and ferulic acid dehydrodimers in 17 rye (*Secale cereale L.*) varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:2837–2842.
- Arts, I. C., Hollman, P. C. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 317S-325S.
- Ascherio, A., Rimm, E. B., Hernana, M. A., Giovannucci, E. L., Kawachi, I., Stampfer, M. J., Willett, W. C. (1998). Intake of potassium, magnesium, calcium, and fiber and risk of stroke among US men. *Circulation*, 98, 1198-1204.
- Aureman, L. J. (1979). Tehnologija pekarske proizvodnje, Tehnološki fakultet Novi Sad.
- Bahl, N. (1983). Medicinal value of edible fungi. In: *Proceeding of the International Conference on Science and Cultivation Technology of Edible Fungi*. Indian mushrooms Science, 203-209.
- Baker, J. C., Mize, M. D. (1939). Effects of temperature on dough properties II. *Cereal Chemistry*, 16, 682-695.
- Baker, J. C., Mize, M. D. (1942). The relation of fats to texture, crumb and volume of bread. *Cereal Chemistry*, 19, 94-94.
- Baldwin, R. R., Johansen, R. G., Keogh, W. J., Titcomb, S. T., Cotton, R. H. (1963). Continuous bread making- the that fat plays. *Cereal Science Today*, 8, 273-296.
- Baldwin, R. R., Titcomb, S. T., Johansen, R. G., Keogh, W. J., Koedding, D. (1965). Fat system for continuous mix bread. *Cereal Science Today*, 10, 452-457.
- Bano, Z., Bhagya, S., Srinivasan, K. S. (1981). Essential amino acid composition and proximate analysis of mushrooms *Pleurotus florida*. *Mushrooms Newslett Tropics*, 1, 6-10.
- Bano, Z., Rajarathnam, S. (1986). Vitamin values in *Pleurotus* mushrooms. *Quality of Plant Foods for Human Nutrition*, 36, 11-15.
- Barros, L., Baptista, P., Correia, D. M., Morais, J. S., Perreira, I. C. F. R. (2007). Effect of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4781-4788.
- Bean, S. R., Bietz, J. A., Lookhar, G. L. (1998). High-performance capillary electrophoresis of cereal proteins. *Journal of Chromatography A*, 814, 25-41.
- Beejmohun, V., Fliniaux, O., Grand, E., Lamblin, F., Bensaddek, L., Christen, P. (2007). Microwave-assisted extraction of the main phenolic compounds in flaxseed. *Phytochemical analysis: PCA*, 18(4), 275–282.
- Belton, P. S. (1999). On the elasticity of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 29, 103-107.
- Berger, K. J., Guss, D. A. (2005). Mycotoxins revisited: part I. *Journal of Emergency Medicine*, 53-62.

- Bernas, E., Jaworska, G., Lisiewska, Z. (2006). Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. *Acta Scientiarum Polonorum-Technologia Alimentaria*, 5, 5-20.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., & Sapirstein, H. D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry*, 82, 390–393.
- Bhanja, T., Kumari, A., Banerjee, R. (2009). Enrichment of phenolics and free radical scavenging property of wheat koji prepared with two filamentous fungi. *Bioresource Technology*, 100(11), 2861–2866.
- Bloksma, A. H. (1968). Die Bedeutung von thiol und disulfide-gruppen im Kleber für die backfähigkeit. *Getreide Mehl*, 9, 65-69.
- Bock, M. A. (2000). Minor constituents of cereal. In: Kulp, K., Ponte, J., J. G. (Eds), *Handbook of Cereal Science and Technology*, second ed. Marcel Dekker Inc., New York, 479-504.
- Braaksma, A., Schaap, D. J. (1996). Protein analysis of the common mushroom *Agaricus bisporus*. *Postharvest biology and technology*, 7, 119-127.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317-333.
- Brooker, B. E. (1996). The role of fat in the stabilisation of gas cells in bread dough. *Journal of Cereal Science*, 24, 187-189.
- Brouk, B. (1975). Class distinction for polyphenols. *Biochemistry*, 2(1), 478-479.
- Burtis, C. A., Ashwood, E. R. (1996). *Tietz Fundamentals of Clinical chemistry*, 4th edition W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Çaglarlırmak, N., Ünal, K., Ötles, S. (2001). Nutritional value of edible wild mushrooms collected from the Black Sea region of Turkey. *Micologia Aplicada International*, 14 (1), 1–5.
- Caldwell, C.R., Britz, S.J., Mirecki R.M. (2005). Effect of temperature, elevated carbon dioxide, and drought during seed development on the isoflavone content of dwarf soybean (*Glycine max* L.) Merrill grown in controlled environments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1125-1129.
- Cavalier-Smith, T. (1998). A revised six-kingdom system of life. *Biological Reviews*, 73(03), 203-66.
- Chang, S. T. (1980). Mushroom as human food. *BioScience*. 30, 339-401.
- Chang, S. T. (1990). Future trends in cultivation of alternative mushrooms. *Mushroom Journal*, 215, 422-423.
- Chang, S. T., Miles, P. G. (1992). Mushroom biology-a new discipline. *The Mycologist*, 6, 64-5.
- Chang, S. T., Buswell, J. A. (1996). Mushroom Nutraceuticals. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12, 64-64.
- Chamberlain, N., Collins, T. H., Elton, G. A. H. (1965). The Chorleywood bread process-improving effects of fat. *Cereal Science Today*, 10, 415-419, 490.

- Chamberlain, N., Collins, T. H., Elton, G. A. H. (1965 b). The Chorleywood bread process-choice of fat, British Baking Industries Research Association Report Number 84, 1-30.
- Cheung, P. C. K. (1997). Dietary fiber content and composition of some edible fungi determined by two methods of analysis. *Journal of the Science of Food and Agricultural*, 73, 255-260.
- Cheung, L. M., Cheung, P. C. K., Ooi, V. E. C. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, 81, 249-255.
- Cheng, Z., Su, L., Moore, J., Zhou, K., Luther, M., Yin, J. J., Yu, L. L. (2006). Effects of postharvest treatment and heat stress on availability of wheat antioxidants. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 54(15), 5623-9.
- Cheung, P. C. K. (2010). The nutritional and health benefits of mushrooms. *Nutrition Bulletin*, 35, 292-299.
- Christine, K. B., Conor, R., Farmakalidis, E. (1996). Mineral composition of Australian ready to eat breakfast cereals. *Journal Food Composition and Analysis*, 9, 135-147.
- Corey, M. E., Seetharaman, K., Beelman, R. B. (2006). The characterization and rheology of wheat flour dough prepared with freeze-dried Portabella (*Agaricus bisporus*) powder. IFT 2006. Abstract # 039C-04.
- Courvoisier, M. (1999). Les champignons comestibles dans le monde. *Bulletin de la Federation. Nat Syndicats Agricoles de Cultivateurs de Champignons*, 82, 829-834.
- Crisan, E. V., Sands, A. (1978). Nutritional value. In Chang ST, Hayes WA. *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. New York: Academic Press, 727-93. ISBN 978-0-12-168050-3.
- Croft, K. D. (1999). Antioxidant effects of plant phenolic compounds, U: Antioxidants in Human Health, Basu, T. K., Temple, N. J., Garg, M. L. (Eds.), CAB International, United Kingdom.
- Dabbour, I., Takruri, H. R. (2002). Protein quality of four types of edible mushrooms found in Jordan. *Olan Foods from Human Nutritional*, 57, 1-11.
- Daniel, O., Meier, M.S., Schlatter, J., Frischknecht, P. (1999). Selected phenolic compounds in cultivated plants: ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides. *Environmental Health Perspectives*, 107, 109-114.
- Del Pozo-Insfran, D., Serna-Saldivar, S. O., Hernandez-Brenes, C., & Talcott, S. T. (2006). Polyphenolics and antioxidant capacity of white and blue corns processed into tortillas and chips. *Cereal Chemistry*, 84(2), 162-168.
- Desbois, P., Smith, J. (2010). Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1629-1642.
- Dhingra, S., Jood, S. (2001). Organoleptic and nutritional evaluation of wheat breads supplemented with soybean and barley flour. *Food Chemistry*, 77, 479-488.
- Diez, V. A., Alvarez, A. (2001). Composition and nutritional studies on two wild edible mushrooms from northwest Spain. *Food Chemistry*, 75, 417-22.
- Dimić, E. (2005). Hladno ćedena ulja. Škorić, D., Pićurić-Jovanović, K., Jakovljević, J. (Eds), Tehnološki fakultet, Novi Sad.

- Dixon, R. A., Paiva, N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7, 1085-1097.
- Dobraszczyk, B. J., Morgenstern, M. P. (2003). Rheology and bread making process. *Journal Cereal Science*, 38, 229-245.
- Doi, M., Edwards, S. F. (1986). *The theory of polymer dynamics*, Oxford University Press, Oxford.
- Duh, P. D., Tu, Y. Y., Yen, G. C. (1999). Antioxidant activity of water extract of Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *LWT-Food Science and Technology*, 32, 269-277.
- Đaković, L.J. (1998). Pšenično brašno. Zavod za tehnologiju žita i brašna, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Đukić, M. M., Ninković, M., Jovanović, M. (2008). Oxidative stress-clinical diagnostic significance. *Journal of Medical Biochemistry*, 27, 409-425.
- Elmastas, M., Isildak, O., Turkekul, I., Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal Food Composition Analysis*, 20, 337-345.
- El-Sayed, M., Abdel-Aal, Rabalski, I. (2013). Effect of backing on free and bound phenolic acids in wholegrain bakery products. *Journal of Cereal Science*, 57, 312-318.
- Enujiugha, V. N., Badejo, A. A., Iyiola, S. O., Oluwamukomi, M. O. (2003). Effect of germination on the nutritional and functional properties of African oil bean (*Pentaclethra macrophylla* Benth) seed flour. *Journal of Food Agricultural Environment*, 1, 72-75.
- Falandysz, J., Gucia, M., Frankowska, A., Kawano, M., Skwarzec, B. (2001). Total mercury in wild mushrooms and underlying soil substrate from the city of Umea and its surroundings. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 67 (5), 763-70.
- FAO (Food and Agriculture Organization) (2006). Protein quality evaluation, Food and Agricultural Organization of the United Nation, Rome.
- Fasidi, I. O., Kadiri, M. (1990). Changes in nutrient contents of two Nigerian mushrooms. *Termitomyces robustus* (Beeli) Heim and *Lentinus Subnudus* (Berk), during sporophore development.
- Fasasi, O. S. (2009). Proximate antinutritional factors and functional properties of processed pearl millet (*Pennisetum glaucum*). *Journal of Food Technology*, 7(3), 92-97.
- Fazary, A. E., Ju, Y.H. (2007). Feruloyl esterases as biotechnological tools: Current and future perspectives. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(11), 811-828.
- Feeney, K. A., Wellner, N., Gilbert, S. M., Halford, N. G., Tatham, A. S., Shewry P. R. (2003). Molecular structures and interactions of repetitive peptides based on wheat glutenin subunits depend on chain length. *Biopolymers (Biospectroscopy)*, 72, 123-131.
- Ferreria, I. C. F. R., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, 100, 511-516.
- Florezak, J., Lasota, W. (1995). Cadmium uptake and binding by artificially cultivated (*Pleurotus ostreatus*).

- Gallardo, C., Jimenez, L., & Garcia-Conesa, M. T. (2006). Hydroxycinnamic acid composition and in vitro antioxidant activity of selected grain fractions. *Food Chemistry*, 99, 455–463.
- Gallo, M., Ferracane, R., Graziani, G., Ritieni, A., Fogliano, V. (2010). Microwave assisted extraction of phenolic compounds from four different spices. *Molecules*, 15(9), 6365–6374.
- Gavrilović, M. (2000). Tehnologija konditorskih proizvoda. Tehnološki fakultet, Mlinpek Zavod, Novi Sad.
- Garsia, M. A., Alonso, J. Melgar., M. J. (2009). Lead in edible mushrooms. Levels and bioaccumulation factors. *Journal of Hazardous Materials*, 167, 777-783.
- Goupy, P., Dufour, C., Loonis, M., Dangles, O. (2003). Quantitative Kinetic Analysis of Hydrogen Transfer Reactions from Dietary Polyphenols to the DPPH Radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 615-622.
- Graveland, A., Bosveld, P., Marseille, J. P. (1978). Determination of thiol groups and disulfide bonds in wheat flour and dough. *Journal Science Food Agriculture*, 29, 53-61.
- Gregorova, E., Pabst, W., Bobačenko, I. (2006). Characterization of different starch types for their application in ceramic processing. *Journal of the European Ceramic Society*, 26, 1301-1309.
- Grujić, I. B., Laišić, S. (1983). Flavonoidi, Hemija prirodnih proizvoda. Hemijski fakultet, Niš, 431-460.
- Gulcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86, 345-391.
- Gujral, H. S., Sharma, P., Kumar, A., Singh, B. (2012). Total phenolic content and antioxidant activity of extruded brown rice. *International Journal of Food Properties*, 15, 301-311.
- Gutierrez-Uribe, J. A., Rojas-Garcia, C., Garcia-Lara, S., Serna-Saldivar, S. O. (2010). Phytochemical analysis of wastewater (nejayote) obtained after lime-cooking of different types of maize kernels processed into masa for tortillas. *Journal of Cereal Science*, 52(3), 410–416.
- Gyar, S. D., Owaku, G. (2011). Estimation of some metal elements and proximate properties of *Boletus edulis*, a wild mushroom species in the Nigerian Savannah. *Trakia Journal of Sciences*, 9(2), 22-25.
- Halliwell, B. (2009). The wanderings of a free radical. *Free Radical Biology and Medicine*, 46, 531-542.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (2007). Free radicals in biology and medicine, 4th edition. Oxford University Press Inc, New York, USA.
- Hanuš, L., Shkrob, I., Dembitsky, V. (2008). Lipids and fatty acids of wild edible mushrooms of the genus *Boletus*. *Journal of Food Lipids*, 15, 370-383.
- Harborne, J. (1993). The flavonoids, advanced in research since 1986. Chapman i Hall, London, UK.
- Hay, R. L. (1993). Effect of flour quality characteristics on puff pastry baking performance. *Cereal Chemistry*, 70, 392-396.

- Hayat, K., Hussain, S., Abbas, S., Farooq, U., Ding, B., Xia, S., Jia, C., Zhang, X., Xia, W. (2009). Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro. *Separation and Purification Technology*, 70, 63-67.
- Hayes, W. A., Haddad, N. (1976). The food value of the cultivated mushrooms and its importance in industry. *Mushroom Journal*, 40, 104-110.
- Hawksworth, D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological research*, 105, 1422-1432.
- Hernández, L., Afonso, D., Rodríguez, E. M., Díaz, C. (2011). Phenolic compounds in wheat grain cultivars. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(4):408-15.
- Herrera, M. C., Luque de Castro, M. D. (2004). Ultrasound-assisted extraction for the analysis of phenolic compounds in strawberries. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 379(7-8), 1106-1112.
- Hesham, A., Eissa A., Hussein i Mostafa, B. (2007). Rheology properties and quality evaluation of Egyptian balady bread and biscuit supplemented with flours of ungerminated and germinated legume seeds or mushroom. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*, 57, 487-496.
- Hess, K. (1958). *Die Mühle*, 95, 543-549.
- Hetrog, M., Hollman, P., Katan, M., Kromhout, D. (1993). Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinations in adults in the Netherlands. *Nature Reviews: Cancer*, 20, 21-29.
- Holčapek, M., Jandera, P., Fisher, J., Prokeš, B. (1999). Analytical monitoring of biodiesel by high-performance liquid chromatography with various detection methods. *Journal Chromatography A*, 858, 13.
- Hong, G. H., Kim, Y. S., Song, G. S. (2005). Effect of oyster mushroom (*Pleurotus osreatus*) powder on bread quality. *Journal of Food Science and Nutrition*, 10, 214-218.
- Imran, M., Khan, H., Shah, M., Khan, R., Khan, F. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species. *Journal Zhejiang University-Science B*, 11, 973-980.
- IOM, Institute of Medicine (1999). Food Nutrition Board. Dietary Reference Intakes: Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D. National Academy Press, Washington DC.
- Issiloglu, M., Yilmaz, F., Merdivan, M. (2001). Concentrations of trace elements in wild edible mushrooms. *Food Chemistry*, 73, 163-175.
- Jacobo-Velzquez, D. A., Cisneros-Zevallos, L. (2009). Cprellations of antioxidants activity against phenolic content revisited: a new approach in data analysis for food and medicinal plants. *Journal of Food Science*, 74, R107-R113.
- Jackson, G. M., Hoseney, C. (1986). Effect of endogenous phenolic acids on the mixing properties of wheat flour doughs. *Journal of Cereal Science*, 4,79-85.
- Janssen, A. M., van Vilet, T., Vereijken, J. M. (1996). Fundamental and empirical rheological behaviour of wheat flour doughs and comparison with bread making performance. *Journal of Cereal Science*, 23, 43-54.

- Jaworska, G., Bernaś, E., Mickowska, B. (2011). Effect of production process on the amino acid content of frozen and canned *Pleurotus ostreatus* mushroom. *Food Chemistry*, 125, 936-943.
- Joye, I. J., Lagrain, B., Delcour, J. A. (2009). Endogenous redox agents and enzymes that affect protein network formation during bread making. A review. *Journal of Cereal Science*, 50, 1-10.
- Junli, L., Yingjian, L., Yuge, N., Monica, W., Mohamed, F. R., Jose, C., Liangli L. Y. (2013) Effect of genotype, environment, and their interaction on phytochemical compositions and antioxidant properties of soft winter wheat flour. *Food Chemistry*, 138, 454-462.
- Kalač, P., Svoboda, L. (2000). A review of trace elements concentration in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 69, 273-281.
- Kalač, P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: a review. *Food Chemistry*, 113(1), 9-16.
- Kasarda, D. D., Nimmo, C. C., Kohler, G. O. (1978). In *Wheat: Chemistry and Technology* (Y. Pomeranz, edited). AACC, St. Paul, MN (1978) 3rd edn. str. 227-299.
- Katsube, T., Tsurunaga, Y., Sugiyama, M., Furundo, T., Yamasaki, Y. (2009). Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Food Chemistry*, 113, 964-969.
- Kendrew, J., Bodo, G., Dintzis, H., Parrish, R., Wyckoff, H., Phillips, D. (1958). A three dimensional model of the myoglobin molecule obtained by x-ray analysis. *Nature*, 181(4610).
- Kent, N. L. (1975). *Chemical composition of cereals. Technology of cereals with special reference to wheat*, second ed. Pergamon Press Ltd., Oxford, New York, 43-73.
- Kent-Jones, D. W., Amos, O. B. E. (1967). *Modern cereal chemistry*. London: Food Trade Press, Ltd. 78-92.
- Khan, M. I., Anjum, F. M., Hussain, S. and Tariq, W. T. (2005). Effect of soy flour supplementation on mineral and phytate contents of unleavened flat bread (chapattis). *Nutrition and Food Science*, 35(3), 163-8.
- Kim, K. H., Tsao, R., Yang, R., Cui, S. W. (2006). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*, 95, 466-473.
- Klepacka, J., Fornal, L. (2006). Ferulic acid and its position among the phenolic compounds of wheat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 639-647.
- Knežević, M. (2007). *Sistematika bilja, Sveučilište u Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek*, 87.
- Krieger, L. (2007). *A guide to the Mushrooms: Their botanical position, mode of growth, physiology, habitat, ecology and economic importance*. Delhi: Asiatic Publishing House.
- Krygier, K., Sosulski, F., Hogge, L. (1982). Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. Extraction and purification procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(2), 330-334.

- Kuka, M., Čakste, I. (2011). Bioactive compounds in Latvian wild edible mushroom *Boletus edulis*, 6th Baltic Conference on Food Science and Technology, Conference Proceedings, 248-252.
- Kumari, M., Jain, S. (2012). Review paper. Tannins: An Antinutrient with Positive Effect to manage diabetes. *Research Journal of Recent Sciences*, 1(12), 70-73.
- Landbo, A. K., Meyer, A. S. (2001). Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenols from black currant juice press residues (*Ribes nigrum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3169–3177.
- Lawrence, G. D. (2010). The fats of life, essential fatty acids in health and disease. Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey and London.
- Li, G. F., Chang, S. T. (1982). The nucleic acid content of some edible mushrooms. *European Journal Applied Microbiology and Biotechnology*, 15, 237-240.
- Lindenmeier, M., Hofmann, T. (2004). Influence of baking conditions and precursor supplementation on the amounts of the antioxidant pronyl-L-lysine in bakery products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 350-354.
- Lindsay, M. P., Skerritt, J. H. (1999). The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure-function perspectives, Review. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 247-253.
- Lin, J. Y., Tang, C. Y. (2007). Determination of total phenolic and flavanoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry*, 101, 140-147.
- Liu, K. S. (1994). Preparation of fatty acid methyl esters for gas-chromatographic analysis of lipids in biological materials. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 71, (1179-1187).
- Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3 Suppl.), 517S-520S.
- Liu, R. (2007). Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 207–219.
- Liyana-Pathirana, C. M., Shahidi, F. (2006). Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4), 1256-1264.
- Longvah, T., Deosthale, Y. G. (1998). Composition and nutritional studies on edible wild mushrooms from northeast India. *Food Chemistry*. 63, 331-4.
- Lyll, K. A., Hurst, S. M., Cooney, J., Jensen, D., Lo, K., Hurst, R. D. (2009). Short-term blackcurrant extract consumption modulates exercise-induced oxidative stress and lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses. *American Journal of Physiology: Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 297(1), R70–R81.
- MacRitchie, F., Lafiandra, D. (1997). Structure-function relationships of wheat proteins, In: Damodaran, S., Paraf, A. (Eds), *Food proteins and their applications*, Marcell dekker Inc, New York, 293-323.
- Maga, J. A. (1981). Mushroom flavor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29, 1-4.

- Mahgoub, S. E. O., Ahmed, B. M., Ahmed, M. M. O., El Agib, EN. A. A. (1999). Effect of traditional Sudanese processing of *kisra* bread and hulu-mur drink on their thimine, riboflavin and mineral contents. *Food Chemistry*, 67, 129-133.
- Maisuthisakul, P., Suttajit, M., Pongsawatmanit, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*, 100(4), 1409-1418.
- Majestic, V., Lepsova, A. (1993). Applicability of fungi to the monitoring of environmental pollution by heavy metals. In: Markert, B. (ed) *Plants as biomonitors Germany: VCH Weinheim*, 365-378.
- Makkar, H. P. S., Bluemmel, M., Borowy, N. K., Becker, K. (1993). Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61, 161-165.
- Malinowska, E., Szefer, P., Faradays, J. (2004). Metals bioaccumulation by bay Bolete, *Xerocomos badius* from selected sites. *Poland Food Chemistry*, 84, 405-416.
- Manach, C., Regeat, F., Texier, o., Agullo, G., Demigne, C., remesy, C. (1996). Bioavailability, metabolism and physiological impact of 4-oxo-flavonoids. *Nutrition Research*, 16, 517-544.
- Mandge, H. M., Sharma, S., Dar, B. N. (2011). Instant multigrain porridge: effect of cooking treatment on physico-chemical and functional properties. *Journal of Food Science and Technology*, 51(1), 97-103.
- Manzi, P., Gambelli, L., Marconi, S. (1999). Nutrients in edible mushrooms: an inter species comparative study. *Food Chemistry*, 65, 477-82.
- Manzi, P., Aguzzi, A., Pizzoferrato, L. (2001). Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry*, 73, 321-325.
- Marković, B. (1973). Priručnik za sakupljanje i gajenje lekovitog bilja i pečurka, Beograd.
- Matkowski, A. (2008). Plant in vitro culture for the production of antioxidants, a review. *Biotechnology Advances*, 26, 548-560.
- Mattila, P., Konko, K., Eurola, M., Pihlawa, J. M., Astola, J., Vahteristo Lietaniemi, V., Kumpulainen, J., Valtonen, M., Piironen, V. (2001). Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2343-2348.
- Mattila, P., Pihlawa, J. M., Hellstrom, J. (2005). Contents of phenolic acids, alkyl and alkyl resorcinols, and advenanthramides in commercial grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(21), 8290-8295.
- Mau, J. L., Lin, H. C., Ma, J. T. (2001). Non-volatiles taste components of several speciality mushrooms. *Food Chemistry*, 73, 461-466.
- Mau, J. L., Lin, H. C., Song, S. F. (2002). Antioxidant properties of several speciality mushrooms. *Food Research International*, 35, 519-26.
- Mauron, J. (1981). The Millard reaction in food: A critical review from nutritional standpoint. *Prog. Food Nutritional Science*, 5, 5-35.

- McLeish, T. C. B., Larson, R. G. (1998). Molecular constitutive equations for a class of branched polymers: Thepom-pom polymer. *Journal of Rheology*, 42, 81–110.
- Mdachi, S. J. M., Nkunya, M. H. H., Nyigo, V. A. (2003). Amino acid composition of some Tanzanian wild mushrooms. *Food Chemistry*, 86, 179-82.
- Medoua, G. N., Oldewage-Theron, W. H. (2011). Effect of drying and cooking on nutrition value and antioxidant capacity of morogo (*Amarantus hybridus*) a traditional leafy vegetable grown in South Africa. *Journal of Food Science and Technology*, 1-7.
- Meir, J., Kanner, B., Akiri, B., Hadas, S. P. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defence systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 1813-1815.
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., dos Santos, T. C., Coube, C. S., Leitão, S. G. (2001). Screening of Brazil plant extract for antioxidant capacity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, 15, 127-130.
- Merken, H. M., Beecher, G. R. (2000). Liquid chromatographic method for the separation and quantification of prominent aglycones. *Journal of Chromatography A*, 897, 177-184.
- Michalska, A., Amigo-Benavent, M., Zielinski, H., del Castillo, M. D. (2008). Effect of bread making on information of Millard reaction products contributing to the overall antioxidant activity of rye bread. *Journal Cereal Science*, 48, 123-32.
- Mitić, M. (2011). Kinetika degradacije fenolnih jedinjenja hidroksil radikalima. Doktorska disertacija. Niš. Priridni matematički fakultet, department za hemiju.
- Momčilović, B. (2008). Uticaj pirinčanog brašna na reološka svojstva i mikrostrukturu testa. Magistarski rad. Leskovac. Tehnološki fakultet.
- Moss, H. J. (1980). Strength requirements of doughs destined for repeated sheeting compared with those of normal dough. *Cereal Chemistry*, 57, 195-197.
- Moore, J., Hao, Z., Zhou, K., Luther, M., Costa, J., Yu, L. L. (2005). Carotenoid, tocopherol, phenolic acid, and antioxidant properties of Maryland-grown soft wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6649-6657.
- Moore, J., Liu, J. G., Zhou, K. Q., & Yu, L. L. (2006). Effects of genotype and environment on the antioxidant properties of hard winter wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5313–5322.
- Morales, F. J., Babel, M. B. (2002). Antiradical efficiency of Millard reaction mixtures in a hydrophilic media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2788-2792.
- Morgenstern, M. P., Zheng, H., Ross, M., Campanella, O. H. (1999). Rheological properties of sheeted wheat flour dough measured with large deformations. *International Journal of Food Properties*, 2, 265-275.
- Mpofu, A., Sapirstein, H. D., Beta, T. (2006). Genotype and environmental variation in phenolic content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4), 1265-1270.

- Muirhead, H., Perutz, M. (1963). Structure of haemoglobin. A three-dimensional fourier synthesis of reduced human haemoglobin at 5.5 Å resolution. *Nature*, 199(4894), 633-8.
- Munsted, H., Kurzbeck, S., Egersdorfer, L. (1998). Influence of molecular structure on rheological properties of polyethylenes, Part II, Elongational behaviour. *Rheologica Acta*, 37, 21-29.
- Mussatto, S. I., Dragone, G., Roberto I. C. (2007). Ferulic and p-coumaric acids extraction by alkaline hydrolysis of brewer's spent grain. *Industrial Crops and Products*, 25, 231–237.
- Naczki, M., Shahidi, F. (1989). The effect of methanol-ammonia-water treatment on the content of phenolic acids of canola. *Food Chemistry*, 31(2), 159–164.
- Natarajan, K., Singh, S., Burke, T. R., Grunberger, D., & Aggarwal, B. B. (1996). Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 9090–9095.
- Nicoli, M. C., Anese, M., Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 94-100.
- Niketić-Pavlović, G. (1998). Tehnologija voća i povrća, Poljoprivredni fakultet u Zemunu, Beograd.
- Nikolić, N., Radulović, N., Momčilović, B., Nikolić, G., Lazić, M., Todorović, Z. (2008). Fatty acids composition and rheology properties of wheat and wheat and white or brown rice flour mixture. *European Food Research Technology*, 227, 1543-1548.
- Nikolova, M. (2011). Screening of radical scavenging activity and polyphenol content of Bulgarian plant species. *Pharmacognosy Research*, 3, 256–259.
- Obizoba, I. C. (1988). Nutritive value of malted, dry or wet milled sorghum and corn. *Cereal Chemistry*. 65, 447-449.
- Okafor, J. C., Okafor, G. I., Ozumba, A. U., Elemo, G. N. (2012). Quality Characteristics of bread made from wheat and Nigerian oyster mushroom (*Pleurotus plumonarius*) powder. *Pakistan Journal of Nutrition*, 11, 5-10.
- Okarter, N., Chang-Shu, L., Mark, E. S. (2010). Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. *Food Chemistry*, 119, 249-257.
- Okuda, T., Kimura, Y., Yoshida, T., Hatano, T., Okuda, H., Arichi, S. (1983). Studies on the activity and related compounds from medicinal plants and drugs. I. Inhibitory effects on lipid peroxidation on mitochondria and microsomes of liver. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 31, 1625-1631.
- Olenichenko, N. A., Ossipov, V. I., Zagorskina, N. V. (2006). Effect of cold hardening on the phenolic complex of winter wheat leaves. *Russian Journal of Plant Physiology*, 53:495–500.
- Orhan, D. D., Hartevioğlu, A., Küpeli, E., Yesilada, E. (2007). In vivo anti-inflammatory and antinociceptive activity of the crude extract and fractions from *Rosa canina* L. fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 394-400.
- Osagie, A. U. (1998). Antinutritional constituents of ten staple foods grown in Nigeria. *Tropical Science*, 36, 109-115.

- Osman, N. M., Ahmed, I. A. M., Babiker, E. E. (2010). Fermentation and cooking of sicklepod (*Cassia obtusifolia*) leaves: changes in chemical and amino acid composition, antinutrients and protein fractions and digestibility. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 124-132.
- Oteiza, P., Mackenzie, G. (2005). Zinc, oxidant-triggered cell signaling and human health. *Molecular Aspect of Medicine*, 26, 245-255.
- Oyetayo, F. L. (2007). Potential antioxidant properties of Nigerian edible mushrooms. *Agro Food Industry*. Hi-tech, 18, 44-45.
- Ozcan, M. (2004). Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. *Food Chemistry*, 84, 437-440.
- Palacios, I., Lozano, M., Moro, C. (2011). Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 128 (3), 674–678.
- Pedersen, B., Eggum, B. O. (1983). The influence of milling on the nutritive value of flour from cereal grains. *Plant Foods for Human Nutrition*, 33(1), 51-61.
- Peterson, C. J., Johnson, V. A., Mattern, P. J. (1986). Influence of cultivar and environment on mineral and protein concentrations of wheat flour, bran and grain. *Cereal Chemistry*, 63(3), 183-186.
- Pietrzak-Fiećko, R., Galgowska, M., Bakula, S. (2016). Fatty acid composition in wild *Boletus edulis* from Poland. *Journal Food Science*, 28, 402-411.
- Puttaraju, N. G., Venkateshaiah, S. U., Dharmesh, S. M., Urs, S. M., Somasundaram, R. (2006). Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54, 9764-9771.
- Popineau, Y., Bonenfant, S., Cornec, M., Pezolet, M. A. (1994). Study by infrared spectroscopy of the conformations of gluten proteins differing in their gliadin and glutenin composition. *Journal of Cereal Science*, 20, 15-22.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., Pouységu, A. (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie (Internatiol Edition)*, 50, 586-621.
- Rabe, E. (1999). Effect of Processing on Dietary Fiber in Food, str. 401. In: Complex carbohydrates in Food. Edited by Susan Sungsoo Cho, Leon Prosky and Mark Dreher. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Radojković, M. (2012). Ekstrakti duda (*Morus spp., Moraceae*), sastav, delovanje i primena. Doktorska disertacija. Novi Sad. Tehnološki fakultet.
- Ranum, P. M., Loewe, R. J. (1978). Iron enrichment of cereals. *Bakers Digest.*, 51, 14.
- Reddy, M. B., Love, M. (1999). The impact of food processing on the nutritional quality of vitamins and minerals. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 459, 99-106.
- Riberio, B., Andrade, P., Silva, B., Baptista, P., Seabra, R., Valentao, P. (2006). Contents of carboxylic acids and two phenolics and antioxidant activity of dried Portuguese wild edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 8530-8537.

- Ribeiro, B., Andrade, P., Silva, B., Baptista, P., Seabra, M., Valenato, P. (2008). Comparative study on free amino acid composition of wild edible mushroom, species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(2), 1073-1079.
- Ribeiro, B., Guedes de Pinho, P., Andrade, P. B., Baptista, P., Valentao, P. (2009). Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: A comparative study. *Microchemical Journal*, 93, 29-35.
- Rice Evans, C., Miller, N., Paganga, G. (1995). Structure-antioxidant activity, relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 7, 933-956.
- Rochin-Medina, J. J., Gutierrez-Dorado, R., Mora-Rochin, S., Medina-Godoy, S., Valdez-Ortiz, A., Lopez-Valenzuela, J. (2012). Nutraceutical beverage from a high antioxidant activity mixture of extruded whole maize and chickpea flours. *European International Journal of Science and Technology*, 1(3), 1-14.
- Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H., Kanazawa, K. (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 571-581.
- Sanchez-Gonzalez, M., Blanco-Gamez, A., Escalante, A., Valladares, A. G., Olvera, C., Parra, R. (2011). Isolation and characterization of new facultative alkaliphilic *Bacillus flexus* strains from maize processing waste water (nejayote). *Letters in Applied Microbiology*, 52(4), 413-419.
- Sánchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8, 121-137.
- Sarikurkcü, C., Tepe, B., Yamac, M. (2008). Evaluation of the antioxidant activity of four edible mushrooms from the Central Anatolia, Eskisehir - Turkey: *Lactarius deterrimus*, *Suillus collitinus*, *Boletus edulis*, *Xerocomus chrysenteron*. *Biorecourse Technology*, 99, 6651-6655.
- Saris, N. E., Mervaala, E., Karppanen, H., Khawaja, J. A., Lewenstam, A. (2000). Magnesium: an update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clinica Chimica Acta*, 294, 1-26.
- Schatzkin, A., Mouw, T., Park, Y., Subar, A. F., Kipnis, V., Hollenbeck, A. (2007). Dietary fiber and whole-grain consumption in relation to colorectal cancer in the NIH-AARP diet and health study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 85(5), 1353-1360.
- Schofield, P., Mbugua, D., Pell, A. (2001). Analysis of condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 21-40.
- Schramm, G. (2004). A practical approach to rheology and rheometry. (2nd edition). Thermo electron (Karlsruhe) GmbH, Karlsruhe, Germany.
- Schmitt, H. W., Sticher, H. (1991). Heavy metal compounds in soim. In Merian, E (ed). Metals and their compounds in the environment. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, 311-326.
- Sensoy, I., Rosen, R. T., Ho, C., Karwe, M. V. (2006). Effect of processing on buckwheat phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 99, 388-393.
- Shahzad, S., Aoyagi, K., Wintwr, A., Koyama, A., Bitsch, I. (2001). Pharmacokinetics of gallic acids and its relative bioavailability from tea in healthy humans. *The journal of nutrition*, 131 (4), 1207-10.

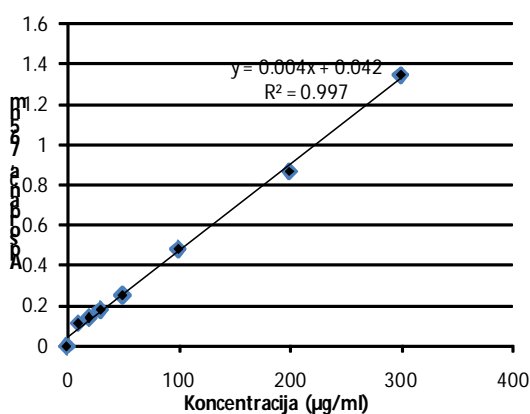
- Shewry, P. (1999). Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60, 1537-1553.
- Shils, M.E. (1999). Magnesium. U: *Moderan nutrition in health and disease*, 9th Edition, Shils, M.E., Olson J.A., Shike, M., Ross, C.A. (Eds), Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 169-192.
- Siebenhandl, S., Grausgruber, H., Pellegrini, N., Del Rip, D., Fogliano, V., Pernice, R. (2007). Phytochemical profile of main antioxidants in different fractions of purple and blue wheat and black barley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8541-8547.
- Sivam, A. S., Sun-Waterhouse, D., Waterhouse, G. I., Quek, S., Perera, C. O. (2011). Physicochemical properties of bread dough and finished bread with added pectin fiber and phenolic antioxidants. *Journal of Food Science*, 76, 97-107.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Sivaramakrishnan, H. P., Senge, B., Chattopadhyay, P. K. (2004). Rheological properties of rice dough for making rice bread. *Journal of Food engineering*, 62, 34-45.
- Song, Y., Zheng, Q. (2007). Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 132-138.
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and favonoids. *Journal of Separation Science*, 30, 3268–3295.
- Steve, I.O. (2012). Influence of germination and fermentation on chemical composition, protein quality and physical properties of wheat flour (*Triticum aestivum*). *Journal Cereals Oil Seeds*, 3, 35-47.
- Stanojević, Lj., Stankolvić, M., Nikolić, V., Nikolić, Lj., Ristić, D., Čanadanović-Brunet, J., Tumbas, V. (2009). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *Hieracium pilosella* L. extracts. *Sensors*, 9(7), 5702-5714.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. Freeman Press, USA.
- Stojanović, I., Radulović, N., Mitrović, T., Stamenković, S., Stojanović, G. (2011). Volatile constituents of selected Parmeliaceae lichens. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 76(7), 987-994.
- Strmiskova, G., Strmiska, F., Dubravicky, J. (1992). Mineral composition of oyster mushroom. *Molecular Nutrition*, 36 (2), 210-212.
- Svoboda, L., Zimmermannova, K., Kallac, P. (2001). Concentrations of Mercury, Cadmium, Lead, and Copper in the fruiting bodies of the edible mushrooms in an emission area of a copper smelter and a mercury smelter. *Science of the Total Environment*, 246, 61-67.
- Svoboda, L., Havličkova, B., Kalač. P. (2006). Contents of cadmium mercury and lead in edible mushrooms growing in a historical silver-mining area. *Food Chemistry*, 96, 580-585.
- Subba Rao, M. V. S. S. T., Muralikrishna, G. (2002). Evaluation of the antioxidant properties of free and bound phenolic acids from native and malted finger millet (Ragi, *Eleusine coracana* Indaf-15). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 889–892.

- Sun, J., Chu, Y.-F., Wu, X., Liu, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), 7449–7454.
- Sykorova, M., Janošova, V., Štroffekova, O., Košťalova, D., Havranek, E., Račkova, L. (2009). Determination of selected elements by XRF and total phenolics in leaves and crude methanol extract of leaves of *arctostaphylos uva-ursi*. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*, 136-145.
- Tadolini, B. (2000). Resveratrol inhibition of tannins. *Medicine*, 33(2), 105-114.
- Tiwari, B. K., O'Donnell, C. (2012). Thermal Processing of Meat and Meat Products. Thermal Food Processing: In: New Technologies and Quality Issues, Second edition (edited by Da-Wen-Sun), CRC Press (Taylor & Francis group), Boca Roton, str. 208.
- Trajković, J., Baras, J., Mirić, S., Šiler, S. (1983). Analiza životnih namirnica. Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, Srbija, 186.
- Tsai, Y., Tsai, L., Mau, L. (2008). Non-volatile taste components of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* and *Boletus edulis*. *Food Chemistry*, 107(3), 973-983.
- Turan, M., Kordalis, S., Zengin H., Dursun A. (2003). Macro and micro mineral contents of wild edible leaves consumed in eastern Acta. *Agriculture Scandanavia Soil Science*, 53, 129-137.
- Unekwu, H. R., Audu, J. A., Makun, M. H., Chidi, E. E. (2014). Phytochemical screening and antioxidant activity of methanolic extract of selected wild edible Nigerian mushrooms. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 153-157.
- Verman, B., Hucl, P., Chibbar, R. (2009). Phenolic acid and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fraction. *Food Chemistry*, 116, 947-954.
- Veljković, D., Vučković, G. N. (2010). Minerali u ishrani. *Hemijski pregled*, 51, 14-19.
- Vetter, J. (1994). Mineral elements in the important cultivated mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus osteratus*. *Food Chemistry*, 50(3), 277-279.
- Vidović, S. S., Mujić, I. O., Zeković, Z. P., Lepojević, Ž. D., Tumbas, V. T., Mujić, A. I. (2010). *Antioxidant properties* of selected *Boletus* mushrooms. *Food Biophysics*, 5 (1), 49-58.
- Vidović, S., Mujić, I., Zeković, Z., Lepojević, Ž., Milošević, S., Jokić, S. (2011). Extraction of fatty acids from *Boletus edulis* by subcritical and supercritical carbon dioxide. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 88, 1189-1196.
- Vidović, S., Tepić, A., Šumić, Z., Jokić, S. (2011). Mushrooms as a functional food and as a source of potentially important pharmacologically active compounds. International seminar "Dietetic products in health and disease", Tuzla summer University, Tuzla, Bosna i Hercegovina.
- Wagner, M. H., Bastian, H., Hachmann, P., Meissner, J., Kurzbeck, S., Munstedt, H., Langouche, F. (2000). The strain hardening behaviour of linear and long-chain-branched polyolefin melts in extensional flows. *Rheologica Acta*, 39, 97-109.
- Walian, P., Cross, T. A., Jap. B. K. (2004). Structural genomics of membrane proteins. *Genome Biology*, 5, 215.

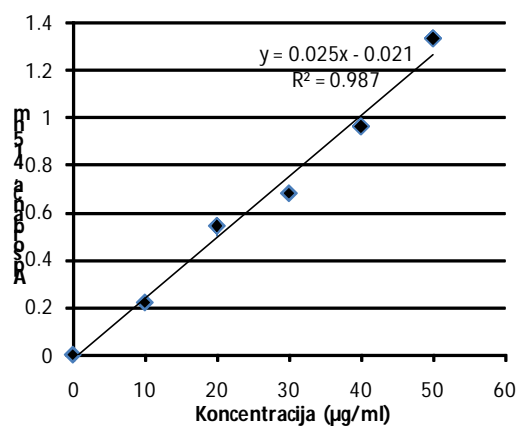
- Wang, L., Yao, Y., He, Z., Wang, D., Liu, A., Zhang, Y. (2013). Determination of phenolic acid concentrations in wheat flours produced at different extraction rates. *Journal of Cereal Science*, 57, 67–72.
- Wang, Q., Li, Y., Sun, F., Li, X., Wang, P., Sun, J., Zeng, J., Wang, C., Hu, W., Chang, J., Chen, M., Wang, Y., Li, X., Yang, G. (2015). Tannins improve dough mixing properties through affecting physicochemical and structural properties of wheat gluten proteins. *Food Research International*, 69, 64-71.
- Wani, B. A., Bodha, R. H., Wani, A. H. (2010). Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *Journal of Medicinal Plants Reseach*, 4(24), 2598-2604.
- Wasser, S. P. (2011). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60, 258-274.
- Watanabe, T., Tsuchihashi, N., Takai, Y., Tanaka, K., Suzuki, A. (1994). Effects of ozone exposure during cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus osteratus*) on chemical components of the fruit bodies. *The Japanese Society for Food Science and Technology*, 41(10), 705-708.
- Weegels, P. L., Hamer, R. J., Schofield, J. D. (1996). Functional properties of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science*, 23, 1-18.
- Weipert, D. (1990). The benefits of basic rheometry in studying dough rheology. *Cereal Chemistry*, 67(4), 311-317.
- Willett, J. L. (2001). Packing characteristics of starch granules. *Cereal Chemistry*, 78, 64-68.
- WHO (World Health Organization). (1993). Guidelines and upper limit of inorganic constitute in drinking water. WHO publication Rome, pp 88-10.
- Wolosiak, R., Worobiej, E., Piecyk, M., Druzynska, B., Nowak, D., Lewicki, P. P. (2010). Activities of amine and phenolic antioxidants and their changes in broad beans (*Vicia faba*) after freezing and steam cooking. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 29-37.
- Wondratschek, I., Roder, U. (1993). Monitoring of heavy metals in soils by higher fungi. In: Market, B (Ed). *Plants as biomonitors*, 365-378.
- Wong, D. W. S. (2006). Feruloyl esterase: A key enzyme in biomass degradation. *Applied biochemistry and Biotechnology*, 133(2), 87–112.
- Yilmaz, Y., Toledo, R. (2005). Antioxidant activity of water-soluble Millard reaction products. *Food Chemistry*, 93, 273-8.
- Yang, J. H., Lin, H. C., Mau, J. L. (2002). Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chemistry*, 77, 229-235.
- Yen, G. C., Chen, H. Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation on their antimutagenicity. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 46, 849-854.
- Yoshioka, K., Deng, T. L., Cavigelli, M., & Karin, M. (1995). Antitumor promotion by phenolic antioxidants – Inhibition of Ap-1 activity through induction of Fra expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 4972–4976.

- Zhang, Y., Wang, L., Yao, Y., Yan, J., He, Z. H., (2012). Phenolic acid profiles of Chinese wheat cultivars. *Journal of Cereal Science*, 56, 629-635.
- Zheng, X., Ding, Z., Xu, Y., Monroig, O., Morais, S., Tocher, D. R. (2009). Physiological roles of fatty acyl desaturase and elongase in marine fish: Characterisation of cDNAs of fatty acyl $\Delta 6$ desaturase and Elov15 elongase of cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 290, 122-131.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.
- Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., & Blanchard, C. (2004). The distribution of phenolic acids in rice. *Food Chemistry*, 87(3), 401-406.
- Ziarati, P., Rabizadeh, H. (2013). Safety and Nutritional Comparison of Fresh, Cooked and Frozen Mushroom (*Agaricus bisporus*). *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2, 1141-114.
- Zuchowski, J., Kapusta, I., Szajwaj, B., Jonczyk, K., Oleszek, W. (2009). Phenolic acid content of organic and conventionally grown winter wheat. *Cereal Research Communications*, 37:189-197
- Žeželj, M. (1995). Tehnologija žita i brašna, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Žeželj, M. (2005). Tehnologija žita i brašna, Glas javnosti, Beograd.
- Živanović, S. (2006). Identification of opportunities for production of ingredients based on further processed fresh mushrooms, off-grade mushrooms, bi-products, and waste material. Knoxville: Mushroom Council. University of Tennessee, Department of Food Science and Tecnology, 33.

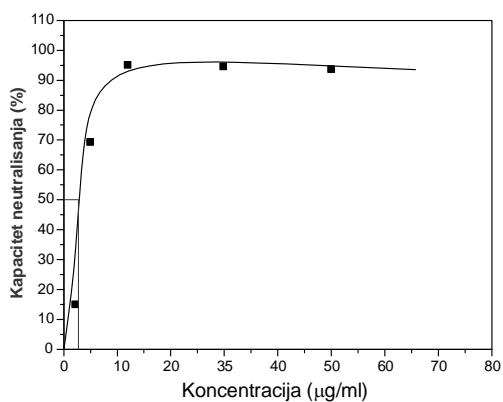
6. PRILOG



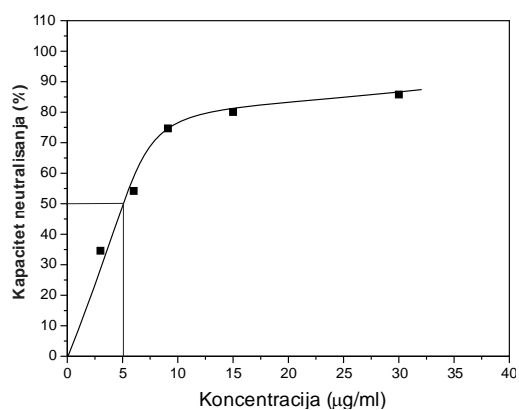
Slika P1. Kalibraciona prava sa galnom kiselinom kao standardom za određivanje sadržaja ukupnih fenola



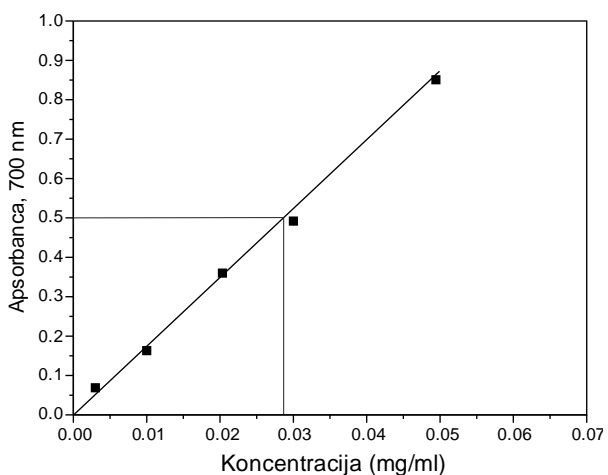
Slika P2. Kalibraciona prava sa kvercetinom kao standardom za određivanje sadržaja ukupnih flavonoida



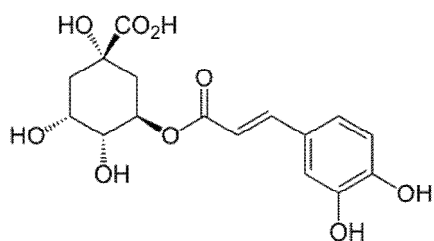
Slika P3. Kapacitet neutralisanja DPPH radikala sa askorbinskom kiselinom



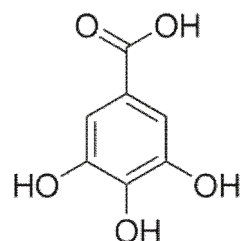
Slika P4. Kapacitet neutralisanja DPPH radikala butil-hidroksi anizolom



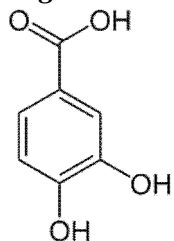
Slika P5. Redukciona snaga sa butil-hidroksi anizolom



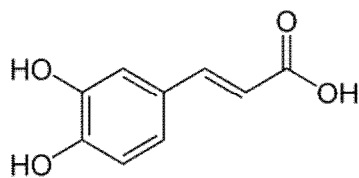
Hlorogena kiselina



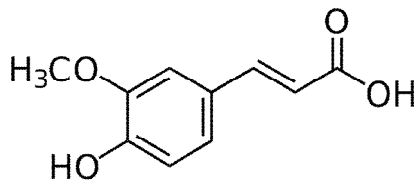
Galna kiselina



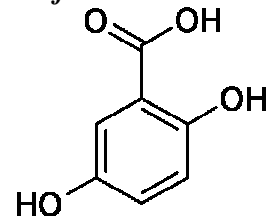
Protokatehinska kiselina



Kafeinska kiselina

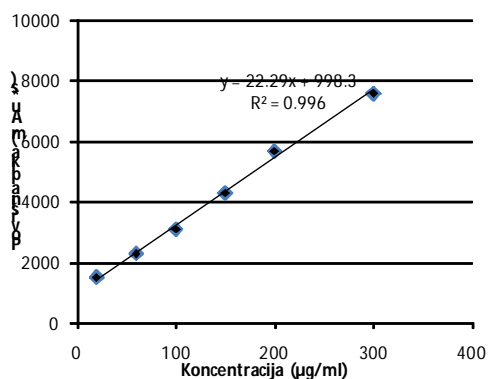


trans-Ferulinska kiselina

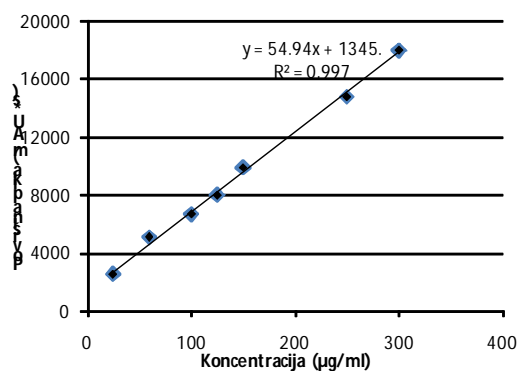


Genistinska kiselina

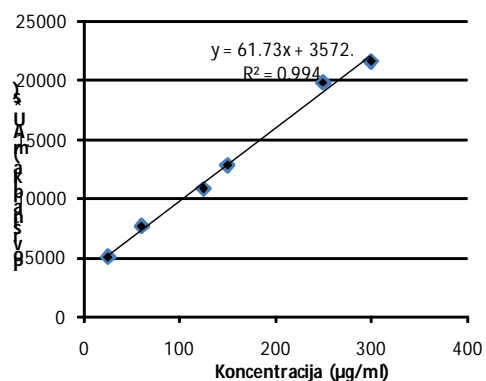
Slika P6. Strukturne formule ispitivanih fenolnih kiselina



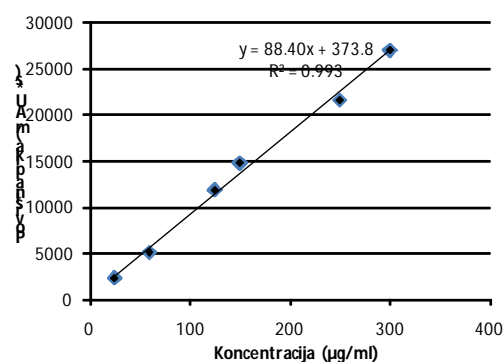
Slika P7. Kalibraciona prava hlorogene kiseline dobijena HPLC metodom



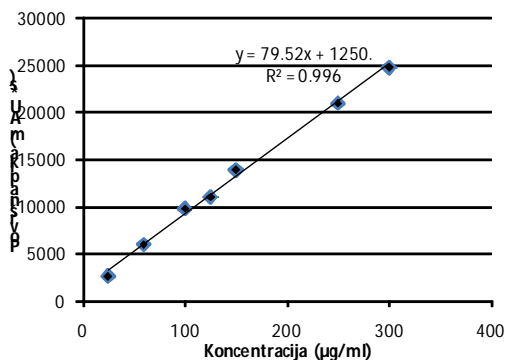
Slika P8. Kalibraciona prava galne kiseline dobijena HPLC metodom



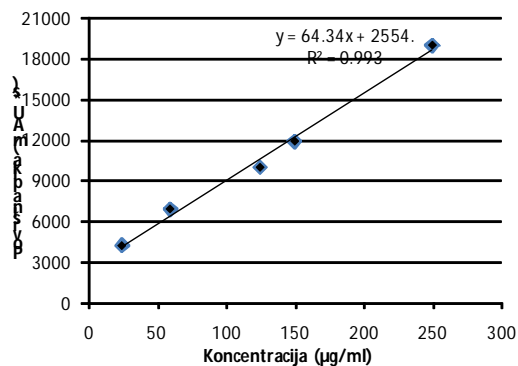
Slika P9. Kalibraciona prava protokatehinske kiseline dobijena HPLC metodom



Slika P10. Kalibraciona prava kafeinske kiseline dobijena HPLC metodom



Slika P11. Kalibraciona prava trans-ferulinske kiseline dobijena HPLC metodom



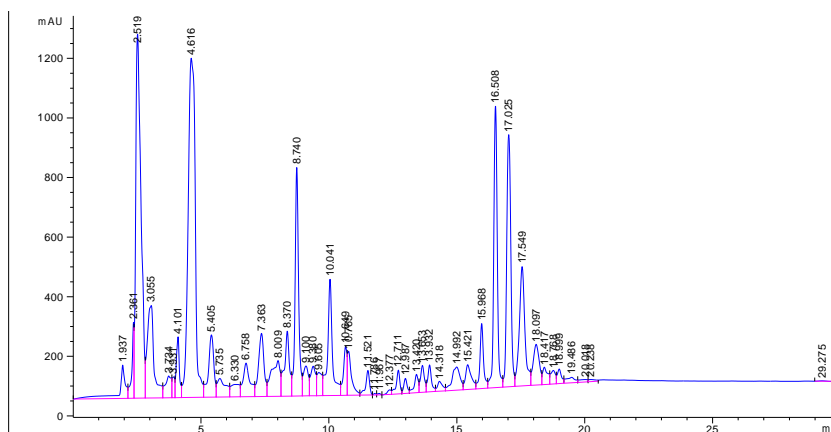
Slika P12. Kalibraciona prava genistinske kiseline dobijena HPLC metodom

Tabela P1. Molekulske formule ispitivanih fenolnih kiselina i jednačine kalibracionih prava dobijene HPLC metodom

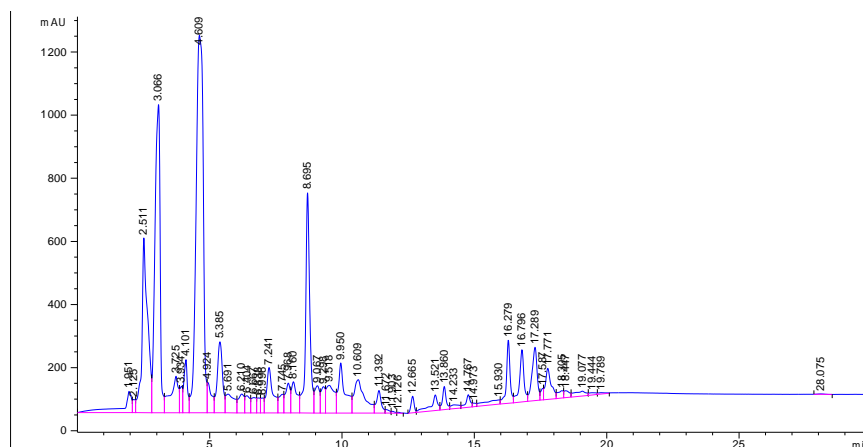
Kiselina	Molekulska formula	Molekulska masa g/mol	Kalibraciona prava
Hlorogena	$C_{16}H_{18}O_9$	354,31	$C=0,0448xA-44,79$
Galna	$C_7H_6O_5$	170,12	$C=0,0182xA-24,48$
Protokatehinska	$C_7H_6O_4$	154,12	$C=0,0162xA-67,86$
Kafeinska	$C_9H_8O_4$	180,16	$C=0,0113xA-4,23$
<i>trans</i> -Ferulinska	$C_{10}H_{10}O_4$	194,18	$C=0,0126xA-15,72$
Genistinska	$C_7H_6O_4$	154,12	$C=0,0155A-39,69$

C- koncentracija kiseline u $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta

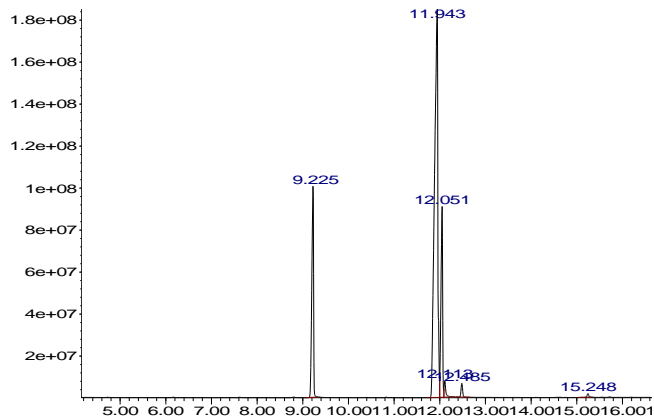
A- površina pika u mAU*s



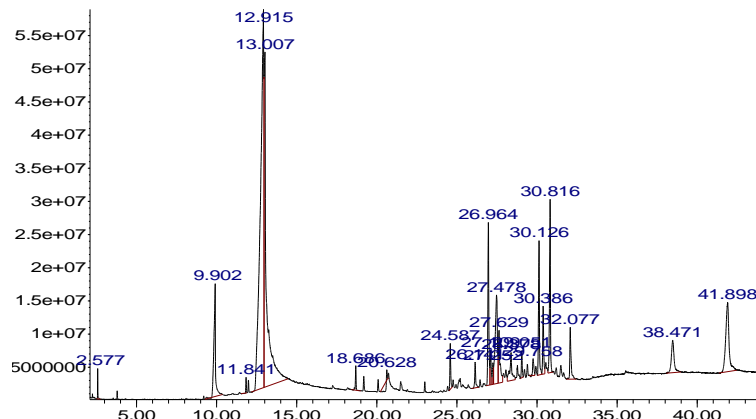
Slika P13. HPLC hromatogram acilglicerola u ekstraktu lipida iz pšeničnog brašna



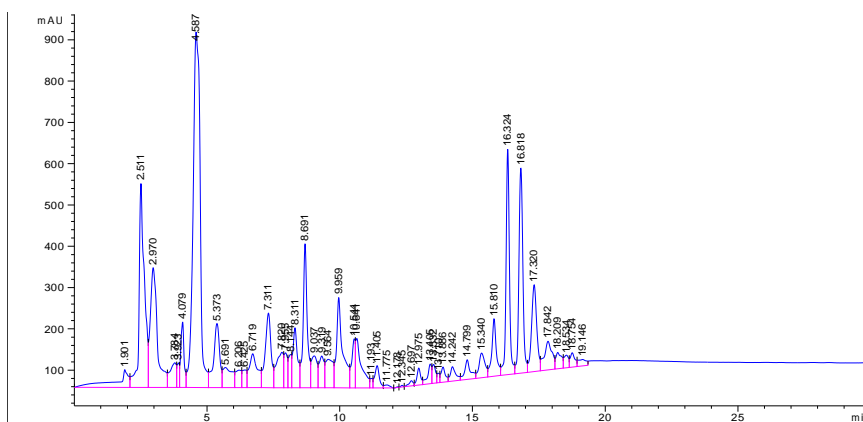
Slika P14. HPLC hromatogram acilglicerola u ekstraktu lipida iz brašna vrganja



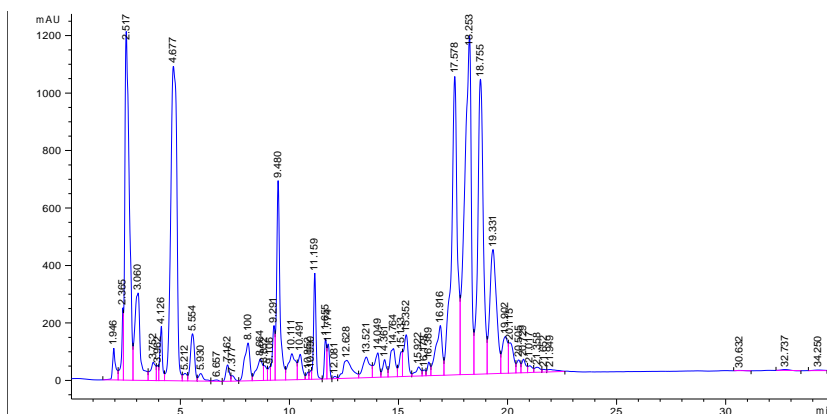
Slika P15. GC hromatogram masnih kiselina lipida pšeničnog brašna



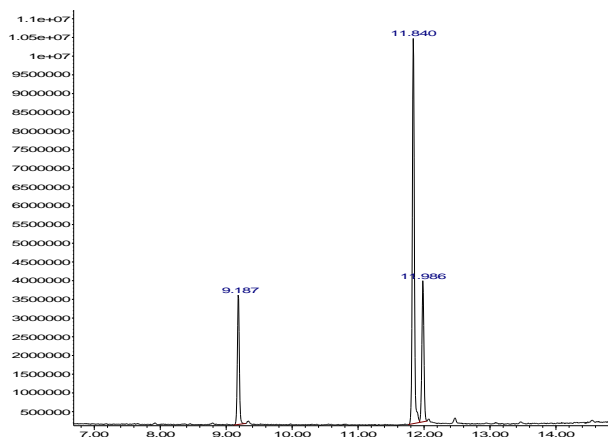
Slika P16. GC hromatogram masnih kiselina lipida brašna vrganja



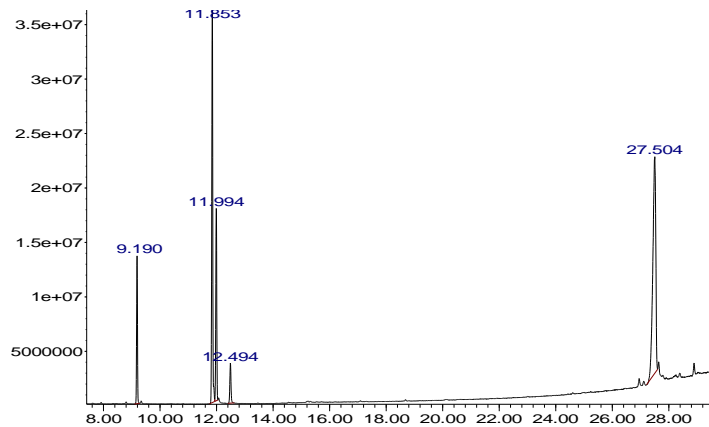
Slika P17. HPLC hromatogram acilglicerola u ekstraktu lipida dobijenog od testa nakon zamesa



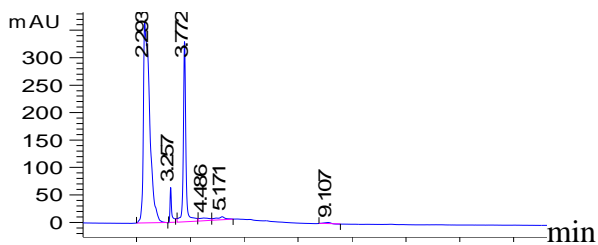
Slika P18. HPLC hromatogram acilglicerola u ekstraktu lipida dobijenog od testa nakon termičke obrade



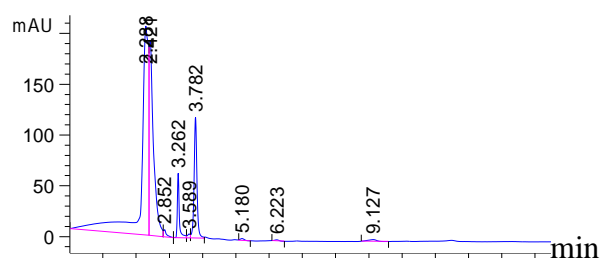
Slika P19. GC hromatogram masnih kiselina lipida testa nakon zamesa



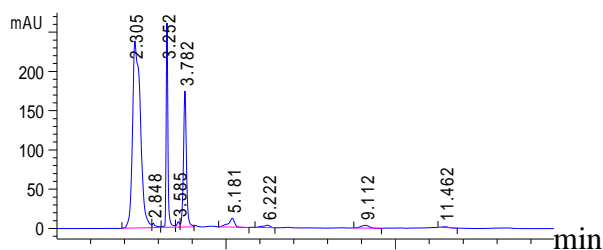
Slika P20. GC hromatogram masnih kiselina lipida testa nakon termičke obrade



a)

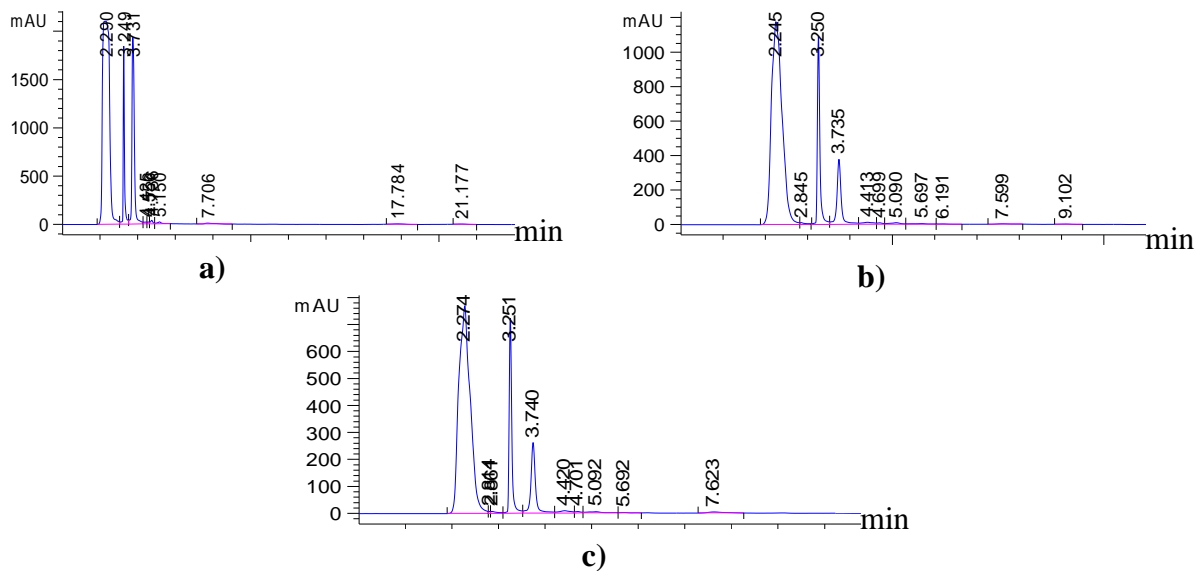


b)

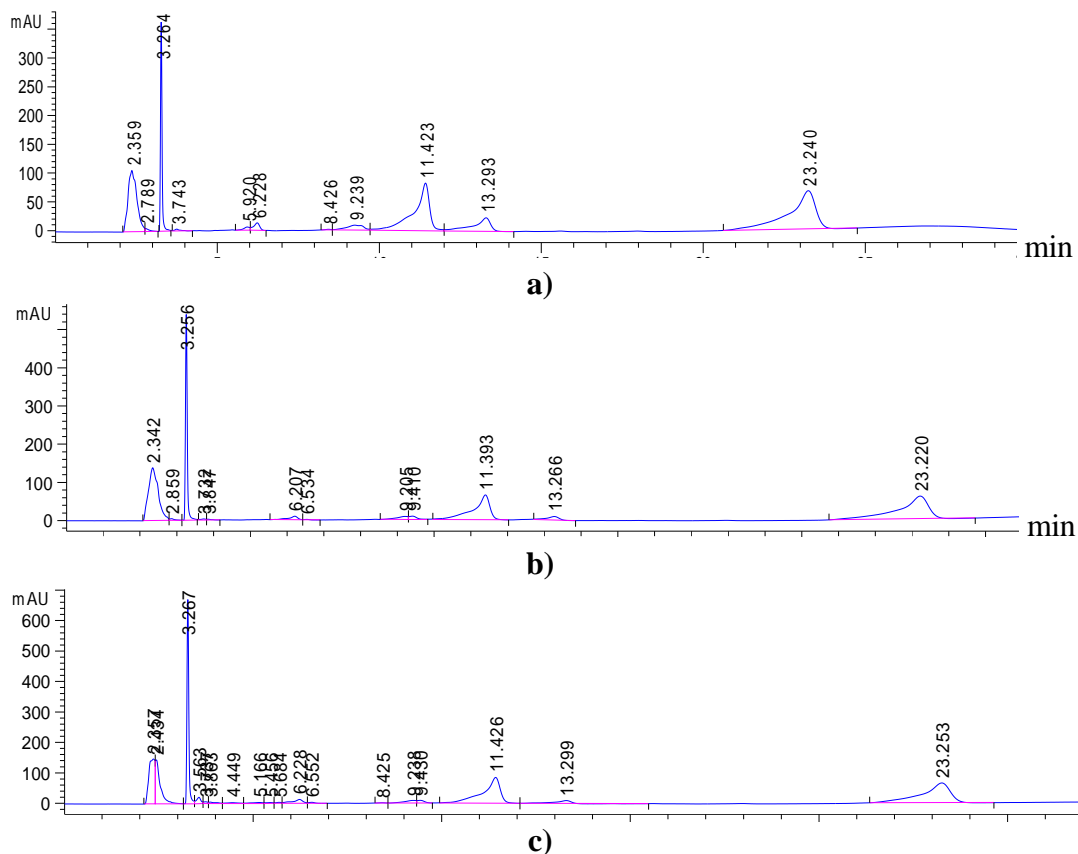


c)

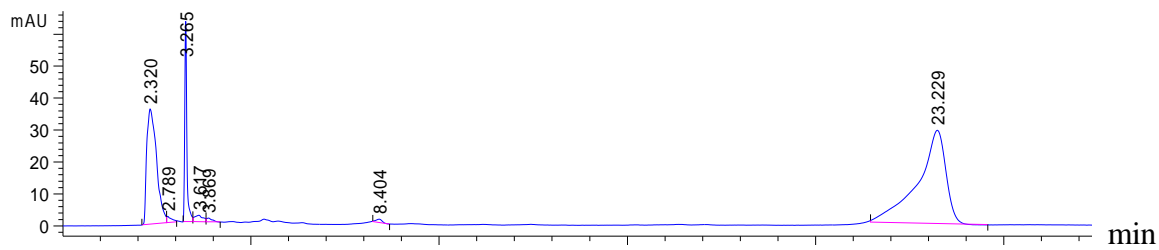
Slika P21. HPLC hromatogrami fenolnih kiselina u ekstraktu slobodnih polifenola dobijenih iz pšeničnog brašna (a), testa od pšeničnog brašna nakon zamesa (b) i nakon termičke obrade (c)



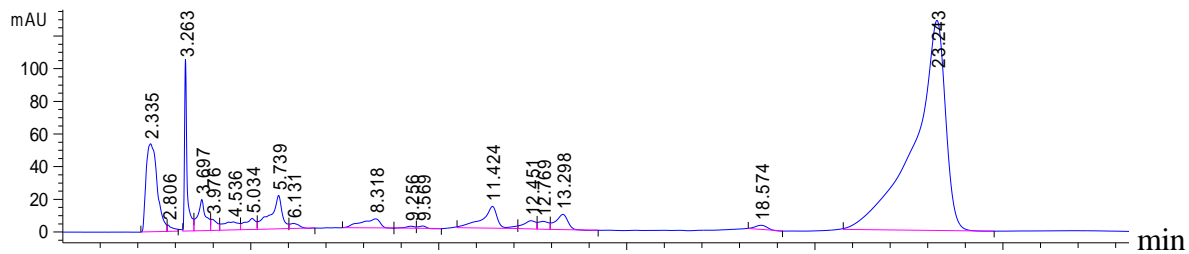
Slika P22. HPLC hromatogrami fenolnih kiselina u ekstraktu slobodnih polifenola dobijenih iz brašna vrganja (a) i testa od mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) nakon zamesa (b) i nakon pečenja (c)



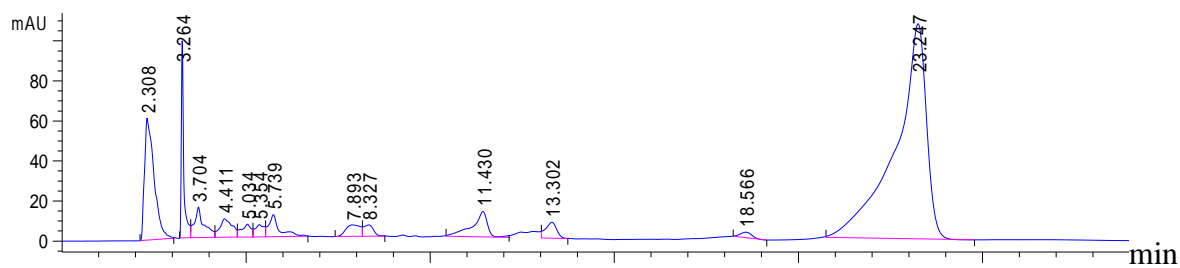
Slika P23. HPLC hromatogrami fenolnih kiselina u ekstraktu vezanih polifenola dobijenih iz pšeničnog brašna (a) i testa od pšeničnog brašna nakon zamesa (b) i nakon termičke obrade (c)



a)



b)



c)

Slika P24. HPLC hromatogrami fenolnih kiselina u ekstraktu vezanih polifenola dobijenih iz brašna vrganja (a) i testa od mešavine pšeničnog i brašna vrganja (70:30, m/m) nakon zamesa (b) i nakon termičke obrade (c)

Биографија

Јелена (Славица) Стојановић је рођена 15. 11. 1985 у Врању. Основну и средњу Пољопривредну школу, смер прехранбени техничар, завршила је у Врању. Технолошки факултет, смер прехранбено инжењерство, уписала је 2004. године. Дипломирала је са средњом оценом у току студија 8,12 и оценом 10 на дипломском испиту. Докторске студија на Технолошком факултету у Лесковцу, смер технолошко-инжењерство, уписала је 2011. године. Све испите који су предвиђене наставним планом и програмом докторских студија положила је са просечном оценом 10.

До сада је објавила један рад у врхунском међународном часопису (M22), два рада у међународном часопису (M23), три рада у часопису националног значаја (M52), два саопштења на међународним скуповима штампана у целини (M33), пет саопштења на међународним скуповима штампана у изводу (M34), једно саопштење на скупу националног значаја штампано у целини (M63) и шест саопштења на националним скуповима штампана у изводу (M64).

**СПИСАК ОБЈАВЉЕНИХ РАДОВА КАНДИДАТА
Јелене С. Стојановић из области дисертације**

Рад у врхунском међународном часопису, М22 (5)

1. Nada Nikolić, **Jelena Stojanović**, Jelena Mitrović, Miodrag Lazić, Ivana Karabegović, Gordana Stojanović, THE ANTIOXIDANT ACTIVITY AND THE COMPOSITION OF FREE AND BOUND PHENOLIC ACIDS IN DOUGH OF WHEAT FLOUR ENRICHED BY *Boletus edulis* AFTER MIXING AND THERMAL PROCESSING, *International Journal of Food Science and Technology*, 51 (9) (2016) 2019–2025, (Food Science and Technology, 60/124, IF=1,504, za 2015.) DOI: 10.1111/IJFS.13172

Рад у међународном часопису, М23 (3)

1. N. Nikolić, Z. Todorović, J. Stojanović, D. Veličković, M. Lazić, THE FATTY ACIDS AND ACYLGLYCEROLS IN CHICKPEA AND LENTIL FLOUR, *AgroFOOD industry Hi-tech*, 24 (1) (2013) 66-68 (Food Science and Technology, 117/128, IF=0,225 za 2011).
2. **J. Stojanović**, M. Lazić, G. Stojanović, N. Nikolić, COMPOSITION AND RADICAL SCAVENGING OF PHENOLIC COMPOUNDS IN WHEAT-CHICKPEA DOUGH, *International Journal of Food Properties*, 17 (2014), 1861-1871. (Food Science and Technology, 75/112, IF=0,915, za 2014).

Саопштење са међународног скупа штампано у целини, М33 (1)

1. N. Nikolić, **J. Stojanović**, M. Lazić, I. Karabegović, S. Stojičević, G. Stojanović, THE CONTENT AND RADICAL SCAVENGING CAPACITY OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM BLACK RADISH ROOTS OF VARIOUS SIZES, 6th Central European Food Congress on Food, Novi Sad, 23-26. maj, 2012, Proceedings, str. 29-33.
2. N. Nikolić, **J. Stojanović**, Z. Todorović, S. Cakić, G. Stojanović, THE FATTY ACIDS AND ACYLGLYCEROLS CONTENT AND COMPOSITION OF CHICKPEA FLOUR, 6th Central European Food Congress on Food, Novi Sad, 23-26. maj, 2012, Proceedings, str. 502-506.

Рад у часопису националног значаја, М52 (1,5)

1. N. Nikolić, **J. Stojanović**, G. Stojanović, J. Mastilović, I. Karabegović, G. Petrović, M. Lazić, THE EFFECT OF SOME PROTEIN RICH FLOURS ON FARINOGRAPH PROPERTIES OF THE WHEAT FLOUR, *Advanced Technologies*, 1 (2) (2013) 20-25.
2. **J. Stojanović**, N. Nikolić, M. Lazić, I. Karabegović, G. Stojanović, DPPH RADICAL SCAVENGING CAPACITY AND REDUCING POWER OF FREE AND BOUND PHENOLICS FROM WHEAT AND PORCINO (*Boletus edulis*) FLOUR, *Advanced Technologies*, 2 (3) (2014) 52-57.
3. N. Nikolić, **J. Stojanović**, J. Mastilović, M. Lazić, I. Karabegović, G. Stojanović, RHEOLOGY PROPERTIES, ACYLGLYCEROLS AND FATTY ACIDS COMPOSITION OF WHEAT FLOUR SUPPLEMENTED WITH *Boletus edulis* FLOUR, *Advanced Technologies*, 42 (2) (2015) 79-85.

Саопштење са скупа националног значаја штампано у целини, М63 (0,5)

1. N. Nikoić, M. Denčić, **J. Stojanović**, B. Radovanović, M. Lazić, COMPARATIVE ANALYSIS OF CONTENT AND RADICAL SCAVENGING CAPACITY OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM BLACK AND WHITE MUSTARD, XVII Savetovanje o biotehnologiji, Čačak, Srbija, 6-7. 4. 2012., Zbornik radova, str. 398-403.

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу, М34 (0,5)

1. N. Nikolić, **J. Stojanović**, N. Ristić, G. Stojanović, Z. Todorović, I. Karabegović, M. Lazić, PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF LENTIL (*Lens culinaris* L.) FLOUR, Belgrade Food International conference – Food, Health and Well Being, Belgrade, 26-28. 11. 2012., Book of abstracts, P.2.13., str. 83.
2. N. Nikolić, **J. Stojanović**, G. Petrović, I. Karabegović, D. Veličković, M. Lazić, CONTENT AND COMPOSITION OF PHENOLIC COMPOUNDS OF WHEAT FLOUR AND ITS DOUGH, 3rd International conferences Sustainable postharvest and food technologies-INOPTTEP 2013, 21-26 april, 2013., Vrnjačka banja, Proceedings, str. 342.
3. **J. Stojanović**, N. Nikolić, I. Karabegović, G. Stojanović, G. Petrović, S. Stojičević, M. Lazić, TOTAL PHENOLIC CONTENT AND RADICAL SCAVENGING CAPACITY OF MIXTURE OF WHEAT AND *Boletus edulis* FLOUR, 3rd International conferences Sustainable postharvest and food technologies-INOPTTEP 2013, 21-26 april, 2013. Vrnjačka banja, Proceedings, str. 354.
4. **J. Stojanović**, N. Nikolić, M. Lazić, I. Karabegović, G. Stojanović, SCAVENGING CAPACITY OF DPPH RADICAL AND REDUCING POWER OF FREE AND BOUND PHENOLICS FROM PORCHINO (*BOLETUS EDULIS*) FLOUR, International conference on natural products utilization: From plants to pharmacy shelf, 3-6. novembar 2013., Bansko, Bulgaria, Book of Abstracts, str. 163-164.
5. Nada Nikolić, **Jelena Stojanović**, Miodrag Lazić, Ivana Karabegović, Saša Stojičević, Jasna Mastilović, EFFECT OF DOUGH MIXING ON SCAVENGING CAPACITY OF FREE AND BOUND PHENOLICS FROM MIXTURE OF WHEAT AND PORCINO (*Boletus edulis*) FLOUR, II International Congress FoodTechnology, Quality and Safety, 28-30. 10. 2014. Novi Sad, Abstract book, str. 60.

Саопштење са националног скупа штампано у изводу, М64 (0,2)

1. N. Nikolić, M. Denčić, **J. Stojanović**, G. Stojanović, M. Lazić, COMPARATIVE ANALYSIS OF CONTENT AND RADICAL SCAVENGING CAPACITY OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM BLACK, WHITE AND PIMENT PEPPER, 7th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, Subotica, 28-30. Maj, 2012., Book of Abstracts, str.53.
2. **J. Stojanović**, N. Nikolić, I. Karabegović, M. Lazić, J. Mastilović, NUTRITIONAL AND ENERGETIC VALUE OF WHEAT AND *Boletus edulis* MUSHROOM FLOUR MIXTURE, 12. Kongres o ishrani, Beograd, 31-3. Novembar, 2012., Izvodi radova, str 109-110.
3. N. Nikolić, **J. Stojanović**, G. Stojanović, G. Petrović, S. Stojičević, D. Kitić, SASTAV MASNIH KISELINA MEŠAVINE PŠENIČNOG I BRAŠNA PEČURKE *Boletus edulis*, X simpozijum "Savremene tehnologije i privredni razvoj" sa međunarodnim učešćem, Tehnološki fakultet, Leskovac, 22-23. Oktobar 2013., Leskovac, ZBORNİK IZVODA RADOVA, str. 60.
4. **J. Stojanović**, N. Nikolić, Z. Todorović, I. Karabegović, D. Veličković, M. Lazić, SADRŽAJ LIPIDA I SASTAV ACILGLICEROLA MEŠAVINE PŠENIČNOG I BRAŠNA PEČURKE *Boletus edulis*, X simpozijum "Savremene tehnologije i privredni razvoj" sa međunarodnim učešćem, Tehnološki fakultet, Leskovac, 22-23. Oktobar 2013., Leskovac, ZBORNİK IZVODA RADOVA, str. 61.
5. N. Nikolić, **J. Stojanović**, M. Mičić, M. Lazić, I. Karabegović, G. Stojanović, SCAVENGING CAPACITY OF DPPH RADICAL AND REDUCING POWER OF FREE AND BOUND PHENOLICS OF WHEAT FLOUR, 3. Međunarodni simpozijum "Okolišni potencijali, održivi razvoj i proizvodnja hrane", Bosna i Hercegovina, Tuzla, 14-15. Novembar 2013., Zbornik sažetaka, str.45.
6. N. Nikolić, **J. Stojanović**, M. Lazić, I. Karabegović, G. Stojanović, J. Mastilović, THE EFFECT OF DOUGH MIXING ON THE REDUCING POWER OF FREE AND BOUND PHENOLICS FROM THE MIXTURE OF WHEAT AND PORCINO (*Boletus edulis*) FLOUR, XI Simpozijum i privredni razvoj, Leskovac, 23 i 24 oktobar, 2015, Zbornik izvoda radova, str. 77.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

**УТИЦАЈ ЗАМЕСА И ТЕРМИЧКЕ ОБРАДЕ НА АНТИОКСИДАТИВНУ
АКТИВНОСТ ПШЕНИЧНОГ БРАШНА СА ДОДАТКОМ БРАШНА ПЕЧУРКЕ
*Boletus edulis***

која је одбрањена на Технолошком факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Лесковцу, _____.

Потпис аутора дисертације:

Јелена Стојановић

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНОГ И ЕЛЕКТРОНСКОГ ОБЛИКА
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације:

**УТИЦАЈ ЗАМЕСА И ТЕРМИЧКЕ ОБРАДЕ НА АНТИОКСИДАТИВНУ
АКТИВНОСТ ПШЕНИЧНОГ БРАШНА СА ДОДАТКОМ БРАШНА ПЕЧУРКЕ
*Boletus edulis***

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, истоветан штампаном облику.

У Лесковцу, _____.

Потпис аутора дисертације:

Јелена Стојановић

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

**УТИЦАЈ ЗАМЕСА И ТЕРМИЧКЕ ОБРАДЕ НА АНТИОКСИДАТИВНУ
АКТИВНОСТ ПШЕНИЧНОГ БРАШНА СА ДОДАТКОМ БРАШНА ПЕЧУРКЕ
*Boletus edulis***

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (CreativeCommons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CCBY)
2. Ауторство – некомерцијално (CCBY-NC)
- 3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CCBY-NC-ND)**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CCBY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CCBY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CCBY-SA)

У Лесковцу, _____.

Потпис аутора дисертације:

Јелена Стојановић