



UNIVERZITET U NOVOM SADU
TEHNOLOŠKI FAKULTET



MSc Tamara Dapčević Hadnađev

Uticaj dodatka emulgjućih skrobova na tehnološke karakteristike testa i kvalitet hleba

DOKTORSKA DISERTACIJA

Novi Sad, 2013.

Univerzitet u Novom Sadu

Tehnološki fakultet

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:
RBR

Identifikacioni broj:
IBR

Tip dokumentacije: Monografska publikacija
TD

Tip zapisa: Tekstualni štampani materijal
TZ

Vrsta rada: Doktorska disertacija
VR

Autor: MSc Tamara Dapčević Hadnađev, dipl. inž.
AU

Mentor: Dr Ljubica Dokić, redovni profesor
MN

Naslov rada: Uticaj dodatka emulgujućih skrobova na tehnološke
NR karakteristike testa i kvalitet hleba

Jezik publikacije: Srpski, latinica
JP

Jezik izvoda: Srpski / engleski
JI

Zemlja publikovanja: Republika Srbija
ZP

Uže geografsko područje: Vojvodina
UGP

Godina: 2013.
GO

Izdavač: Tekst autora
IZ

Mesto i adresa: Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija
MA

Fizički opis rada: 6 poglavlja, literatura i prilog, 131 stranica, 54 slike,
FO 25 tabela, 160 literaturnih navoda

Naučna oblast: Biotehničke nauke
NO

Naučna disciplina: Prehrambeno inženjerstvo
ND

Predmetna odrednica: Emulgjući (OSA) skrobovi, reološke i strukturne
PO osobine testa, viskoelastične osobine glutena, kvalitet
i starenje hleba, retrogradacija skroba

UDK

Čuva se: U biblioteci Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu,
ČU Bul. cara Lazara 1, 21000 Novi Sad

Važna napomena: Nema
VN

Izvod:
IZ

Prema najnovijim istraživanjima modifikovanim skrobovima može se pripisati još jedna uloga - aditivi u pekarstvu, s obzirom da utiču na poboljšanje kvaliteta hleba i usporavaju proces starenja. Međutim, prema saznanjima autora ove disertacije, ne postoje istraživanja na temu uticaja emulgjućih skrobova (skrob-natrijum oktenilsukcinata, OSA skrobova) na kvalitet testa i hleba od pšeničnog brašna. Uzimajući u obzir činjenicu da druge vrste modifikovanih skrobova ispoljavaju dobre osobine u smislu poboljšanja kvaliteta hleba i da je OSA skrob nutritivno vredna sirovina, s obzirom da se u organiznu ponaša kao prehrambeno vlakno, od velike je važnosti ispitati ulogu OSA skroba kao aditiva u pekarstvu.

Međutim, usled kompleksne prirode testa kao sistema, bilo je teško odrediti relativni uticaj pojedinačnih komponenti (proteina, pšeničnog skroba, OSA skroba) i njihovih međusobnih interakcija na osobine testa. Stoga je, u cilju rasvetljavanja uticaja različitih OSA skrobova na viskoelastične osobine testa i retrogradaciju skrobne komponente (fenomen povezan sa starenjem hleba), pšenično brašno frakcionisano na gluten i skrob, i vršena su ispitivanja strukturnih, reoloških i termičkih osobina hidratisanog glutena i skrobnih gelova sa dodatkom OSA skroba. Takođe su pripremani i model sistemi testa. Ispitivanja na realnim sistemima (testo i hleb) izvođena su zamenom 2,5; 5 i 10% pšeničnog brašna, jednim od tri vrste OSA skroba: skrob-natrijum oktenilsukcinatom (OSA-ST), preželatiziranim skrob-natrijum oktenilsukcinatom (Pregel OSA-ST) i hidrolizovanim sušenim u spreju skrob-natrijum oktenilsukcinatom (Hydrol OSA-ST). Cilj je bio da se ispita uticaj dodatka OSA skrobova na strukturu testa (SEM), empirijske (miksolab, alveograf i reofermentometar) i fundamentalne (oscilatorna merenja i testovi puzanja i deformacije) reološke osobine, kao i parametre kvaliteta hleba (specifična zapremina, boja kore i sredine hleba, vlaga sredine hleba, parametri raspodele veličine

pora i tekstura sredine). Pored pomenutog, praćena je i promena kvaliteta hleba tokom skladištenja, kako bi se dobio uvid u kinetiku starenja hleba.

Rezultati dobijeni u ovoj disertaciji ukazali su da reološko ponašanje testa sa dodatkom OSA skrobova zavisi od strukture skrobnih granula, tj. od stepena dezintegracije i depolimerizacije granule tokom procesa modifikacije. Stoga je dodatak OSA-ST doveo do ojačavanja glutenske mreže što se odrazilo na porast modula elastičnosti i testa i glutena. Nasuprot tome, Pregel and Hydrol OSA-ST uticali su na kontinualnost glutenske mreže koja je u njihovom prisustvu bila poroznija, a time su i dobijena testa bila mekša i rastegljivija. Istraživanja na realnim i model sistemima (pšenični skrob sa dodatkom OSA skroba) ukazala su da sva tri OSA skroba usporavaju retrogradaciju pšeničnog skroba. Takođe je dokazano da svi ispitivani emulgujući skrobovi povećavaju specifičnu zapreminu hleba u poređenju sa kontrolnim, pri čemu je Pregel OSA ispoljio najjači efekat. To se odrazilo i na strukturne osobine sredine hleba, a posledično i na mehaničke osobine sredine, čija promena je praćena u cilju određivanja kinetike starenja hleba. Prema dobijenim rezultatima, vrednosti čvrstoće sredine hleba koji je sadržao OSA-ST i Pregel OSA-ST su i nakon 24 h bile slične ili značajno niže od vrednosti čvrstoće kontrolnog uzorka određene 2 h nakon pečenja.

Datum prihvatanja teme: 25.02.2013.

DP

Datum odbrane:

DO

Članovi komisije:

KO

dr Nada Filipović, redovni profesor, Tehnološki fakultet, Novi Sad, predsednik

dr Ljubica Dokić, redovni profesor, Tehnološki fakultet, Novi Sad, mentor

dr Dragana Šoronja-Simović, docent, Tehnološki fakultet, Novi Sad, član

dr Aleksandra Torbica, naučni saradnik, Naučni institut za prehrambene tehnologije, Novi Sad, član

dr Milica Pojić, naučni saradnik, Naučni institut za prehrambene tehnologije, Novi Sad, član

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Document type:

Monographic publication

DT

Type of record:

Textual material, printed

TR

Content code:

PhD Thesis

CC

Author:

MSc Tamara Dapčević Hadnađev

AU

Mentor:

Dr Ljubica Dokić, full professor

MN

Title:

Influence of emulsifying starches on dough technological characteristics and bread quality

TI

Language of text:

Serbian, latin

LT

Language of abstract:

Serbian / English

LA

Country of publication:

Republic of Serbia

CP

Locality of publication:

Vojvodina

LP

Publication year:

2013.

PY

Publisher:

Author's reprint

PU

Publication place: Serbia, 21000 Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1
PP

Physical description: 6 chapters, references and annex, 131 pages, 54
PD figures, 25 tables, 160 references

Scientific field: Biotechnical sciences
SF

Scientific discipline: Food engineering
SD

Subject / Key words: Emulsifying (OSA) starches, dough rheological and
SKW structural properties, gluten viscoelastic characteristics, bread quality and stalling, starch retrogradation

UDC

Holding data: Library of Faculty of Technology, Novi Sad
HD

Note:
N

Abstract:
AB

Recent studies have demonstrated that modified starches can be used as novel additives in breadmaking since they improve bread quality and retard stalling. However, up to the author's knowledge, there are no investigations concerning the influence of emulsifying starches (starch sodium octenyl succinates - OSA starches) on wheat flour dough and bread quality. Taking into account the fact that other modified starches have exhibited significant bread improving properties and that OSA starch has special nutritional value since it can act as functional fibre, it is of a great importance to investigate the feasibility of OSA starch as bread improver.

However, due to the complex nature of dough, it was difficult to determine the relative contributions of protein, native and modified starch components and their interactions on dough properties. Therefore, in order to resolve the influence of different OSA starches on dough viscoelastic properties and starch retrogradation (the phenomenon related to bread stalling), wheat flour was fractionated into gluten and starch; and the structural, rheological and thermal behaviour of the hydrated gluten samples and starch gels supplemented with emulsifying starches was also studied. Dough model systems were also prepared.

Experiments on real systems (dough and bread) were performed by incorporating starch sodium octenyl succinate (OSA-ST), pregelatinized OSA starch (Pregel OSA-ST) and hydrolysed spray-dried OSA starch (Hydrol OSA-ST) at 2.5, 5 and 10 % into wheat flour. The aim was to investigate the effect of incorporating OSA starches on dough

structural (SEM imaging), empirical (Mixolab, Alveograph, Rheofermentometre) and fundamental (oscillatory and creep measurements) rheological properties as well as bread quality parameters (specific loaf volume, crust and crumb colour, crumb moisture, crumb grain features, crumb texture). In addition, the bread quality attributes during storage were also monitored in order to get insight into bread stalling kinetics.

The results obtained in this thesis revealed that the rheological behaviour of OSA starch supplemented dough depended on the OSA starch granule rigidity, i.e. extent of OSA starch granule disintegration and polysaccharide degradation during modification. OSA-ST starch caused a reinforcement of the gluten network, as shown by the increase in storage modulus of doughs and gluten. On contrary, Pregel and Hydrol OSA-ST affected the continuity of gluten network which became porous and thus produced softer and stickier doughs in comparison to control. Investigations on real dough and model systems containing wheat and OSA starches revealed that all three types of OSA starches reduced starch retrogradation.

In general, all the examined emulsifying starches increased bread loaf volume in comparison to control bread with no added polymers, while Pregel OSA starch has expressed the greatest impact. It also reflected on bread crumb structural features and consequently on the crumb mechanical properties which were used for bread stalling monitoring. Firmness values of OSA-ST and Pregel OSA-ST starch supplemented bread crumbs, after 24 h of storage, were similar to or significantly lower than those of control determined 2 h after baking.

Accepted by science board: 25.02.2013.

ASB

Defended on:

DE

Thesis defend board:

DB

dr Nada Filipović, full professor, Faculty of Technology, Novi Sad, chairman

dr Ljubica Dokić, full professor, Faculty of Technology, Novi Sad, menthor

dr Dragana Šoronja-Simović, assistant professor, Faculty of Technology, Novi Sad, member

dr Aleksandra Torbica, research associate, Institute of Food Technology, Novi Sad, member

dr Milica Pojić, research associate, Institute of Food Technology, Novi Sad, member

Iskoristila bih ovu jednu stranicu disertacije da se zahvalim svima onima koji su zaslužni za sve ostale stranice ove disertacije, kao i mnoge druge stranice ispisane tokom mog studiranja i istraživačkog rada.

*

Pre svega zahvalila bih se svojoj mentorki dr Ljubici Dokić na ukazanom poverenju i oblikovanju mene kao istraživača poslednjih šest godina. Hvala joj na podršci mojim idejama i davanju sugestija kako bi te ideje bile dobro organizovane, izvedene i prezentovane. Takođe bih se zahvalila profesoru dr Petru Dokiću na nesebičnom pružanju ogromnog znanja iz oblasti reologije i koloidne hemije. Da mi primer nije bila njegova posvećenost i entuzijazam u nauci možda ne bih izabrala ovaj put u svom profesionalnom radu. Zahvalila bih se i predsednici komisije da Nadi Filipović na pažljivom isčitavanju materijala disertacije i svim sugestijama i korekcijama. Hvala i dr Dragani Šoronja-Simović na pruženim savetima i materijalu za izvođenje probnih pečenja. Veliko hvala dugujem i mojim članovima komisije, kolegincama i idejnim tvorcima projekata uz pomoć kojih je i izvedena i finansirana ova disertacija dr Aleksandri Torbici i dr Milici Pojić.

*

Tehnička izvedba ove disertacije ne bi bila moguća bez sledećih ljudi: Ljiljane Milošević iz Fidelinka a.d. Subotica koje je obezbedila uzorke brašna, glutena i skroba; Mladena Gavrilovića iz Palco, Šabac, predstavnika kompanije Cargill, koji je donirao uzorke emulgujućih skrobova, pa čak i one koji se ne uvoze u našu zemlju i dr Ivana Ristića koji je izveo DSC merenja predstavljena u ovom doktoratu i podneo sva moja zapitkivanja, isprobavanja, ponavljanja, krajnje stručno, nesebično i prijateljski. Takođe hvala tehničkim saradnicima FINSLab-a, a posebno pekarskog i farinološkog odeljenja koji su mi pomogli ne samo oko izvođenje eksperimenata probnog pečenja, već su i svojim prisustvom i vedrom atmosferom u laboratoriji činili rad na disertaciji lakšim i zabavnijim.

*

Međutim, najveću zahvalnost dugujem jednoj osobi, koja je sa mnom rame uz rame izvodila ove eksperimente, bodrila me tokom pisanja same teze i naučnih radova, verovala u kraj ove disertacije kada sam i ja već posustajala i koja mi je velika podrška i profesionalno i privatno – mom suprugu i kolegi Miroslavu.

*

Na kraju ostaje ono najteže, a to je pronaći prave reči da se zahvalim svojim roditeljima Ivki i Rajku, kao i svojoj sestri Jeleni, koji su uvek bili moja luka, ne samo tokom ove odiseje, već kroz ceo moj životni put. Samo se nadam da znaju da je njihova безусловna ljubav, podrška i poverenje najveći dar koji su mogli da mi poklone.

*

I naravno, hvala svim mojim prijateljima i rođacima što su me trpeli i nisu mi zamerali što nisam imala dovoljno vremena za njih. Obećavam da ću im to nadoknaditi!

Autor

Sadržaj

Poglavlje 1: Uvod	1
Poglavlje 2: Cilj rada	4
Poglavlje 3: Pregled literature	6
3.1. Osobine nativnog skroba	6
3.1.1. Struktura skrobne granule	7
3.1.2. Fenomeni želatinizacije i retrogradacije	11
3.2. Modifikovani skrobovi	13
3.2.1. Hemijski modifikovani skrobovi	15
3.2.1.1. Sukcinati skroba i skrob-natrijum-oktenilsukcinat	18
3.2.2. Fizički modifikovani skrobovi	23
3.3. Reološke osobine testa sa dodatkom modifikovanih skrobova	23
3.3.1. Strukturna svojstva odgovorna za specifično reološko ponašanje testa	24
3.3.2. Reološke osobine testa	26
3.3.3. Pregled postupaka pripreme testa za fundamentalna reološka merenja	30
3.3.4. Uticaj modifikovanih skrobova na reološke osobine testa	31
3.4. Kvalitet i starenje hleba sa dodatkom modifikovanih skrobova	32
Poglavlje 4: Materijal i metodi	38
4.1. Materijal	38
4.2. Frakcionisanje brašna	39
4.3. Priprema model sistema	39
4.3.1. Priprema model sistema nativno glutensko brašno - OSA skrob	39
4.3.2. Priprema model sistema pšenični skrob - OSA skrob	40
4.3.3. Priprema model sistema testo - OSA skrob	40
4.4. Priprema realnih sistema	41
4.4.1. Priprema testa od pšeničnog brašna sa dodatkom OSA skroba	41

4.4.2. Priprema testa za probno pečenje	42
4.5. Fundamentalni reološki testovi	42
4.6. Empirijski reološki testovi	48
4.6.1. Određivanje termo-mehaničkih osobina testa primenom miksolaba	48
4.6.2. Određivanje alveografskih pokazatelja kvaliteta testa	49
4.6.3. Praćenje reološke promene testa i produkcije gasa tokom fermentacije	49
4.7. Određivanje rastvorljivosti, moći bubrenja i kapaciteta vezivanja vode	50
4.8. Analiza strukture sistema skenirajućom elektronskom mikroskopijom	51
4.9. Određivanje strukture diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom	51
4.10. Određivanje specifične zapremine hleba	52
4.11. Određivanje boje kore i sredine hleba	52
4.12. Digitalna analiza slike preseka hleba	53
4.13. Praćenje promene sadržaja vlage sredine hleba tokom starenja	53
4.14. Praćenje promene teksture sistema tokom starenja	54
4.15. Određivanje kinetike sinerezisa kao mere starenja sistema	56
4.16. Statistička obrada podataka	56
Poglavlje 5: Rezultati i diskusija	57
5.1. Struktura i osobine OSA skrobova	57
5.2. Uticaj OSA skrobova na reološke i strukturne osobine glutena	60
5.3. Uticaj OSA skrobova na reološke i strukturne osobine gela pšeničnog skroba	69
5.3.1. Rastvorljivost, moć bubrenja i kapacitet vezivanja vode	69
5.3.2. Želatinizacija i retrogradacija skroba	71
5.3.3. Promene reoloških osobina skrobnog gela tokom starenja	76
5.3.4. Promena čvrstoće skrobnog gela tokom starenja	81
5.3.5. Praćenje sinerezisa tokom starenja	82
5.4. Uticaj OSA skrobova na reološke osobine model sistema testa	83
5.5. Uticaj OSA skrobova na reološke i strukturne osobine testa	85
5.5.1. Empirijske reološke osobine testa sa dodatkom OSA skrobova	85
5.5.2. Fundamentalne reološke osobine testa sa dodatkom OSA skrobova	93
5.6. Uticaj OSA skrobova na kvalitet i starenje hleba	99
5.6.1. Kvalitet hleba sa dodatkom OSA skrobova	99
5.6.2. Promene parametara kvaliteta hleba tokom starenja	104
Poglavlje 6: Zaključak	108
Literatura	111
Prilozi	123

Poglavlje 1

Uvod

U proizvodnji hrane, a naročito pekarstvu, upotreba aditiva postala je neizbežna. Kao aditivi, koji se u pekarstvu nazivaju i poboljšivači, najčešće se koriste emulgatori, oksido-redukujući agensi i enzimi. Aditivi se pre svega upotrebljavaju u cilju poboljšanja tehnološkog kvaliteta proizvoda. Naime, klimatske promene i održivost lanca proizvodnje hrane prepoznati su kao najveći globalni problemi današnjice. Nepredvidivi klimatski uslovi gajenja ne odražavaju se samo na prinos, već i na kvalitet žita. Osim u svrhu trenutnog popravljjanja kvaliteta testa i hleba, aditivi se mogu dodavati i u cilju produženja svežine hleba. Imajući u vidu da hleb spada u namirnice koje najbrže "stare" i da se u Srbiji baci 25 t hleba dnevno (prema istraživanjima sprovedenim na Naučnom institutu za prehrambene tehnologije u periodu januar-mart 2010), dodatak aditiva koji usporava starenje hleba značajno bi smanjio ekonomske gubitke kako proizvođača, tako i potrošača. Međutim, postoje i grupe pekarskih aditiva, u koje spadaju i različita prehrambena vlakna, koji se proizvodu dodaju iz nutritivnih razloga. Razlog obogaćivanja hleba je činjenica da on spada u osnovne životne namirnice. Prema podacima Privredne komore Srbije potrošnja hleba u našoj zemlji je 105,9 kg po stanovniku godišnje, što je tri puta više od potrošnje ove namirnice u EU. Transformacija testa u hleb je kompleksan proces tokom kojeg se dešava nekoliko ireverzibilnih transformacija, koje obuhvataju kako seriju fizičkih fenomena, tako i različite hemijske i biohemijske reakcije. Stoga aditivi koji menjaju strukturu testa i dovode do različitih vrsta interakcija dodatno čine ovaj proces kompleksnim.

Do nedavno se u nauci o žitu i brašnu, u cilju razjašnjavanja uloge određenih komponenti brašna na kvalitet krajnjeg proizvoda, najveća pažnja poklanjala uticaju proteina brašna, a posebno glijadina i glutenina, na teksturu i kvalitet hleba. Značaj osobina skrobne frakcije pri formiranju strukture i teksture sredine hleba do nedavno je bio prilično slabo proučavan, iako je skrob osnovna komponenta brašna, sa procentom zastupljenosti od 75-85%. U savremenoj naučnoj literaturi pojavljuje se određeni broj radova koji pokušavaju da objasne ulogu skroba u toku proizvodnje i čuvanja hleba, kroz izučavanje model sistema (mešavina glutena i skroba u odnosima koji odgovaraju modelu brašna). U takve sisteme, radi boljeg tumačenja uloge skrobne frakcije, često se dodaju i modifikati skroba koji, iako dobro poznati u prehrambenoj industriji i priznati kao aditivi u EU, predstavljaju relativno nove poboljšivače na polju pekarstva.

Modifikovani skrobovi kreirani su sa ciljem da poboljšaju osobine nativnog skroba u različitim prehrambenim proizvodima, tj. da poboljšaju moć vezivanja vode, otpornost na uticaje okoline (mehaničke, termičke, promene pH), sposobnost ugušćivanja, kao i da smanje sinerezis. Postoji nekoliko tehnika modifikacije koje obuhvataju fizički, hemijski i enzimski tretman. Najčešće korišćeni postupci hemijske modifikacije su: *konverzija* (kiselinski konvertovani ili retkokuvajući skrobovi, oksidisani skrobovi, dekstrini ili pirokonvertovani skrobovi); *umrežavanje* (diskrobadipat, diskrobfosfat); i *supstitucija/stabilizacija* (estri skroba - skrobacetati, fosfati i sukcinati skroba; i etri skroba - hidroksipropilskrob). Usled prednosti u pogledu funkcionalnosti u odnosu na polazni nativni skrob, modifikovani skrobovi se uveliko primenjuju u proizvodnji hrane kao zamenjivači masti, poboljšivači teksturnih svojstava, sastojci koji poboljšavaju nutritivnu vrednost proizvoda i kao inkapsulirajući agensi.

Najnovije studije pokazale su da dodatak modifikovanih skrobova u pšenično brašno može uticati na poboljšanje kvaliteta hleba i usporavanje njegovog starenja. Činjenica da se komercijalno proizvedeni skrobovi uglavnom dvostruko, pa i višestruko modifikuju, kako bi im se poboljšale početne osobine, dovodi do zaključka da postoje još uvek neistražene grupe skrobnih modifikata koje bi mogle da se primene kao potencijalni poboljšivači u pekarstvu. Osim što ispoljavaju poboljšane funkcionalne osobine u odnosu na nativni skrob, primena modifikovanih skrobova u ishrani u saglasnosti je i sa različitim nutritivnim zahtevima i standardima u proizvodnji hrane kao što su vegetarijanska ishrana, ishrana osoba intolerantnih na određene sastojke hrane,

proizvodi sa smanjenim sadržajem masti ili bez masti, hrana proizvedena po halal i kosher standardima.

Poglavlje 2

Cilj rada

Pregledom dostupne literature ustanovljeno je da upotreba emulgujućih skrobova (skrob-natrijum-oktenilsukcinata - OSA skrobova) kao poboljšivača u pekarstvu do sada nije izučavana. Posebna prednost ovog aditiva u odnosu na ostale, do sada poznate i široko korišćene, je da se OSA skrob u organizmu ponaša kao prehrambeno vlakno, što bi proizvod sa dodatkom OSA skroba moglo označiti nutritivno vrednim.

Stoga, osnovni cilj istraživanja u okviru ove disertacije je definisanje uloge OSA skrobova kao novih aditiva u proizvodnji hleba. U tu svrhu primenjene su tri vrste komercijalno dostupnih OSA skrobova poreklom iz voskastog kukuruza: 1) izbeljeni OSA skrob, 2) OSA skrob preželatiziran postupkom sušenja u bubnju i 3) OSA skrob preželatiziran postupkom sušenja u spreju i enzimski hidrolizovan.

S obzirom na kompleksni karakter testa kao sistema, u cilju rasvetljavanja veze struktura-funkcionalnost, vršeno je frakcionisanje brašna na osnovne komponente (gluten i skrob) i ispitan je uticaj OSA skrobova na reološke, strukturne i termičke osobine pojedinačnih komponenti brašna. Pored toga, pripremljena su i rekonstituisana brašna iz nativnog glutenskog brašna i pšeničnog skroba, koja su služila kao model sistemi za ispitivanje uticaja OSA skrobova na viskoelastične osobine testa bez efekta "razblaživanja" glutena koji je neminovno prisutan kod realnih sistema.

Pored ispitivanja na model sistemima, vršeno je i praćenje uticaja OSA skrobova na ponašanje i kvalitet realnih sistema – testa od pšeničnog brašna i hleba. U cilju definisanja mehanizma delovanja OSA skrobova na strukturna i reološka svojstva testa, primenjene su tehnike kao što su reološki testovi malih deformacija (dinamički oscilatorni testovi) u kombinaciji sa skenirajućom elektronskom mikroskopijom. Reološko ponašanje testa modelovano je poznatim matematičkim modelima. Kvalitet hleba praćen je određivanjem specifične zapremine hleba, boje kore i sredine, vlage sredine, teksture i strukture sredine (veličine i gustine pora) sa posebnim akcentom na poboljšanju teksturnih i strukturnih svojstava sredine hleba u cilju dobijanja efekta produžene svežine.

Poglavlje 3

Pregled literature

3.1. Osobine nativnog skroba

Skrob je, pored celuloze, najrasprostranjeniji ugljeni hidrat u prirodi. Kao rezervni polisaharid viših biljaka, ima bitnu ulogu u ishrani čoveka jer predstavlja jedan od osnovnih nutrijenata i izvora energije (Zobel i Stephen, 2006). Skrob je takođe i jedan od najintenzivnije izučavanih prirodnih polimera sa stanovišta strukture i funkcionalnosti (Huijbrechts, 2008; Zobel i Stephen, 2006). Iako se u literaturi sreću pod zajedničkim nazivom skrob, osobine svakog skroba strogo su zavisne od njegovog botaničkog porekla (Zobel i Stephen, 2006). Skrob se u većim količinama može izolovati iz korenastih i krtolastih biljaka, plodova žitarica, leguminoza (Eerlingen i Delcour, 1995), ali se može naći i u tkivima voća i povrća (McCleary i sar., 2006). Uprkos velikoj rasprostranjenosti, broj komercijalno održivih izvora skroba je mali i uglavnom podrazumeva kukuruz (u Americi i Evropi), krompir (u severnoj Evropi), pšenicu (u Americi i Evropi), tapioku (u Brazilu, Tajlandu i Indoneziji) i pirinač (u Aziji) (Murphy, 2000).

Osim zbog svoje nutritivne vrednosti, skrob se u industriji koristi i kao pomoćna supstanca u proizvodnji hrane i drugih neprehrambenih materijala, zahvaljujući osobinama da je obnovljiva, biorazgradiva sirovina dobro definisane hemijske strukture (Huijbrechts, 2008). Naime, skrob je supstanca koju karakteriše veoma raznovrsna primena u prehrambenoj i drugim granama industrije. Međutim, nove tehnologije, u

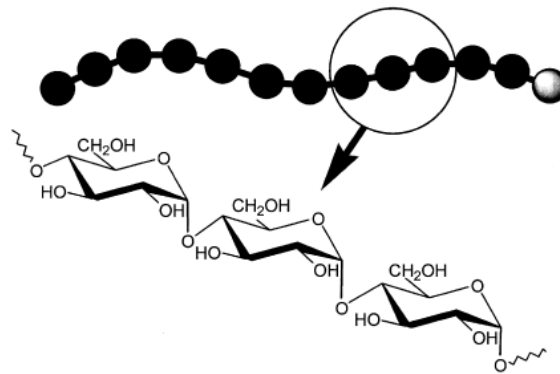
vidu modifikacija – fizičkih, hemijskih i biohemijskih, dovele su do pojave visoko funkcionalnih derivata skrobova, što je značajno uticalo na proširenje primene skroba u odnosu na prvobitnu (Murphy, 2000).

3.1.1. Struktura skrobne granule

Po svojoj strukturi skrob je heterogeni polimer koji se sastoji od jedinica α -D-glukoze povezanih α -(1,4)-vezama i u određenom iznosu α -(1,6)-vezama (Huijbrechts, 2008). Molekuli skroba deponovani su u obliku granula čija su morfologija, hemijski sastav i organizacija na molekularnom nivou karakteristika botaničkog porekla skroba (Blazek, 2008). Jedinstvenu funkcionalnost skrobu daju njegove osnovne komponente: *amiloza* i *amilopektin*, koje čine približno 98-99% suve materije skrobne granule (Blazek, 2008; Hódsági, 2011). Komponente prisutne u malim količinama u skrobnoj granuli čine: polimeri veličine i osobina između onih koje karakterišu amilozu i amilopektin, lipidi (uključujući fosfolipide), monoskrob fosfatne estarske grupe i proteini. Pojedine minorne komponente mogu značajno da utiču na osobine skrobnog gela. Tako na primer sadržaj od 0,09% fosfatnog monoestra utiče da krompirov skrob daje bistre paste velike vrednosti viskoziteta (Jane, 2009).

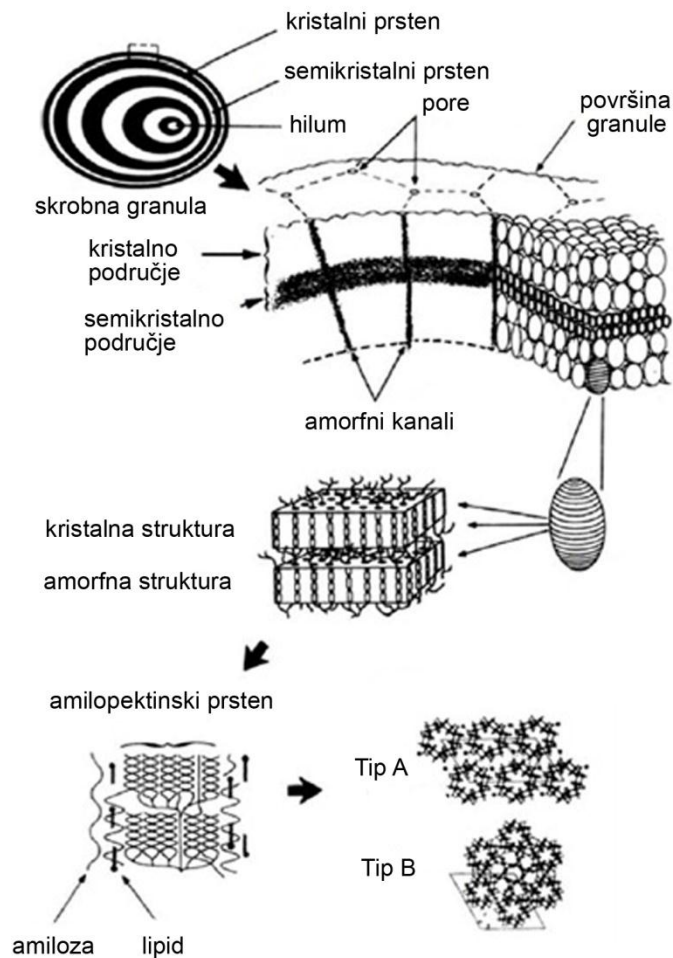
Odnos osnovnih komponenata skrobne granule (amiloze i amilopektina) zavisi od botaničkog porekla skroba. Nativni skrobovi sadrže oko 70-80% amilopektina i 20-30% amiloze (Jane, 2009; Tester i sar., 2004), dok skrobovi iz hibrida kukuruza imaju sadržaj amiloze < 1% (voskasti kukuruz) ili oko 84% (visokoamilozni kukuruz) (Matveev i sar., 2001).

Molekuli amiloze i amilopektina razlikuju se po strukturi i funkcionalnim osobinama. Amiloza (slika 1) je uslovno linearni α -glukan sa nekoliko bočnih grana pri čemu oko 99% veza čine α -(1,4)-veze dok samo do 1% veza čine α -(1,6)-veze (Blazek, 2008). Molekulska masa amiloze je $10^5 - 10^6$, stepen polimerizacije (SP) 100-10 000 monomera sa oko 9 - 20 mesta grananja što je ekvivalentno 3 - 11 bočnih lanaca po molekulu (Blazek, 2008). Lanci amiloze organizovani su u jednostruke ili dvostruke helikoidalne strukture (Sajilata i sar., 2006) sa hidrofobnim šupljinama koje mogu zauzeti molekuli lipida ili jod i tako obrazovati komplekse (Englyst i sar., 2000).



Slika 1. Struktura amiloze (preuzeto iz Knill i Kennedy, 1998)

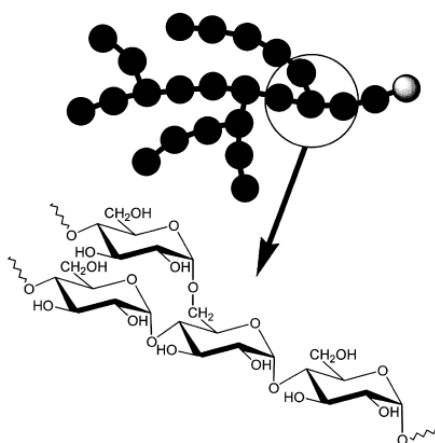
Primenom tehnike difrakcije X-zraka otkriveno je da molekuli amiloze mogu obrazovati A- i B-tip kristala (slika 2).



Slika 2. Struktura skrobne granule od najnižeg do najvišeg nivoa organizacije (preuzeto iz Pérez, 2009)

Strukturni elementi B-tipa su levo-orijentisani, paralelno postavljeni dvostruki heliksi. Kristalna jedinica je heksagonalna, a dvostruki heliksi su povezani preko mreže vodoničnih veza koje čine kanal unutar heksagonalno organizovanih šest dvostrukih heliksa. Taj kanal je ispunjen molekulima vode (36 molekula) od kojih je polovina vezana za molekul amiloze vodoničnim vezama, a druga polovina za ostale molekule vode. A-tip kristala takođe čine levo-orijentisani, paralelno postavljeni dvostruki heliksi, čija se struktura razlikuje od B-tipa po kristalnom pakovanju i sadržaju vode. Naime, jedinicu strukture čine 12 glukopiranoznih jedinica lociranih u dva levo-orijentisana paralelno postavljena dvostruka heliksa paralelno pakovana. Svakoj jedinici strukture odgovara 4 molekula vode locirana između heliksa (slika 2). Međutim, pored gore navedenog modela organizacije A- i B-tipa kristala postoje i predlozi strukture dati od strane drugih autora prema kojima su dvostruki heliksi A- i B- polimorfnih oblika desno-orijentisani (Veregin i sar., 1987), levo-orijentisani, ali anti-paralelni (Eisenhaber i Schultz, 1992) ili je predložena drugačija organizacija A-tipa polimorfa amiloze (Wu i Sarko, 1978).

Za razliku od amiloze, amilopektin (slika 3) je više razgranat molekul sa 4-5% α -(1,6) glikozidnih veza (Eerlingen i Delcour, 1995). Amilopektin je jedan od najvećih molekula u prirodi sa stepenom polimerizacije od 2 miliona i molekulskom masom od 10^7 - 10^9 (Huijbrechts, 2008). Struktura amilopektina uglavnom se predstavlja klaster modelom (slika 4).



Slika 3. Struktura amilopektina (preuzeto iz Knill i Kennedy, 1998)



Slika 4. Klaster model amilopektina (preuzeto iz Blazek, 2008)

Kratki A lanci (nesupstituisani) stepena polimerizacije 12-16 mogu da obrazuju helikse organizovane u klaster. Takvi klasteri čine 80-90% lanaca amilopektina i povezani su sa dužim B lancima (supstituisanim) koji čine ostalih 10-20% lanaca. Većina B lanaca produžava se u 2 (SP oko 40) ili 3 klastera (SP oko 70), ali pojedini i u više klastera (SP oko 110). B lanci povezuju se sa drugim B lancima ili se vezuju za C lanac koji ima redukujući kraj. U jednom molekulu prisutan je samo jedan C lanac (Sajilata i sar., 2006). Molekuli amiloze i amilopektina organizovani su u obliku semikristalne skrobne granule (slika 2). Posmatrano pod svetlosnim i elektronskim mikroskopom skrobna granula ima karakterističnu strukturu organizovanu u slojeve koji se u vidu koncentričnih prstenova prostiru od hiluma (centar rasta) do spoljne površine granule. Ti rastući prstenovi predstavljaju periodično postavljene molekule skroba i debljina im iznosi od 120 do 140 nm.

Amorfni prstenovi niske gustine sastoje se od amiloze i amilopektina neuređene konformacije, dok se semikristalni prstenovi veće gustine sastoje od lamelarne strukture naizmenično kristalnih i amorfnih regiona koji se ponavljaju na svakih 9 do 11 nm (Blazek, 2008). Kristalni region lamela se sastoje od dvostrukih heliksa amilopektinskih bočnih lanaca, dok se amorfni region sastoje od amiloze i mesta grananja amilopektina. Dakle, udeo kristalnih regiona u skrobnoj granuli kreće se od 15 do 50%. Pored toga, optimalna količina vode pri kojoj se primećuje maksimalna kristaličnost je oko 27%, dok je minimalna količina vode pri kojoj skrob daje difrakcioni profil 8% (Imberty i Perez, 1988). U skrobovima običnog i voskastog kukuruza molekuli amiloze ne doprinose značajno kristaličnosti, već je ona posledica prožimanja spoljašnjih lanaca amilopektina. Međutim, u visokoamiloznim skrobovima molekuli amiloze značajno doprinose kristalnoj strukturi (Blazek, 2008).

Prema klasifikaciji skrobova na osnovu difraktometrijskog spektra postoje sledeći tipovi kristalnih profila: A-tip koji je karakterističan za većinu skrobova iz žitarica, B-tip koji

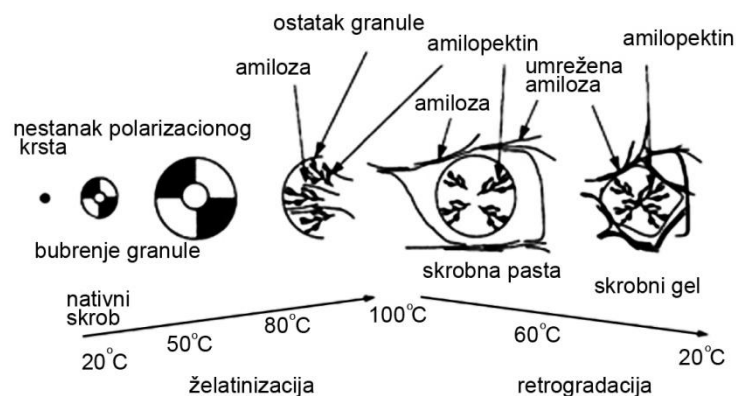
pokazuju neki skrobovi iz krtola (npr. krompirov skrob) i skrobovi žitarica sa većim sadržajem amiloze, C-tip prisutan kod skrobova leguminoza, skrobova iz korenja, stabljika i voća i V-tip prisutan u nabubrelih granulama, koji predstavlja komplekse jednostrukih heliksa amiloze sa jodom, dimetil-sulfoksidom, alkoholima, masnim kiselinama (Hódsági, 2011; Huijbrechts, 2008). Razlike u pakovanju dvostrukih heliksa A- i B- tipa opisane su kod molekula amiloze. Iako i amiloza i amilopektin mogu da formiraju kristalnu strukturu, kristalna struktura prisutna u nativnom skrobu je uglavnom posledica dvostrukih heliksa formiranih od bočnih lanaca amilopektina (Blazek, 2008). Relativno kratki bočni lanci amilopektina prisutnog u skrobu žitarica (dužina lanca 23-29 molekula glukoze) favorizuju formiranje kristalnih polimorfa A-tipa, dok duži bočni lanci skrobova krtolastih biljaka (dužina lanca 30-44 molekula glukoze) učestvuju u formiranju polimorfa B-tipa. C-tip strukture čine amilopektini dužine lanaca 26-29 molekula glukoze, tj. kombinacija A- i B-tipa (Hódsági, 2011).

3.1.2. Fenomeni želatinizacije i retrogradacije

Rastvorljivost i moć bubrenja skrobne granule su osobine koje oslikavaju jačinu interakcija između molekula skroba u amorfnim i kristalnim regionima. One zavise od različitih faktora kao što su sadržaj i odnos amiloze i amilopektina, njihove molekulske mase, stepena razgranatosti, konformacije bočnih grana molekula amilopektina, kao i prisustva drugih komponenti, kao što su lipidi i proteini (Gupta i sar., 2009; Mauro, 1996; Thomas i Atwell, 1999). Razlike u rastvorljivosti i moći bubrenja između skrobova različitog botaničkog porekla mogu biti uslovljene i razlikama u morfološkoj strukturi granule (Thomas i Atwell, 1999).

Prilikom zagrevanja suspenzije skroba u vodi dolazi do promena u strukturi skrobne granule (slika 5).

Povišena temperatura uz dodatni mehanički tretman dovode do bubrenja skrobnih granula i gubitka karakterističnog polarizacionog krsta. Granule mogu da nabubre i do veličine nekoliko puta veće od prvobitne, što je posledica gubitka kristalne uređenosti (topljenje kristalne strukture) i apsorpcije vode (Collado i Corke, 2003). Bubrenje skroba poreklom iz žitarica prvenstveno je posledica prisustva amilopektina, dok amiloza deluje kao reduktor ili inhibitor bubrenja (Tester i Morrison, 1990).



Slika 5. Šematski prikaz strukturalnih promena suspenzije skroba tokom termomehaničkog tretmana (preuzeto iz Bornet i sar., 1997)

U toku bubrenja polimeri niske molekulske mase, prvenstveno molekuli amiloze, počinju da prelaze iz granule u okolni medijum. Nakon dostizanja maksimuma bubrenja, dolazi do razrušavanja skrobne granule, daljeg dispergovanja polimera i linearne orijentacije polimera u polju delovanja smicajne sile.

Gore opisani fenomeni u literaturi se sreću pod nazivima želatinizacija i pastiranje. Iako se ova dva pojma često upotrebljavaju kao sinonimi prilikom opisivanja promena koje nastaju tokom zagrevanja skrobne suspenzije u vodi, prema Atwell i sar. (1988), pod želatinizacijom se podrazumeva prva faza promena (bubrenje, topljenje kristalnih područja, rastvaranje skroba), dok se pastiranje odnosi na sledeću fazu koja obuhvata nastavak bubrenja granula, izlazak makromolekula iz granule u okolni medijum i eventualno razrušavanje granule.

U toku hlađenja dolazi do ponovne asocijacije molekula amiloze i amilopektina. Molekuli amiloze, koji su u toku bubrenja i razrušavanja skrobne granule prešli u vodenu fazu, orijentišu se paralelno jedan u odnosu na drugi i povezuju vodoničnim vezama. Taj proces naziva se retrogradacija i podrazumeva ponovno uspostavljanje uređene, kristalne strukture (Thomas i Atwell, 1999). Ponovna asocijacija molekula skroba dovodi do obrazovanja jakih gelova koji predstavljaju dvofazni sistem u kojem kontinualnu fazu čine molekuli amiloze organizovani u trodimenzionalnu strukturu sa zarobljenom vodenom fazom, dok disperznu fazu čine ostaci nabubrelih granula koji se uglavnom sastoje od amilopektina (Collado i Corke, 2003). Prilikom čuvanja skrobnih gelova, posebno u uslovima niske temperature (frižider, zamrzivač) dolazi do daljeg povezivanja molekula vodoničnim vezama, "skupljanja" strukture i gubitka kapaciteta

zadržavanja vode. Otpuštanje vode tokom starenja naziva se *sinerezis*. Dok molekuli amiloze imaju glavnu ulogu u inicijalnoj fazi (nekoliko sati) obrazovanja strukture skrobnog gela, molekuli amilopektina odgovorni su za dugoročno (nekoliko dana ili nedelja) obrazovanje strukture (Miles i sar., 1985).

Promene u strukturi skrobne granule dovode do promena u viskozitetu suspenzije. Uređaj koji se koristi za praćenje promena viskoziteta naziva se viskoamilograf. Uz pomoć viskoamilografa viskozitet se određuje u funkciji vremena i temperature, merenjem torzije prouzrokovane promenama u strukturi skrobne suspenzije koja se rotira određenom brzinom u posudi snabdevenoj mešalicom u obliku viljuške koja sprečava sedimentaciju granula. Praćenje promena viskoziteta suspenzije uz pomoć viskoamilografa izuzetno je korisno prilikom određivanja ponašanja skroba pri različitim uslovima, kao i razlike u ponašanju skrobova različitog botaničkog porekla ili različitih modifikata skroba. Osim Brabenderovog viskoamilografa, koji predstavlja standardan metod (ICC 169, AACC 6101) u prehrambenoj industriji, postoje i druge vrste uređaja za praćenje promena u viskozitetu skrobne suspenzije kao što je *Rapid visco analyser* (RVA). Naime, u odnosu na tradicionalni viskoamilograf, RVA karakterišu sledeće prednosti: kraće vreme analize i manja količina uzorka. Međutim, i pored određenih nedostataka, kao što su nedovoljno definisana geometrija, vreme trajanja analize i dr., Brabenderov viskoamilograf i dalje se smatra industrijskim standardom za praćenje karakteristika skrobne paste (Thomas i Atwell, 1999; Collado i Corke, 2003). Pored navedenih uređaja, za praćenje želatinizacije, koristi se i diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC), koja beleži razlike u promeni entalpije između uzorka i referentnog materijala pri zagrevanju. Prema DSC metodu, fenomen želatinizacije smatra se analognim fenomenu topljenja kristalne strukture. Ovaj metod karakterišu male količine uzorka (nekoliko miligrama) i odsustvo gubitka vode iz sistema, pošto su posudice sa uzorkom hermetički zatvorene (Collado i Corke, 2003).

3.2. Modifikovani skrobovi

Upotreba nativnog skroba u proizvodima savremene prehrambene industrije ograničena je nedostacima u pogledu njegovih fizičkih i hemijskih osobina. Pre svega, skrobne granule su nerastvorljive u hladnoj vodi i da bi se dobila skrobna disperzija, uzorak je potrebno kuvati. Viskozitet skuvanog nativnog skroba često je previsok da bi

se takav skrob upotrebio u određenim proizvodima. Pored toga, reološke karakteristike nekih skrobnih disperzija, kao što su skrobovi iz krompira, tapioke ili voskastog kukuruza, utiču na krajnji proizvod, dajući mu gumastu, nerastresitu teksturu i tako narušavaju njihovu senzorsku prihvatljivost. Mnogi nativni skrobovi imaju izraženu tendenciju ka gubitku viskoziteta i moći ugušćivanja nakon kuvanja, posebno u prisustvu kiselina u prehrambenim proizvodima. Disperzije skrobova koji sadrže amilozu, kao što su kukuruzni i pšenični, pri hlađenju formiraju krut, opalescentan gel, tj. dolazi do retrogradacije. Pri skladištenju, usled starenja, struktura ovih gelova može da oslabi, pa tako dolazi do izdvajanja vode, tj. sinerezisa. Sa druge strane, disperzije skroba iz voskastog kukuruza, koji sadrži vrlo malu količinu amiloze, formiraju slabe gelove, pri čemu dolazi do linearne asocijacije segmenata amilopektina. Dužim skladištenjem na temperaturi blizu ili ispod njihove tačke mržnjenja, takvi gelovi pokazuju odsustvo transparentnosti i sinerezisa (Wurzburg, 2006).

Modifikovani skrobovi kreirani su tako da koriguju jedan ili više nedostataka, koji umanjuju prednosti i ograničavaju upotrebu nativnog skroba u prehrambenim proizvodima. Najčešće modifikovani skrobovi za komercijalnu upotrebu su skrobovi iz normalnog kukuruza, tapioke, krompira i voskastog kukuruza (Lineback, 1999). Funkcionalnost skroba može biti promenjena putem *fizičkih* ili *hemijskih* modifikacija. Metodi fizičke modifikacije obuhvataju dejstvo sledećih faktora na skrobnu granulu: temperatura/vlaga, pritisak, sile smicanja i UV-zračenje. Pod fizičkom modifikacijom podrazumeva se i podvrgavanje granule mehaničkom trenju u cilju promene njene veličine. Češći vid modifikacije skroba je hemijska modifikacija. Najčešće korišćeni postupci hemijske modifikacije su: kiselinsko tretiranje granule, umrežavanje, oksidacija i supstitucija, uključujući esterifikaciju i eterifikaciju (Cui, 2005). Modifikacijom skroba poboljšava se jedna ili više funkcionalnih osobina, od kojih su najvažnije:

- Snižavanje viskoziteta
- Povećanje stabilnosti disperzije
- Poboljšanje obrazovanja gela i njegove jačine
- Poboljšanje parametara želatinizacije (snižena temperatura, skraćeno vreme kuvanja, manji pad viskoziteta nakon dostizanja maksimuma)
- Poboljšano dispergovanje u hladnoj vodi
- Uvođenje novih osobina putem funkcionalnih grupa

Dakle, modifikovani skrobovi koriste se za poboljšanje: viskoziteta sistema, stabilnosti tokom skladištenja, integriteta čestica, procesnih parametara, teksture, izgleda i sposobnosti emulgovanja (Lineback, 1999).

Proizvodnja modifikovanih skrobova (korišćene hemikalije, količina ugrađena u skrob, dozvoljena količina zaostatka) regulisana je od strane američke organizacije FDA (*Food and Drug Administration*) i navedena u američkom Zakoniku o federalnim propisima (*Code of Federal Regulations - 21CFR 172.892*). Modifikovani prehrambeni skrobovi, pre puštanja u promet, moraju biti odobreni od strane FDA kao prehrambeni aditivi. U Evropi, njihova upotreba regulisana je Evropskom regulativom o prehrambenim aditivima (*European Parliament and Council Directive - No 95/2/EC*). Upravo zbog vremena i troškova potrebnih za dobijanje odobrenja, potrebno je mnogo godina pre nego što se razviju i proizvedu novi modifikati skroba (Wurzburg, 2006).

3.2.1. Hemijski modifikovani skrobovi

Najčešći tip modifikacije nativnog skroba je njegovo tretiranje sa malom količinom prethodno odobrenog hemijskog reagensa. Hemijska modifikacija može se izvesti na tri nivoa strukture skroba (Cui, 2005):

- U suspenziji, kada je skrob dispergovan u vodenoj fazi, hemijska reakcija odvija se u vodenoj sredini do postizanja željenih osobina. Suspenzija se dalje filtrira, ispira i suši na vazduhu
- U skrobnoj pasti, gde se vrši želatinizacija skroba u maloj količini vode, uz pomoć hemijskih reagenasa i uz mešanje, a po završetku reakcije dobijeni proizvod se suši na vazduhu
- U čvrstom stanju, gde se suve granule skroba vlaže uz pomoć razblaženih, vodenih rastvora hemikalija, suše na vazduhu, i konačno postaju reaktivni dejstvom visokih temperatura (npr. ≥ 100 °C).

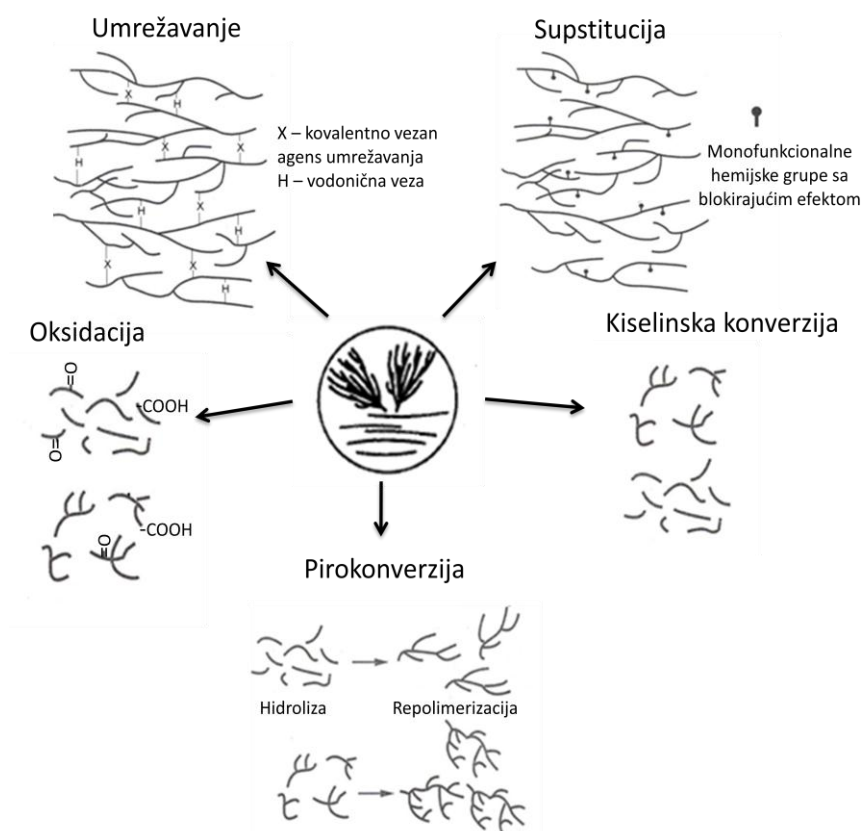
Vrste hemijski modifikovanih skrobova, njihove osobine i primena sumirani su u tabeli 1 (Cui, 2005; Murphy, 2000; Thomas i Atwell, 1999; Wurzburg, 2006).

Tabela 1. Pregled hemijski modifikovanih skrobova

Vrsta modifikacije	Kategorija	Osobine	Primena
Konverzija	Kiselinski konvertovani (retkokuvajući) skrobovi	Redukcija viskoziteta tople paste i formiranje jakih gelova pri hlađenju	Proizvodnja gumenih bombona, žele proizvoda
	Oksidisani skrobovi - izbeljeni (neznatna promena strukture) i oksidisani hipohloritom	Daju bistre paste niskog viskoziteta i dobre stabilnosti	Vezivna sredstva u prehrambenim proizvodima, poboljšavaju adheziju premaza
	Dekstrini (pirokonvertovani skrobovi) - beli dekstrini, žuti dekstrini i Britanske gume	Niski viskozitet, sposobnost formiranja filma, visoka rastvorljivost, dobra stabilnost tople paste	Vezivna sredstva za šećer u konditorskim prelivima i lekovima, glazure za pekarske proizvode. Visoko rastvorljive Britanske gume i žuti dekstrini koriste se kao nosači aktivnih prehrambenih komponentata kao što su arome, začini, boje. Žuti dekstrin poreklom iz kukuruza koristi se za inkapsulaciju hidrofobnih aroma i ulja
Umrežavanje	Diskrobadipat	Povećana stabilnost viskoziteta i rezistentnost na uslove procesuiranja: povišenu temperaturu, smicanje (mešanje) i nisku pH vrednost. Ovi skrobovi imaju i poboljšanu teksturu tople paste.	Kao ugušćivači i poboljšivači stabilnosti i teksture prehrambenih proizvoda: pri proizvodnji supa, soseva, dečije hrane, voćnih punjenja za pite, pudinga, hrane pržene u dubokoj masnoći.
	Diskrobfosfat		

Supstitucija (stabilizacija)	Acetilovani skrobovi (Skrobacetati)	Povećana prozirnost i stabilnost skrobne paste, redukcija pojave retrogradacije (starenja), bubrenje i želatinizacija na nižim temperaturama	U proizvodnji gumenih bombona
	Fosfati skroba (Monofosfati)	Više vrednosti viskoziteta, bolja prozirnost i stabilnost paste, kohezivna tekstura, rezistentnost na retrogradaciju, snižena temperatura želatinizacije, stabilnost u procesima zamrzavanja-odmrzavanja	Stabilizacija i ugušćivanje prehrambenih emulzija, u proizvodnji hleba. Hladno-bubrivi fosfati skroba koriste se za pripremu pudinga sa poboljšanom teksturom
	Sukcinati skroba i skrob-natrijum-oktenilsukcinat	Vidi poglavlje 3.2.1.1.	Vidi poglavlje 3.2.1.1.
	Hidroksi propilskrobovi	Niže temperature želatinizacije, povećana bistrina, stabilnost viskoziteta posebno u uslovima povišenog pH ili temperature, redukovana tendencija ka retrogradaciji i odlična stabilnost u uslovima zamrzavanja – odmrzavanja	Najčešće se koristi u obliku hidroksi propilidiskrobofosfata u umacima, sosevima, punjenjima za voćne pite i pudinzima

Šematski prikaz strukturnih promena prilikom hemijskih modifikacija skroba prikazan je na slici 6.



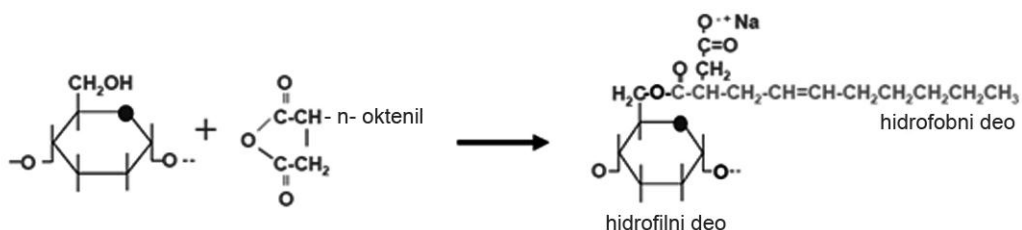
Slika 6. Hemijski modifikovani skrobovi

3.2.1.1. Sukcinati skroba i skrob-natrijum-oktenilsukcinat

Kod većine prehrambenih modifikata skroba, stepen supstitucije je prilično nizak da bi došlo do bilo kakve promene u hidrofilnom karakteru skroba. Međutim, kada se skrob supstituiše sa 1-oktenilsukcinat anhidridom ili sukcinat anhidridom ($C_{12}H_{18}O_3$) u inače hidrofilni polimer skroba, uvodi se hidrofobna jedinica u obliku oktenil grupe (slika 7) i kreira se nova grupa modifikovanih skrobova koja ima amfifilni karakter, a time i novu funkcionalnu osobinu - stabilizator emulzija (Wurzburg, 2006; Sweedman i sar., 2013). Skrobovi modifikovani sa oktenilsukcinat anhidridom nazivaju se OSA skrobovi.

Upotreba OSA skrobova u hrani, uslovi modifikacije i deklarisanja definisani su u američkom Zakoniku o federalnim propisima (*US Code of Federal Regulation*), kao i evropskom Regulativom o prehrambenim aditivima (*European Directive on food additives*). Prema E-sistemu numerisanja ovi skrobovi označavaju se kao E1450. Njihov

kvalitet definisan je u Zborniku Svetske zdravstvene organizacije (*Combined Compendium of Food Additive Specifications*, 1997) (Prilog 1) i Pravilnikom o kvalitetu i uslovima upotreba aditiva u namirnicama i drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (2003) (Prilog 2).



Slika 7. Reakcija skroba sa anhidridom oktenil-sukcinata

Reakcija dobijanja skrob-oktenilsukcinata patentirana je od strane Caldwell i Wurzburg (Caldwell, 1952; Caldwell i Wurzburg, 1953). Taj patent zaštićen je od strane kompanije *National Starch* (danas *Ingredion*) koja je na osnovu njega razvila ostale patente za proizvodnju ovih skrobova (Sweedman i sar., 2013). Danas se komercijalno proizvedeni OSA skrobovi mogu kupiti od velikog broja proizvođača i uglavnom predstavljaju modifikovane skrobove dobijene iz voskastog kukuruza kao što su N-Creamer™, Purity Gum™, CAPSUL™, Hi-CAP™ (*National Starch*); CLEARGUM® CO (*Roquette*), C*EmTex 06328 i C*EmCap (*Cargill*); C Mira-Cap™ (*Tate and Lyle*); ili običnog kukuruza kao DRYFLO™ (*National Starch*); i tapioke kao CLEARAM™ (*Roquette*), C*EmTex 75320 (*Cargill*).

Najčešće korišćeni način sinteze OSA skrobova je vođenjem reakcije u vodenoj sredini u blago alkalnim uslovima gde je skrob u obliku granule. U takvim uslovima, skrob-natrijum-oktenilsukcinat dobija se suspendovanjem 100 delova skroba u 150 delova vode koja sadrži 2 do 5 delova natrijum karbonata. Suspenziji se zatim uz snažno mešanje dodaje 0,1 do 0,3 delova anhidrida oktenil ćilibarne kiseline. Mešanje se nastavlja 12 h na sobnoj temperaturi, a pH se podešava na 7 uz pomoć razblaženog rastvora hlorovodonične kiseline. Na kraju se dobijeni skrob filtrira, ispira i suši (Cui, 2005). Blago alkalni uslovi dovode do redukcije obrazovanja vodoničnih veza između molekula skroba tako što utiču na formiranje alkoksi grupa sa -OH grupama, što podstiče bubrenje granule i difuziju OSA molekula unutar nabubrelih granula (Sweedman i sar., 2013). Ovakav način vođenja reakcije dovodi do neravnomerne

distribucije supstituisanih grupa između granula i pretežnog lociranja OS grupa na površini granule, što je potvrđeno FTIR mikrospektroskopijom, Ramanovom konfokalnom mikroskopijom i fotoelektronskom spektroskopijom X-zracima (Bai i sar., 2009; Wetzel i sar., 2010; Shrogen i sar., 2000; Huang i sar., 2010). Takođe, prema He i sar. (2006) sadržaj amiloze pozitivno utiče na efikasnost reakcije što ukazuje da se modifikacija sa OSA pretežno odigrava u amorfnim delovima granule.

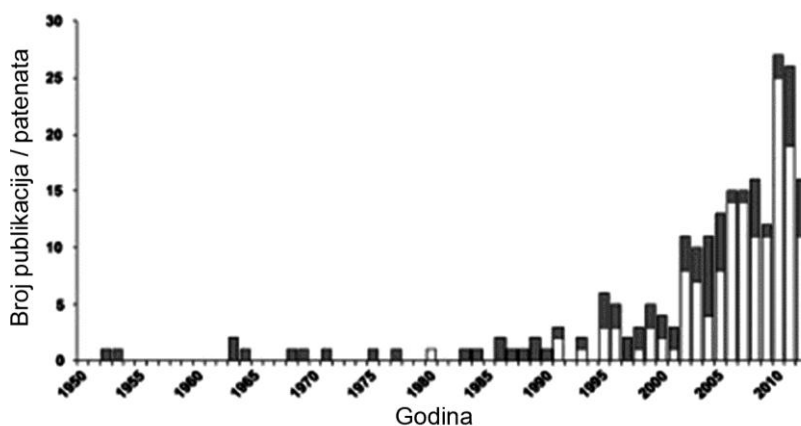
Pored osnovnog, gore opisanog načina sinteze, predloženo je i nekoliko modifikacija reakcije, kao što je enzimski predtretman kako bi se povećala mikro poroznost granule i olakšalo prodiranje reagensa u unutrašnjost granule (Huang i sar., 2010; Bai i sar., 2011). Pored toga, Viswanthan (1999), a zatim i Bhandari i Singhal (2002), predložili su sintezu OSA skroba u piridinu umesto u vodi, što je uticalo na povećanje reaktivnosti granule, ali i dobijanje OSA modifikata koji ne može da se upotrebi u prehrambene svrhe. Sa druge strane Biswas i sar. (2006) i Rivero i sar. (2009) vršili su modifikaciju uz pomoć mikrotalasa, što je značajno ubrzalo reakciju.

Za razliku od skrob-natrijum-oktenilsukcinata, skrob-aluminijum-oktenilsukcinat dobija se esterifikacijom suspenzije skroba sa 2% anhidridom oktenil ćilibarne kiseline kako bi se stvorio polu-estar – skrob-natrijum-oktenilsukcinat, a zatim se vrši reakcija karboksilatnog jona sa aluminijum sulfatom kako bi nastao skrob-aluminijum-oktenilsukcinat, koji se zatim filtrira, ispira i suši (Wurzburg, 2006).

Prema važećim regulativama, maksimalna količina anhidrida oktenilćilibarne kiseline, koja se može upotrebiti za dobijanje modifikovanih skroba, je 3%. Maksimalni stepen supstitucije je, dakle, 0,02, što odgovara jednoj oktenil monosukcinatnoj grupi na svakih 50 anhidrovanih glukoznih jedinica (Wurzburg, 2006).

Iako je metod OSA modifikacije predložen 50-tih godina prošlog veka, interes za istraživanjem OSA skrobova naglo je porastao u poslednjih nekoliko godina, što se može uočiti na histogramu datom na slici 8.

Kao i ostali supstituisani skrobovi, i skrob-oktenilsukcinat ometa linearizaciju amiloze i razgranatih delova amilopektina, i tako stabilizuje skrob, sprečavajući želiranje i pastiranje. Ovi skrobovi takođe imaju povišenu vrednost maksimuma (pika) viskoziteta i niže vrednosti temperature želatinizacije (Wurzburg, 2006). OSA modifikacija takođe poboljšava stabilnost skrobova pri procesima zamrzavanje-odmrzavanje, kako je dokazano u slučaju modifikacije skrobova iz pirinča, voskastog kukuruza i amarantusa (Sweedman i sar., 2013).



Slika 8. Broj publikacija (bele kockice) i patenata (crne kockice) sa OSA skrobovima (preuzeto iz Sweedman i sar., 2013)

Jedna od posebno značajnih osobina koje skrob dobija nakon OSA modifikacije je to da postaje sporo svarljiv ili čak rezistentan. Prema Han i BeMiller (2007) modifikacija sa OSA povećava nivo sporo svarljivih i rezistentnih skrobova u većem iznosu od modifikacija hidroksoipropilovanja, acetilovanja ili umrežavanja, što ima pozitivan uticaj na ishranu (Wolf i sar., 1999). Han i BeMiller (2007) su takođe zaključili da toplotni tretman OSA skroba iz voskastog kukuruza snižava nivo rezistentnog skroba i povećava nivo sporo svarljivog skroba, što je od većeg nutritivnog značaja.

Zahvaljujući osobini da je amfifilan, OSA skrob ima široku primenu u prehrambenoj industriji, posebno pri emulgovanju, inkapsulaciji, proizvodnji filmova, premaza i gelova. Koristi se kao zamenjivač za akacija gumu, mast, proteine (Sweedman i sar., 2013). Niskoviskozni derivati skrob-oktenilsukcinata rastvorljivi u hladnoj vodi koriste se kao emulgatori i stabilizatori aroma i ulja koja služe za dobijanje mutnih bezalkoholnih napitaka, pri čemu zamenjuju do tada korišćenu akacija gumu. Visokoviskozne modifikacije koriste se kao stabilizatori koncentrovanih emulzija tipa majoneza (Wurzburg, 2006).

Primeri primene OSA skrobova u prehrambenim proizvodima dati su u tabeli 2.

Tabela 2. Primeri primene OSA modifikovanih skrobova u proizvodima prehrambene industrije (preuzeto iz Sweedman i sar., 2013)

Polje primene	Primena OSA skroba	Literaturni izvor
Pekarski proizvodi	Poboljšivač viskoziteta u pekarskim proizvodima	(Kao i Leow, 2005)
	Zamena za gluten	(Paulus i sar., 2005)
Pivo	Modifikator teksture pene	(Marotta i sar., 1971)
Mlečni proizvodi	Modifikator teksture u siru i mlečnim proizvodima	(Barey i Bouron, 2011)
	Aditiv u mlečnim proizvodima	(Klemaszewski, 2009)
	Zamena za kazein	(Zwiercan i sar., 1986)
Sastojci prehrambenih proizvoda	Zamena za mleko u prahu za kafu	(Barndt i sar., 1984)
	Zamena za mast	(Chiu i Mason, 1998) (Whistler, 1995)
	Stabilizator bez ukusa i mirisa	(Shah i Tan, 2004)
	Poboljšivač stabilnosti proizvoda na procese zamrzavanje/odmrzavanje	(Ganz i Harris, 1968)
	Inkapsulator ulja	(Dihora i Chapman, 1999) (Marotta i sar., 1969)
	U penastim proizvodima koji se lupaju a ne sadrže proteine	(Piatko i Perks, 2008)
	Stabilizacija emulzija sa resveratrolom kao antioksidansom	(Diguet i sar., 2012)
	Kod termički inhibiranih skrobova	(Thomas i sar., 2001)
	Nutraceutici	Kontrolisano otpuštanje probiotika
Dodaci ishrani		(Euber, 2000)
Inkapsulacija bioaktivnih komponenti		(Gregson i Sillick, 2012a)
Hipoalergijski dodaci ishrani		(Mahmoud, 1987)
Zaštitna inkapsulacija		(Gregson i Sillick, 2012b)
Rezistentni skrob		(Brown i sar., 2006) (Shi i Trzasko, 1997) (Huber i Yu, 2011)
Kobasice	Creva za kobasice	(Joly i sar., 2004)

Međutim, primena OSA skrobova nije ograničena samo na prehrambenu industriju već se oni koriste i u kozmetičke i farmaceutske (za kontrolisano otpuštanje bioaktivnih komponenti) svrhe, kao i u proizvodnji ambalažnih materijala (Sweedman i sar., 2013).

3.2.2. Fizički modifikovani skrobovi

Fizička modifikacija skroba se primenjuje kako bi se promenila struktura granule skroba prevodeći nativni skrob u skrob rastvorljiv u hladnoj vodi ili u skrobove malih granula kristalne strukture. Skrob rastvorljiv u hladnoj vodi se priprema u procesu preželatizacije skrobne suspenzije nakon koga sledi proces sušenja u bubnju ili spreju. Usled procesa preželatizacije integritet granule skroba se gubi, a viskozitet skrobne paste se redukuje. Tako modifikovan skrob je rastvorljiv u hladnoj vodi. Skrobovi malih granula (prečnika $< 5 \mu\text{m}$) se mogu koristiti kao pogodne zamene za mast.

Procesi tretiranja toplota-vlaga kao i tzv. "annealing" proces prouzrokuju naglu migraciju ili reorganizovanje molekula amiloze u skrobnim granulama kako bi se formirale intermolekularne veze između molekula amiloze i/ili između molekula amiloze i molekula amilopektina.

Fizička modifikacija skroba putem ekstrudiranja je proces kod koga se koristi otopljena faza visoke koncentracije čvrstih delova kako bi se promenile osobine skroba zadržavajući pri tome njegovu makromolekularnu strukturu (Thomas i Atwell, 1999; Cui, 2005).

3.3. Reološke osobine testa sa dodatkom modifikovanih skrobova

Reologija, kao grana fizike, je nauka koja proučava proticanje i deformaciju materije kao odgovor 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.

3.3.1. Strukturna svojstva odgovorna za specifično reološko ponašanje testa

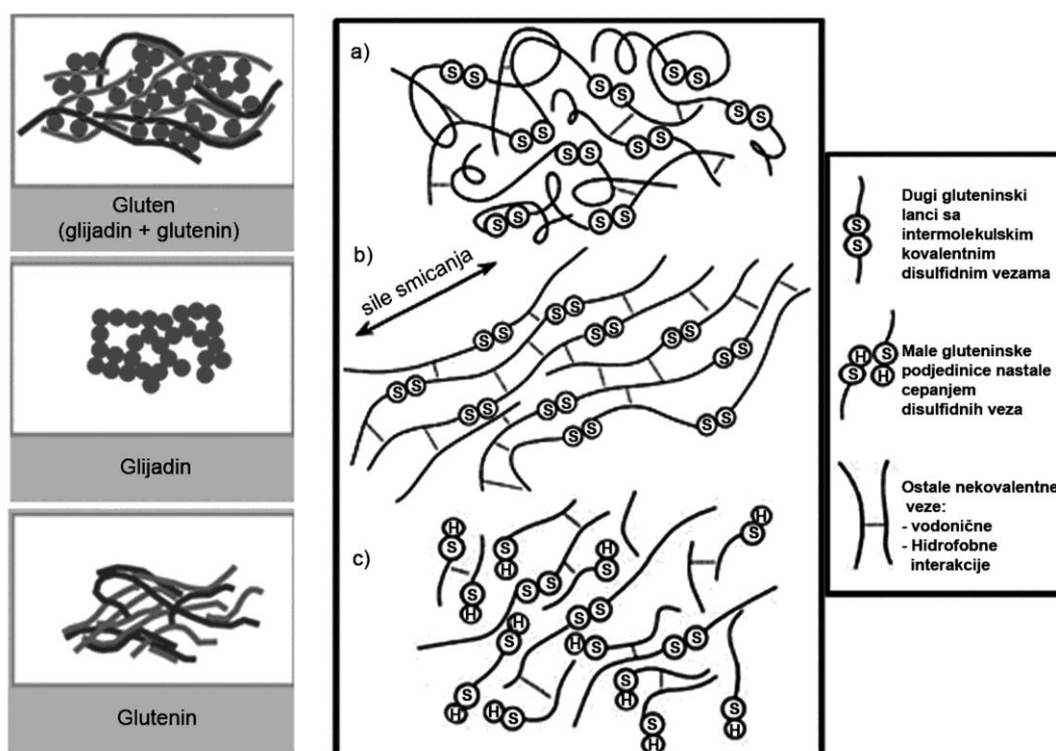
Struktura testa nastaje u procesu mešenja brašna i vode. Hemijski sastav pšeničnog brašna čine skrob (75-80%), proteini (6-18%) i ostale manje zastupljene komponente kao što su voda, lipidi, prosti šećeri, neskrobni polisaharidi ili vlakna (arabinoksilani, β -glukani i glikoproteini), mineralne materije. Kod pšenice, kao i kod ječma i raži, razlikuju se dva tipa skrobnih granula: veće A i manje B granule (Peng i sar., 2000). U pšenici A skrobne granule su veće od 10 μm u prečniku i imaju oblik sočiva, dok je prečnik B granula manji od 10 μm i približno sferanog oblika (Peng i sar., 2000).

Prema tradicionalnoj Osborn klasifikaciji, pšenični proteini se prema rastvorljivosti dele u četiri grupe: *albumini* i *globulini*, rastvorljivi u vodi i rastvorima soli; *glijadini*, rastvorljivi u 70-90% etanolu, ali ne i u vodi i *glutenini*, rastvorljivi u rastvorima kiselina i baza, ali nerastvorljivi u neutralnim alkoholnim rastvorima i rastvorima soli (Horvat i sar., 2006). Albumini i globulini (15-20% od ukupne količine proteina) (Veraverbeke i Delcour, 2002), prema biološkim i funkcionalnim svojstvima, pripadaju grupi rezervnih proteina endosperma zrna, iako i većina metabolički aktivnih proteina aleuronskog sloja i klice (enzimi i inhibitori enzima) takođe pripada toj grupi (Gianibelli i sar., 2002).

Glijadini i glutenini (80-85% od ukupne količine proteina) (Veraverbeke i Delcour, 2002) glavne su komponente glutena. Prema primarnoj strukturi, glijadini se dele na ω 5-, ω 1,2-, α - i γ -podgrupe, a glutenini na visokomolekularne (HMW) i niskomolekularne (LMW) podjedinice (Horvat i sar., 2006).

Tokom mešenja brašna sa vodom dolazi do hidratacije proteina brašna i formiranja glutenskog kompleksa - viskoelastičnog proteina odgovornog za formiranje strukture testa (Dobraszczyk, 2003). Na početku mešenja glutenini, koji su dugački polimeri, isprepletani su međusobno i nasumično orijentisani. Kako se mešenje nastavlja, lanci glutenina teže da se orijentišu u pravcu sila smicanja i istezanja. U toj fazi, mreža glutena je razvijena i umrežena intermolekulskim kovalentnim disulfidnim vezama. Pri optimalnom razvoju testa interakcije između umreženih polimera su jake i takvo testo ispoljava maksimalni otpor na deformaciju. Kada se testo mesi duže, više od njegovog optimuma razvoja dolazi do raskidanja disulfidnih veza i glutenini postaju depolimerizovani. Prisustvo kraćih lanaca u testu čini testo lepljivijim. Sa druge strane monomerni protein glijadin obrazuje matriks unutar polimerne mreže glutenina (Abang Zaidel i sar., 2010). Dok gluteninska frakcija doprinosi jačini i elastičnosti testa (Weipert,

2006), glijadinska frakcija predstavlja punilac između gluteninskih polimera i ima ulogu plastifikatora, tj. doprinosi viskoznom ponašanju i rastegljivosti glutena (Kuktaite, 2004). Šematski prikaz glutenina i glijadina i ponašanje u toku operacije mešenja dati su na slici 9.



Slika 9. Šematski prikaz strukture glutena i njegovih frakcija, glijadina i glutenina (preuzeto iz Weipert, 2006) i molekulska interpretacija razvoja glutena (a) početak mešenja, (b) optimalni razvoj, (c) prekomerno mešenje (preuzeto iz Letang i sar., 1999)

Skrobne granule uklopljene su u makromolekulsku strukturu hidratisanog glutena i formiraju agregate. Ove dve nezavisne strukture i njihova interakcija odgovorni su za reološko ponašanje testa (Song i Zheng, 2007).

Kao što se može zaključiti viskozitet i konzistencija testa, tj. njegove reološke osobine, zavise od količine vode, ali i od intenziteta mešenja. Pored toga, reološke osobine zavise i od sadržaja proteina, kao i odnosa glijadina i glutenina (Weipert, 2006).

U proizvodnji hleba, nakon operacije mešenja sledi operacija fermentacije. Porast zapremine testa u toku fermentacije kao i zapremina krajnjeg proizvoda rezultat su procesa proizvodnje i zadržavanja gasa u toku fermentacije. Produkcija gasa u toku fermentacije može se kontrolisati količinom kvasca i fermentabilnih šećera,

temperaturom i vremenom fermentacije, dok zadržavanje gasa zavisi od konzistencije i viskoziteta testa. Pod optimalnom konzistencijom podrazumeva se ona koja je dovoljno jaka da testo bude obradivo (ne slabi tokom mešenja) i zadrži oblik, a da sa druge strane bude dovoljno rastegljivo i dozvoli ugljen dioksidu formiranom tokom fermentacije da raširi strukturu i izazove narastanje (Weipert, 2006).

Distribucija gasnih mehurova i dalja promena strukture glutenskog kompleksa vrši se i u toku operacije oblikovanja testa (Dobraszczyk i Morgenstern, 2003). Tokom pečenja hleba dolazi do koagulacije glutena i otpuštanja vode koja u toku i nakon pečenja (u sredini hleba) biva preuzeta od strane želatiniziranih skrobnih granula što dovodi do promena u viskozitetu i konzistenciji testa (Weipert, 2006). Procesi želatinizacije, pastiranja i retrogradacije skroba detaljno su opisani u poglavlju 3.1.2.

3.3.2. Reološke osobine testa

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). Stoga je među tehnolozima reologija prepoznata kao korisna tehnika u kontroli kvaliteta brašna. Reološka merenja 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).

Empirijski reološki metodi uvršteni su kao standardni metodi od strane Međunarodnog udruženja za nauku i tehnologiju žita (ICC), Američkog udruženja hemičara žita (AACC), Međunarodne organizacije za standardizaciju (ISO), kao i u različite druge nacionalne standarde i propise, pa tako i u Pravilnik o metodama fizičkih i hemijskih analiza za kontrolu kvaliteta žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo smrznutih testa (1988). Razvijeni su empirijski reološki uređaji za praćenje reološkog ponašanja testa u toku mešenja, oblikovanja, fermentacije i pečenja. Tako na primer, farinograf (Brabender, Nemačka) i miksograf (Brabender, Nemačka) pružaju informacije o moći upijanja vode i ponašanju testa u toku mešenja, dok se reološko ponašanje u toku oblikovanja određuje uz pomoć ekstenzografa (Brabender, Nemačka), alveografa

(Chopin Technologies, Francuska) i u skorije vreme i dodatka za analizator teksture po Kieffer-u (Stable Micro Systems Ltd, Velika Britanija), koji prate ponašanje testa u toku rastezanja (jačinu testa, tj. otpor rastezanju i rastegljivost). Ponašanje testa u toku fermentacije (razvoj i zadržavanje gasa) mogu se pratiti uz pomoć reofermentometra (Chopin Technologies, Francuska) i maturografa (Brabender, Nemačka). Za praćenje želatinizacije skroba i u svrhu indirektnog određivanja aktivnosti α -amilaze, koriste se tehnike kao što su amilograf (Brabender, Nemačka) i broj padanja po Hagberg-u (Perten Instruments, Švedska). Principi, postupak i opis parametara dobijenih pri izvođenju ovih testova su dati u standardnim metodima, kao i od strane Dapčević Hadnađev i sar. (2011).

Većina gore navedenih instrumenata zadržala je isti izgled i princip od 1930-tih, kada su prvi put razvijeni (Janssen i sar., 1996; Weipert, 2006). Jedan od najnovijih empirijskih reoloških uređaja, miksolab (Chopin Technologies, Francuska), pokazuje određene prednosti u odnosu na ostale uređaje. Uz pomoć miksolaba moguće je pratiti ponašanje testa i u toku mešenja i zagrevanja, tj. omogućeno je određivanje doprinosa obe frakcije (proteina i skroba) ne reološke osobine testa. Stoga, miksolab metod simulira proces pečenja hleba, od trenutka zamesa do kraja pečenja.

Iako nezamenljivi u laboratorijama za kontrolu kvaliteta i industriji, uređaji za empirijska reološka merenja imaju dosta nedostataka, kao što su: interpretacija rezultata u relativnim jedinicama koje nisu u SI sistemu što utiče na nemogućnost definisanja fundamentalnih reoloških parametara kao što su napon, deformacija, moduo, viskozitet; primena velikih sila deformacije i nefleksibilnost u definisanju njenog nivoa; potreba za velikim količinama uzorka (Dobraszczyk i Morgenstern, 2003; Janssen i sar., 1996; Weipert, 1990).

Princip rada uređaja fundamentalne reologije (praćenje odgovora materijala na primenjenu silu) sličan je principu funkcionisanja uređaja za empirijsku reologiju sa razlikom što su pojedini nedostaci otklonjeni. Pre svega, intenzitet sile moguće je prilagoditi i tako opisati osobine materijala pod različitim nivoima opterećenja ili napona. Naime, prema Bloksma (1990) brzine smicanja različitih uređaja i operacija u procesu proizvodnje hleba su: $10-100 \text{ s}^{-1}$ (mikseri), 10 s^{-1} (farinograf i miksograf), $0,1-1 \text{ s}^{-1}$ (ekstenzograf i alveograf), $10^{-4}-10^{-3} \text{ s}^{-1}$ (narastanje u toku fermentacije), 10^{-3} s^{-1} (porast tokom pečenja u pećnici). Osim pomenutog, dobijene vrednosti viskoziteta, kao i zadate vrednosti sile deformacije ili naprezanja izražavaju se u apsolutnim fizičkim jedinicama,

što omogućava poređenje rezultata dobijenih upotrebom reometara različitih proizvođača. Još jedna prednost fundamentalne reologije je primena male količine uzorka (oko 10 g testa), što je korisno pri ispitivanju sorti dobijenih oplemenjivanjem kod kojih je količina uzorka ograničena (Weipert, 2006).

Princip rada reometra za određivanje reoloških svojstava testa zasniva se na primeni određene brzine smicanja, napona smicanja ili deformacije i praćenju ponašanja materijala koji se nalazi između dve paralelne ploče, konusa i ploče, cirkularnom zazoru između dva koaksijalna cilindra i drugo. Današnji reometri konstruisani su tako da mogu da rade na više različitih načina (CR - "*control rate*", CS - "*control stress*", CD - "*control deformation*"), tj. kontrolišu vrednost primenjene brzine smicanja, napona smicanja i deformacije. Stoga je na jednom uređaju moguće izvođenje većeg broja testova: krive proticanja, dinamičkih oscilatornih merenja, krive puzanja i relaksacije napona.

Na osnovu krive proticanja može se zaključiti da testo od pšeničnog brašna karakteriše postojanje prinosnog napona i da viskozitet sistema opada sa povećanjem iznosa deformacije, tj. da testo pokazuje pseudoplastično ponašanje što je prouzrokovano orijentacijom molekula i agregata u pravcu proticanja. To znači da će testo ispoljiti višu vrednost viskoziteta u toku izlaganja niskim silama deformacije, kao što je rastezanje prouzrokovano procesom fermentacije, nego tokom mešenja ili testiranja u farinografu i ekstenzografu (Weipert, 2006). Prethodna konstatacija ukazuje na prednost fundamentalne reologije u odnosu na empirijsku u pogledu mogućnosti varijacije sile deformacije. Drugim rečima, sa uređajima visokih deformacija moguće je odrediti samo mehaničke osobine testa, ali ne i reološke (Weipert, 2006).

Međutim, najčešće primenjivani fundamentalni reološki testovi za ispitivanje ponašanja testa i glutena su testovi malih deformacija, u koje spadaju 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).

Dinamički oscilatorni testovi često se koriste za definisanje viskoelastičnih materijala. Princip ovih testova zasniva se na primeni sinusoidalnog oscilatornog napona ili deformacije u vremenu. Ako se podvrgava sinusoidalnoj deformaciji ($\gamma = \gamma_0 \sin \omega t$), viskoelastični materijal odgovara sinusoidalnim naponom ($\tau = \tau_0 \sin \omega t$), koji zavisi od osobina materijala (Abang Zaidel i sar., 2010). Elastična komponenta naziva se elastični modul ili modul čuvanja (G'), dok se viskozna komponenta naziva viskozni modul ili

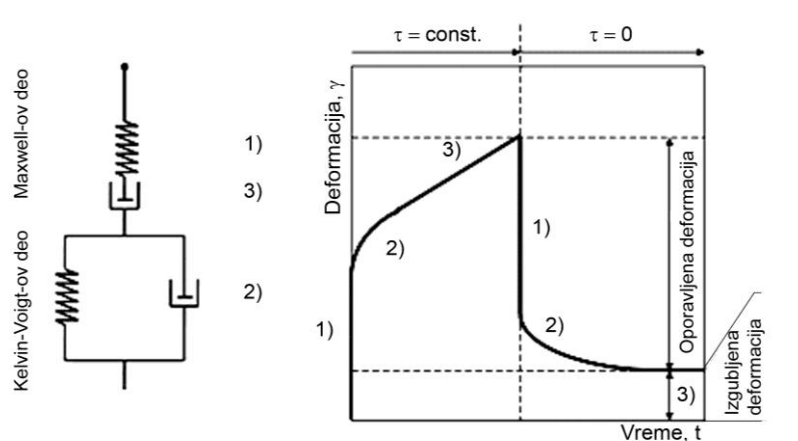
modul gubitaka (G''). Odnos viskoznog i elastičnog modula naziva se tangens faznog ugla ($\tan \delta$).

Kod svih testa G' je veći od G'' (Edwards i sar., 2003; Dobraszczyk i Morgenstern, 2003; Weipert, 1990). Testa sa većom vrednošću G' smatraju se jačim testima. Takođe, materijale sa većim stepenom umreženosti karakteriše manja vrednost $\tan \delta$. Amemiya i Menjivar (1992) su zaključili da se glutenska mreža na testiranim frekvencijama ponaša kao umreženi polimer. Uthayakumaran i sar. (2002) su otkrili da su elastični i viskozni moduli testa viši od modula čistog glutena, što ukazuje na to da sadržaj skroba u brašnu doprinosi viskoelastičnosti testa.

Princip testa puzanja i oporavka zasniva se na primeni inicijalne konstantne vrednosti napona u fazi puzanja i praćenju porasta deformacije u sistemu u funkciji vremena, a zatim nakon određenog vremena (u fazi oporavka), sistem se oslobađa napona, što prouzrokuje opadanje deformacije do određene vrednosti koja zavisi od osobina materijala (Rao i Skinner, 1986). Testovi puzanja i oporavka su veoma korisni u proučavanju osobina materijala u uslovima malih sila smicanja, dugačkih vremena testiranja ili drugih realnih uslova u kojima se sistem ispituje. Pošto testovi puzanja i oporavka mogu biti ponovljeni nekoliko puta uzastopno, uz variranje temperature nezavisno od napona, moguće je prilično precizno imitirati realne uslove.

Puzavost viskoelastičnog materijala, kao što je testo, uglavnom se opisuje upotrebom Burgers-ovog modela, koji se sastoji od četiri elementa, dve opruge i dva klipova povezana tako da model čine Maxwell-ova (opruga i klip povezani u seriji) i Kelvin-ova (opruga i klip povezani paralelno) komponenta. Šematski prikaz Burgers-ovog modela i kriva puzanja i oporavka prikazani su na slici 10.

Wang i Sun (2002) su utvrdili da maksimalna vrednost na krivi puzanja i oporavka ukazuje na čvrstoću testa, tj. da jača testa sa većom otpornošću na deformaciju imaju manju vrednost maksimuma puzanja od mekših testa.



Slika 10. Šematski prikaz Burgers-ovog modela i kriva puzanja i oporavka

3.3.3. Pregled postupaka pripreme testa za fundamentalna reološka merenja

Pregledom literature može se ustanoviti da postoje različiti pristupi u pripremi testa za fundamentalna reološka ispitivanja. Skendi i sar. (2009) koristili su princip konstantne konzistencije, tj. pripremali su testo u farinografskoj mesilici koristeći količinu vode potrebnu za postizanje maksimuma konzistencije. Vreme mešenja odgovaralo je vremenu razvoja testa. Sa druge strane, Van Bockstaele i sar. (2011) mesili su testo korišćenjem količine vode koja odgovara 95% farinografske moći upijanja vode, ali se mešenje odigravalo u alveografskoj mesilici i vreme mešenja je bilo konstantno. Edwards i sar. (1999) koristili su princip koji se sastojao od dodavanja iste količine vode (50%) u mesilicu miksografa, ali je vreme mešenja odgovaralo vremenu razvoja testa plus 1 min.

Uopšteno, povećanje količine vode u testu dovodi do smanjenja elastičnog modula kod pšeničnog testa (Autio i sar., 2001) i testa dobijenog iz durum brašna (Edwards i sar., 1999), kao i do povećanja maksimuma puzanja (Edwards i sar., 1999) što se tumači efektom promene koncentracije konstituenata sistema.

Prema Balestra (2009) uticaj vode na dinamičke viskoelastične osobine testa može se interpretirati na dva različita načina. Naime, količina vode iznad određene granične vrednosti ne utiče na strukturu testa, već deluje kao inertni punilac. Stoga, variranje sadržaja vode u testu proporcionalno menja njegove dinamičke osobine, a i voda može da deluje kao lubrikant koji poboljšava fenomen relaksacije testa. Prema drugoj teoriji, molekuli vode ponašaju se kao plastifikatori koji snižavaju temperaturu želatinizacije testa. U tom slučaju porast sadržaja vode u testu menja njegov dinamički odgovor, s

obzirom da se dinamika relaksacije ubrzava na način sličan onom koji se sreće kod amorfnih sintetskih polimera pri porastu temperature (Masi i sar., 1998).

Sa druge strane, treba imati u vidu da moć upijanja vode predstavlja jednu od osnovnih karakteristika glutena. Upotreba optimalne količine vode omogućava formiranje razvijenije glutenske strukture usled povećane mobilnosti molekula glutena (Dhanasekharan i sar., 2001). Prema Uthayakumaran i sar. (2002) hidratacija glutena značajno utiče na njegovo ponašanje u reološkim testovima malih deformacija i posledica je koncentracionih efekata, a ne uloge vode kao plastifikatora. Stoga da bi se odredio uticaj nekog dodatka na kvalitet glutena bez limitirajućeg uticaja vode potrebno je vršiti ispitivanja upotrebom optimalne koncentracije vode, koja odgovara moći upijanja vode sistema (Rosell i Foegeding, 2007). Takođe, pri izvođenju testova probnog pečenja prema metodima ICC i AACC zames testa vrši se upotrebom optimalne količine vode prethodno određene na farinografu ili sličnom instrumentu.

3.3.4. Uticaj modifikovanih skrobova na reološke osobine testa

Dodatkom različitih vrsta aditiva moguće je modifikovati reološke osobine testa, a time i kvalitet krajnjeg proizvoda. Uticaj dodatka pojedinih modifikovanih skrobova na reološke osobine testa dat je u tabeli 3.

Tabela 3. Pregled uticaja hemijski modifikovanih skrobova na reološke osobine testa

Vrsta modifikovanog skroba	Vrsta uzorka	Uticaj	Literatura
Hidroksipropilskrob iz tapioke + glutensko brašno	Pšenično brašno	Skraćuje vreme razvoja testa na farinografu Povećava iznos razrušavanja tokom želatinizacije	Miyazaki i sar. (2005a, 2008)
Fosfatiran umrežen skrob iz tapioke + glutensko brašno	Pšenično brašno	Skraćuje vreme razvoja testa i smanjuje moć upijanja vode Snižava vrednost maksimalnog viskoziteta i iznos razrušavanja tokom želatinizacije	Miyazaki i sar. (2005a, 2008)
Acetilovan skrob iz tapioke + glutensko brašno	Pšenično brašno	Smanjuje moć upijanja vode Povećava iznos razrušavanja tokom želatinizacije	Miyazaki i sar. (2005a, 2008)

Umreženi skrob iz krompira+glutensko brašno	Pšenično brašno	Daje jače testo (prema ekstenzografskim parametrima i testu kompresije), povećanog stabiliteta (farinografskog) Povećava vrednost maksimalnog viskoziteta	Hung i Morita (2004)
Hidroksipropilskrob iz pšenice	Model sistem testa (gluten/skrob = 16/84)	Ne utiče značajno na entalpiju želatinizacije testa	Goesaert i sar. (2008)
Umreženi skrob iz pšenice	Model sistem testa (gluten/skrob = 16/84)	Ne utiče značajno na entalpiju želatinizacije testa	Goesaert i sar. (2008)
Acetilovan diskrobadipat	Bezglutenska mešavina	Ne utiče značajno na jačinu testa Ne utiče na parametre želatinizacije	Witczak i sar. (2012)
Hidroksipropildiskrobfosfat	Bezglutenska mešavina	Povećava jačinu testa Ne utiče na parametre želatinizacije	Witczak i sar. (2012)
Dekstrini (DE = 3-40)	Pšenično brašno	Smanjuju moć upijanja vode - što je manja DE vrednost, niža je moć upijanja vode. Dekstrini sa DE 3-11 povećavaju stabilitet testa, dok sa DE 25-40 smanjuju stabilitet. U koncentraciji od 2,5% porast DE vrednosti dekstrina dovodi do opadanja modula elastičnosti i koeficijenta viskoziteta, dok koncentracija od 7,5% prouzrokuje suprotan efekat.	Miyazaki i sar. (2004)

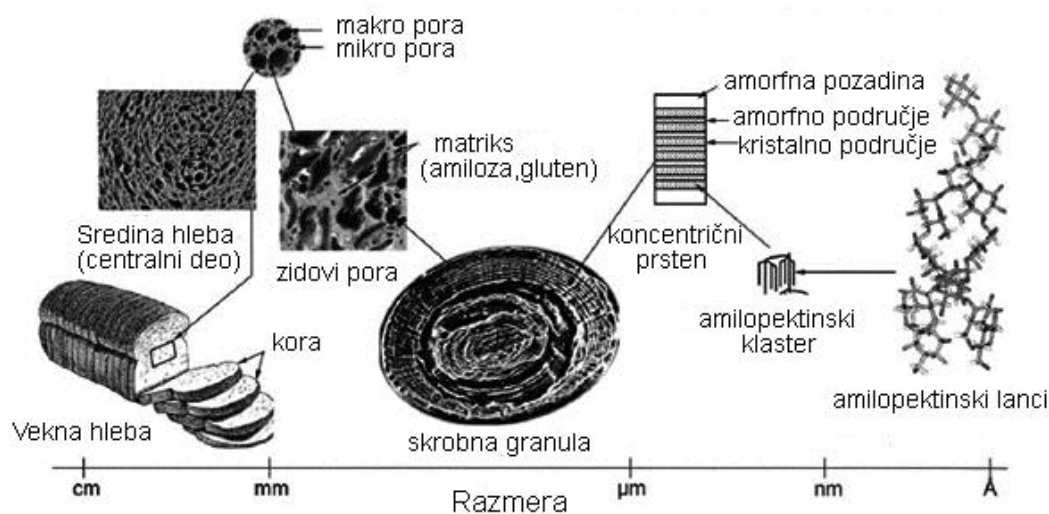
3.4. Kvalitet i starenje hleba sa dodatkom modifikovanih skrobova

Zapremina hleba i karakteristike sredine hleba (elastičnost sredine, finoća i ujednačenost pora) dva su osnovna parametra kvaliteta hleba. Oba su uslovljena kvalitetom i izborom sirovina (brašno, kvasac, ostali dodaci, aditivi, itd.) i načinom vođenja procesa, tj. parametrima procesa proizvodnje (Weipert, 2006).

Čvrstoća sredine hleba, kao bitan pokazatelj kvaliteta, uveliko zavisi od poroznosti sredine. Kvalitetan hleb odlikuje sredina sa velikim brojem finih pora, pravilne

strukture. Pore sredine hleba potiču od gasnih mehurova inkorporiranih tokom mešenja testa, kao i od gasova nastalih tokom fermentacije hleba (Liu i Scanlon, 2003). Prema van Vliet (1999) broj pora koje se formiraju tokom mešenja je 10^{12} - 10^{14} sa veličinama 10-100 μm , dok samo 1% od tog broja preostaje nakon pečenja u sredini hleba, što ukazuje da veliki broj pora nestaje tokom fermentacije, oblikovanja i pečenja. Nestajanje pora tokom operacija, koje se dešavaju nakon zamesa, posledica je Ostwald-ovog zrenja (porast većih pora na uštrb manjih, koje imaju veću površinsku energiju, a time i veću Gibbs-ovu energiju što povećava težnju molekula na površini pore da difunduju i spoje se sa većom porom) i koalescencije pora usled pucanja međupovršinskog filma (Hayman i sar., 1998a). Stabilnost pora zavisi prvenstveno od mehaničkih i strukturnih osobina međupovršinskog filma (opni) koji razdvaja pore (Scanlon i Zghal, 2001). Mehaničke osobine opni, a time i formiranje i zadržavanje mehurova gasa zavisi od molekulske mase i raspodele molekulske mase glutena (Hussain i Lukow, 1997). Međutim, i skrobne granule imaju važnu ulogu u formiranju čvrste faze sredine hleba. U tek zamešenom testu skrobne granule uklopljene su u proteinski matriks (Rojas i sar., 2000). Skrobne granule, čiji je prečnik veći od debljine opne koja okružuje poru, teže da destabilišu zidove pora (van Vliet i sar., 1992) i time olakšavaju koalescenciju pora tokom pečenja (Hayman i sar., 1998b). Nasuprot tome, male granule skroba (B granule) teže da stabilizuju zidove pora, tako da hlebovi pripremljeni od pšeničnog brašna sa malim granulama imaju finu strukturu pora (Hayman i sar., 1998b). Tokom pečenja integritet pojedinih granula skroba biva narušen usled želatinizacije, dok pojedine granule, posebno manje, ostaju očuvane. Iako zidove pora čini dvojna mreža proteina i želatiniziranih granula, skrobna komponenta je ta koja primarno određuje strukturu sredine hleba (Liu i Scanlon, 2003). Tokom pečenja formira se sunderasta struktura sredine hleba transformacijom pora u testu u mrežu delimično povezanih pora (Cilliers i Sadr-kazemi, 1999). Struktura pora i zidova pora na makro- i mikro-molekularnom nivou (Liu i Scanlon, 2003) prikazana je na slici 11.

Struktura sredine hleba ocenjuje se vizuelno od strane treniranih senzorskih ocenjivača (Liu i Scanlon, 2003) ili digitalnom analizom slike sredine hleba (Dapčević Hadnađev i sar., 2013a).



Slika 11. Makro- i mikro-molekularna struktura sredine hleba (preuzeto iz Liu i Scanlon, 2003)

U smislu prihvatljivosti od strane potrošača i struktura i mehaničke osobine sredine hleba imaju važnu ulogu. Naime, hleb bi trebalo da ima pore čiji su zidovi što tanji, a da pri tom budu dovoljno jaki da mogu da se oporave nakon pretrpljene deformacije kao što je pritisak (Cauvain i sar., 1999). Na izgled strukture i teksturu sredine hleba, osim sirovinskog sastava i procesnih parametara, utiču i promene tokom starenja hleba (Liu i Scanlon, 2003).

Pojam starenje hleba odnosi se na sve fizičke i hemijske promene koje se dešavaju u proizvodu nakon pečenja. Starenje hleba čini proizvod manje prihvatljivim od strane potrošača (Köksel, 2009; Pateras, 2007), a ovaj fenomen utiče i na velike ekonomske gubitke pekarske industrije (Maarel i sar., 2002). Prema Stampfli i Nerste (1995) i Pateras (2007) potrošači povezuju starenje sa nekim tipičnim senzorskim promenama kao što su gubitak arome, prelazak kore iz hrskave u žilavu i meku, povećanje čvrstoće i mrvljivosti sredine hleba i smanjenje vlažnosti sredine hleba. Porast čvrstoće sredine hleba je jedna od promena koja se najčešće koristi za praćenje njegovog starenja (Dapčević Hadnađev i sar., 2013a). Ostale promene, kao što su gubitak arome, smanjenje moći upijanja vode, količina rastvorljivog skroba i njegova podložnost enzimima, porast kristaličnosti i mutnoće skrobnog gela i promene u profilu difrakcije X-zracima takođe se mogu iskoristiti za praćenje starenja proizvoda koji sadrže skrob (D'Appolonia i Morad, 1981).

Starenje hleba je kompleksan proces i uglavnom se sastoji od dva osnovna potprocesa: 1) migracije vlage iz sredine ka kori hleba i 2) očvršćavanja zidova pora sredine hleba kao posledice retrogradacije skroba.

Tokom skladištenja kora hleba, koja inicijalno ima oko 12% vlage, apsorbuje vlagu iz unutrašnjosti sredine, čiji je inicijalni sadržaj vlage oko 45%. Prema Czuchajowska i Pomeranz (1989) u periodu od 100 h skladištenja sadržaj vode u kori poraste od 12 do 28%, dok se u sredini hleba smanji od 45 do 43,5%. Međutim, u zoni ispod kore promena vlage sredine iznosi od 45 do 32%.

Međutim, čak i da nema gubitka vlage, hleb bi stario. Razlog tome je fenomen retrogradacije. Naime, kada se želatinizirani skrob nađe u okolini u kojoj je temperatura niža od temperature želatinizacije, dešavaju se dva kinetički različita procesa: 1) prvo dolazi do asocijacije molekula amiloze u uređeniju strukturu povezivanjem lanaca vodoničnim vezama, a zatim 2) kratki lanci amilopektina rekristališu pri čemu je taj proces znatno sporiji od retrogradacije amiloze (León i sar., 1997). Prema modelu datom od strane Schoch i French (1947) brza asocijacija amiloze u hlebu utiče na početnu čvrstoću, ali nema dalju ulogu u povećanju čvrstoće sredine. Nasuprot tome, povećanje čvrstoće posledica je promena u orijentaciji bočnih lanaca amilopektina. U svežem hlebu bočni lanci amilopektina su u sklupčanoj konformaciji, sa ograničenim sadržajem dostupne vode. Ti lanci postepeno agregiraju, opružaju se jedan u odnosu na drugi i povezuju se intra-molekulskim vezama, što utiče na povećanje čvrstoće sredine hleba (Pateras, 2007).

U cilju usporavanja procesa starenja u formulaciju za pripremu testa dodaju se emulgatori, šećeri, biljne masti, enzimi i hidrokoloide. U najnovijoj literaturi sve češće se kao poboljšivači koriste modifikovani skrobovi. Uticaj različitih vrsta hemijski modifikovanih skrobova na kvalitet hleba dat je u tabeli 4.

Tabela 4. Pregled uticaja hemijski modifikovanih skrobova na kvalitet hleba

Vrsta modifikovanog skroba	Vrsta uzorka	Uticaj	Literatura
Hidroksipropilskrob iz tapioke + glutensko brašno	Hleb od pšeničnog brašna	Smanjuje specifičnu zapreminu hleba Smanjuje tvrdoću sredine hleba Pokazuje nižu entalpiju retrogradacije	Miyazaki i sar. (2005a, 2005b, 2008)

Fosfatiran umreženi skrob iz tapioke + glutensko brašno	Hleb od pšeničnog brašna	Smanjuje specifičnu zapreminu hleba Povećava tvrdoću sredine hleba Ubrzava retrogradaciju	Miyazaki i sar. (2005a, 2005b, 2008)
Acetilovan skrob iz tapioke + glutensko brašno	Hleb od pšeničnog brašna	Smanjuje specifičnu zapreminu hleba Neznatno utiče na inicijalnu tvrdoću sredine hleba Ubrzava retrogradaciju	Miyazaki i sar. (2005a, 2005b, 2008)
Umrežen skrob iz krompira+glutensko brašno	Hleb od pšeničnog brašna	Povećava zapreminu hleba Smanjuje tvrdoću sredine hleba	Hung i Morita (2004)
Hidroksipropilskrob iz pšenice	Model sistem hleba (gluten/skrob = 16/84)	Smanjuje zapreminu hleba Smanjuje inicijalnu tvrdoću sredine hleba, ali ne i kinetiku povećanja tvrdoće Povećava veličinu pora sredine hleba	Goesaert i sar. (2008)
Umrežen skrob iz pšenice	Model sistem hleba (gluten/skrob = 16/84)	Ne utiče na zapreminu hleba Povećava tvrdoću sredine hleba Ne utiče na strukturu sredine hleba	Goesaert i sar. (2008)
Acetilovan diskrob adipat	Bezglutenski hleb	Povećava specifičnu zapreminu hleba Smanjuje veličinu pora sredine hleba Smanjuje tvrdoću sredine hleba određenu nakon 2. i 3. dana	Ziobro i sar. (2012)
Hidroksipropildiskrobfosfat	Bezglutenski hleb	Povećava specifičnu zapreminu hleba Smanjuje veličinu pora sredine hleba U najvećoj koncentraciji (15%) smanjuje tvrdoću sredine hleba određenu nakon 2. i 3. dana	Ziobro i sar. (2012)

Dekstrin	Hleb od pšeničnog brašna	Smanjuju specifičnu zapreminu hleba. Povećavaju tvrdoću sredine hleba pri višim koncentracijama. Dekstrini sa DE 3-11 povećavaju vrednost entalpije retrogradacije, dok sa DE 19-40 smanjuju entalpiju retrogradacije.	Miyazaki i sar. (2004)
----------	--------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------

Kao metodi za praćenje starenja hleba koriste se termalna analiza, najčešće diferencijalna skenirajuća kalorimetrija - DSC, kao i metod praćenja promena čvrstoće sredine hleba (Hallberg i Chinachoti, 2002). S obzirom da je skrobna komponenta odgovorna za starenje hleba, postoje brojni metodi za praćenje retrogradacije skroba koji su sumirani u preglednom radu Abd Karim i sar. (2000).

Poglavlje 4

Materijal i metodi

4.1. Materijal

Pšenično brašno korišćeno u disertaciji dobijeno je od Fidelinka a.d. Subotica i njegove karakteristike bile su sledeće: sadržaj vode 12,9%, proteina 11,9% (izraženo na s.m.), pepela 0,73% (izraženo na s.m.), vlažnog glutena 24,7% i skroba 85,3% (izraženo na s.m.).

Karakteristike tri komercijalno dostupna OSA skroba, poreklom iz voskastog kukuruza, proizvođača Cargill, Francuska navedene su u tabeli 5.

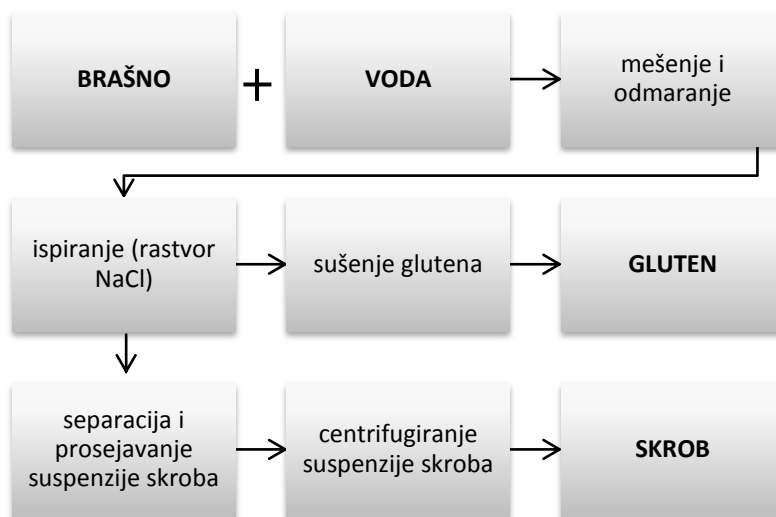
Tabela 5. Komercijalni OSA skrobovi

Naziv	Komercijalni naziv	Naziv korišćen u disertaciji	Sadržaj vode (%)
Skrob-natrijum-oktenilsukcinat	C*EmTex 06328	OSA-ST	11,50
Preželatizirani skrob-natrijum-oktenilsukcinat	C*EmTex 12688	Pregel OSA-ST	8,88
Hidrolizovani skrob-natrijum-oktenilsukcinat sušen u spreju	C*EmCap 12633	Hydrol OSA-ST	8,26

Ostali sastojci korišćeni u ovoj disertaciji bili su: kuhinjska so (So produkt, Srbija), kvasac (Kvas d.o.o., Hrvatska) i jestivo rafinisano ulje od kikirikija (Olitalia, Italija) koji su nabavljeni u lokalnom supermarketu. Kao konzervans u pojedinim sistemima korišćen je natrijum-azid (Lachema, Češka).

4.2. Frakcionisanje brašna

U cilju ispitivanja interakcija OSA skrobova sa pojedinačnim komponentama brašna, kao i sprovođenja eksperimenata na model sistemima testa, izvršeno je frakcionisanje brašna na dve osnovne komponente: skrob i gluten, prema šemi datoj na slici 12.



Slika 12. Šema frakcionisanja brašna na gluten i skrob

Osobine tako dobijenih komponenti bile su sledeće:

- nativnog glutenskog brašna - sadržaj vode 10,0%, proteina 87,7% (izraženo na s.m.), skroba 12,1% (izraženo na s.m.), kapacitet vezivanja vode 2,2 g/g
- pšeničnog skroba - sadržaj vode 13,6%, proteina 0,35% (izraženo na s.m.), skroba 98,6% (izraženo na s.m.), viskozitet 8% gela 250 AJ.

4.3. Priprema model sistema

4.3.1. Priprema model sistema nativno glutensko brašno - OSA skrob

Model sistemi nativno glutensko brašno - OSA skrob pripremani su u odnosu 90/10, 80/20 i 70/30 (računato na masu suvog uzorka). Kao kontrolni uzorci korišćeni su: nativno glutensko brašno bez dodatka OSA skrobova, kao i glutensko brašno sa dodatkom 10, 20 i 30% pšeničnog skroba. Priprema hidratisanog glutena, kao i mešavina gluten-skrob, vršena je u mesilici miksolaba, prema postupku datom u tabeli 6.

Tabela 6. Vrednosti parametara miksolab mesilice korišćenih za pripremu model sistema gluten/OSA skrob

Podešeni parametri	Vrednosti
Masa testa	75 g
Moć upijanja vode	90%
Vlaga sistema	14%
Brzina mešenja	80 o/min
Temperatura mesilice	30 °C
Vreme mešenja	15 min

Tako pripremljene hidratizane mešavine, ostavljane su da odstoje 1 h u plastičnoj posudi u termostatu na 30 °C, kako bi pre izvođenja reoloških ispitivanja došlo do relaksacije uzorka usled stresa unetog prilikom mešenja.

4.3.2. Priprema model sistema pšenični skrob - OSA skrob

Uticaj dodatka OSA skrobova na osobine pšeničnog skroba praćen je pripremanjem 1, 4 i 8% gelova u kojima je 0, 10 i 20% pšeničnog skroba zamenjeno OSA skrobovima. Ispitivanja sa većim procentom zamene nisu prikazana jer je u slučaju dodatka Hydrol OSA-ST dolazilo do prevelikog slabljenja strukture gela što je onemogućavalo sprovođenje pojedinih analiza.

Skrobni gelovi (za određivanje reoloških svojstava, teksture i kinetike sinerezisa) pripremani su u Brabenderovom amilografu (Brabender, Nemačka), zagrevanjem 4 ili 8% (računato na masu osušenog uzorka) suspenzije skroba i mešavina skroba sa OSA skrobovima. Suspenzije su zagrevane od 30 do 95 °C brzinom od 1,5 °C/min, a zatim zadržavane na 95 °C još 15 min. Tako pripremljene paste razlivene su u posudice prečnika 40 mm, hladene na sobnu temperaturu, zatvarane i čuvane na 4 °C. Kako bi se uzorci sačuvali od mikrobiološkog kvarenja pri pripremi im je dodavan natrijum-azid u količini od 0,02%. Pre testiranja uzorci su temperirani na sobnu temperaturu u trajanju od 1,5 h.

4.3.3. Priprema model sistema testo - OSA skrob

Model brašna koji je služio kao kontrolni uzorak pripreman je mešanjem 16,5% nativnog glutenskog brašna i 83,5% pšeničnog skroba. Uticaj OSA skrobova praćen je tako što je deo pšeničnog skroba (2,5; 5 i 10%) zamenjen OSA skrobom.

Testo, od tako dobijenih model sistema brašna, zamešeno je u mesilici miksolaba, prema postupku datom u tabeli 7, pošto je prethodnim ispitivanjima zaključeno da se pri tom odnosu količina vode u sistemu/vreme mešenja postiže konzistencija od $1,1\pm 0,05$ Nm što odgovara optimalnoj konzistenciji testa.

Tabela 7. Vrednosti parametara miksolab mesilice korišćenih za pripremu testa od model sistema brašna

Podešeni parametri	Vrednosti
Masa testa	75 g
Moć upijanja vode	50%*
Vlaga sistema	14%
Brzina mešenja	80 o/min
Temperatura mesilice	30 °C
Maksimalno vreme mešenja	15 min
Optimalno vreme mešenja	Do postizanja konzistencije $1,1\pm 0,05$ Nm

*Vrednost od 50% izabrana je kako bi se rezultati dobijeni na model sistemima mogli uporediti sa rezultatima dobijenim na realnim sistemima pripremanim na konstantnu hidrataciju (poglavlje 4.4.1.)

Nakon zamesa, testo je ostavljano da odstoji 10 min u plastičnoj posudi u termostatu na 30 °C, kako bi pre izvođenja reoloških ispitivanja došlo do relaksacije uzorka usled stresa unetog prilikom mešenja.

4.4. Priprema realnih sistema

4.4.1. Priprema testa od pšeničnog brašna sa dodatkom OSA skroba

Nakon ispitivanja ponašanja OSA skrobova u model sistemima i interakcija sa osnovnim komponentama brašna, pristupilo se ispitivanju uticaja OSA skrobova na reološke osobine i strukturu testa pripremljenog od pšeničnog brašna u kojem je 2,5; 5 i 10% brašna bilo zamenjeno OSA skrobom. Za potrebe fundamentalnih reoloških ispitivanja testo je pripremano na dva načina: na konstantnu hidrataciju (u mesilici alveografa) i na konstantnu konzistenciju (u mesilici miksolaba) (tabela 8).

Nakon zamesa, testo je ostavljano da odstoji 10 min u plastičnoj posudi u termostatu na 30 °C, kako bi pre izvođenja reoloških ispitivanja došlo do relaksacije uzorka usled stresa unetog prilikom mešenja.

Tabela 8. Priprema testa za fundamentalna reološka ispitivanja

Brašno ili brašno + OSA skrob	
Vrednosti parametara u mesilici miksolaba	Vrednosti parametara u mesilici alveografa
Masa testa: 75 g	Masa brašna: 250 g
Moć upijanja vode: optimalna	Moć upijanja vode: konstantna - 50%*
Temperatura mesilice: 30 °C	Temperatura mesilice: 24 °C
Vreme mešenja: do postizanja maksimuma konzistencije od 1,1±0,05 Nm	Vreme mešenja: 8 min

*Prema metodi ICC 121 (ICC Standards, 2011) moć upijanja vode prilikom pripreme testa u alveografskoj mesilici je fiksirana na 50%

4.4.2. Priprema testa za probno pečenje

Sirovinski sastav testa: 300 g pšeničnog brašna ili 300 g mešavine pšeničnog brašna i OSA skroba (brašno je zamenjeno sa 2,5; 5 ili 10% OSA skroba) korigovano na 14% vlage, 2,5% svežeg kvasca i 2% soli računato na ukupnu masu brašna i vode koja je potrebna da se dostigne konzistencija od 500 FJ.

Testo je mešeno u 300 g farinografskoj mesilici do postizanja maksimuma konzistencije (500 FJ) plus 1 min, kako bi se dobro homogenizovalo. Umešeno testo preneto je u plastičnu posudu, oblikovano u loptu i stavljeno u termostat temperature 30 °C da fermentiše 60 min, uz premesivanje nakon 45 min. Nakon fermentacije u masi testo je podeljeno na četiri komada 4x100g, ručno oblikovano i stavljeno u kalupe (90x60 mm gornja površina, 80x50 mm dno i 50 mm visina kalupa) koji su preneti u termostat za završnu fermentaciju. Uslovi završne fermentacije bili su: 35 °C, relativna vlaga vazduha 85%, optimalno vreme fermentacije (do momenta kada udubljenje nastalo prilikom blagog utiskivanja prsta u testo ostaje). Hleb je pečen u laboratorijskoj peći MIWE (Miwe condo, Nemačka) uz doziranje pare, na 225 °C do gubitka mase od 9%. Nakon pečenja hlebovi su hlađeni na sobnu temperaturu u toku 2 h, pakovani u polietilenske kese i čuvani u termostatu na 23 °C kako bi se pratile promene tokom starenja.

4.5. Fundamentalni reološki testovi

Reološka svojstva sistema ispitana su uz pomoć reometra HAAKE Mars (Thermo Scientific, Nemačka). Vršene su sledeće vrste testova: a) određivanje krivih proticanja; b) dinamički oscilatorni testovi; c) test puzanja i oporavka; d) "temperature sweep" test i e) praćenje promene viskoziteta tokom želatinizacije i retrogradacije.

Krive proticanja određene su histerezisnim postupkom koji je podrazumevao praćenje promene napona smicanja (τ) sa povećanjem brzine smicanja ($\dot{\gamma}$) od 0 do 200 s⁻¹, zadržavanje na 200 s⁻¹, a zatim smanjenje do 0 s⁻¹, pri čemu je svaki od koraka trajao 120 s. Ova vrsta reološkog testa korišćena je za sledeće sisteme:

- **5% suspenzija OSA skrobova:** Za viskozne uzorke korišćena je merna geometrija cilindar Z20 DIN, dok je za slabo viskozne uzorke korišćen pribor DG41 (cilindri sa dvostrukim zazorom). Ispitivanja su vršena u tri ponavljanja na 30±0,1 °C.
- **Model sistem pšenični skrob-OA skrob (4% paste):** Korišćena je merna geometrija cilindar Z20 DIN. Merenja su vršena na temperaturi 23±0,1 °C, u tri ponavljanja, nakon 1 i 7 dana skladištenja. Dobijene krive proticanja fitovane su Herschel-Bulkley-evim modelom:

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad (1)$$

gde su: τ_0 - prinosni napon (Pa), K - koeficijent konzistencije (Pa sⁿ), n - indeks proticanja.

Dinamički oscilatorni testovi: "Stress sweep" test upotrebljen je kao preliminarni test za određivanje linearnog viskoelastičnog regiona. Ovaj test podrazumeva variranje amplitude napona smicanja pri konstantnoj frekvenciji (Steffe, 1996). Korišćena je merna geometrija nazubljena ploča/ploča PP35S (prečnika 35 mm) kako bi se sprečilo proklizavanje uzorka. Uzorak je komprimovan brzinom od 0,3 mm/min tako da je razmak između ploča bio 1,5 mm, pri čemu je višak uzorka odstranjen, a na izložene ivice naneto je parafinsko ulje u cilju sprečavanja gubitka vlage u toku merenja. Nakon toga, uzorak je ostavljen 10 min kako bi došlo do relaksacija uzorka usled stresa unetog spuštanjem gornje ploče. Promena elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula praćena je u rasponu napona smicanja od 0,1 do 1000 Pa, pri frekvenciji od 1 Hz. Vrednost napona smicanja koja je bila u linearnom viskoelastičnom regionu, odnosno u oblasti gde ne dolazi do promena G' i G'' sa promenom amplitude oscilovanja, korišćena je za izvođenje "**frequency sweep**" testa u rasponu frekvencija od 0,1 do 10 Hz. Ovom vrstom reoloških testova okarakterisani su sledeći sistemi:

- **Model sistem nativno glutensko brašno - OSA skrob:** Kod ovih sistema vrednost napona smicanja u linearnom viskoelastičnom regionu bila je 5 Pa. Merenja su vršena u tri ponavljanja, na temperaturi od $30 \pm 0,1$ °C.
- **Model sistem pšenični skrob - OSA skrob:** Za dinamičke oscilatorne testove korišćeni su 8% geli koji su sečeni žicom na debljinu od 2 mm i pažljivo stavljeni na donju ploču. Kao zaštita od isušivanja tokom merenja, umesto parafinskog ulja, na ovu vrstu uzoraka postavljen je teflonski poklopac (*solvent trap*). "Frequency sweep" test sproveden je pri naponu smicanja od 10 Pa koji je bio u linearnom viskoelastičnom regionu. Oba merenja vršena su u tri ponavljanja, na temperaturi od $23 \pm 0,1$ °C, nakon 1 i 7 dana skladištenja.
- **Model i realni sistemi testo - OSA skrob:** Za razliku od prethodna dva sistema uzorak je komprimovan do zazora između ploča od 1 mm. "Stress sweep" test izvođen je u rasponu napona smicanja od 1 do 700 Pa, pri frekvenciji od 1 Hz, a "frequency sweep" pri naponu od 2 Pa čija je vrednost bila u linearnom viskoelastičnom regionu. Merenja su vršena u tri ponavljanja, na temperaturi od $30 \pm 0,1$ °C.

Rezultati "frequency sweep" testa, tj. zavisnost modula od frekvencije (logaritamski prikaz) modelovani su jednačinom stepenog zakona:

$$G' = K' f^{n'} \quad (2)$$

$$G'' = K'' f^{n''} \quad (3)$$

gde su K' i K'' - koeficijenti koji odgovaraju vrednosti modula G' , odnosno G'' na 1 Hz (Peressini i sar., 2000), a n' i n'' - koeficijenti koji predstavljaju nagib krive (Sivaramakrishnan i sar., 2004).

Test puzanja i oporavka (eng. "creep-recovery") sastojao se od faze puzanja u toku koje je na uzorak primenjena vrednost napona smicanja u linearnom viskoelastičnom regionu u trajanju od 300 s i faze oporavka gde je praćen oporavak uzorka nakon uklanjanja napona smicanja ($\tau = 0$ Pa) tokom 900 s. Test puzanja i oporavka sproveden je na istom uzorku kao i "frequency sweep" test, pošto je "frequency sweep" nedestruktivan test koji podrazumeva primenu malih deformacija koje ne oštećuju strukturu uzorka (Edwards i

sar., 1999). Sva merenja su vršena u tri ponavljanja na temperaturi od $30 \pm 0,1$ °C. Test je primenjen na uzorcima:

- **Model i realni sistemi testo - OSA skrob:** pri čemu je vrednost napona smicanja u fazi puzanja kod model sistema iznosila 15 Pa, a kod realnih sistema 7 Pa

Krive puzanja i oporavka, tj. zavisnost deformacije (γ) od vremena, ili popustljivosti materijala (J) od vremena, pri čemu se popustljivost izražava kao $J = \gamma/\tau$, gde je γ deformacija, a τ primenjena vrednost napona tokom faze puzanja, fitovane su Burgers-ovim modelom. Dok se za fazu puzanja koristila jednačina:

$$J(t) = J_0 + J_m \cdot (1 - \exp(-t/\lambda)) + t/\eta_0 \quad (4)$$

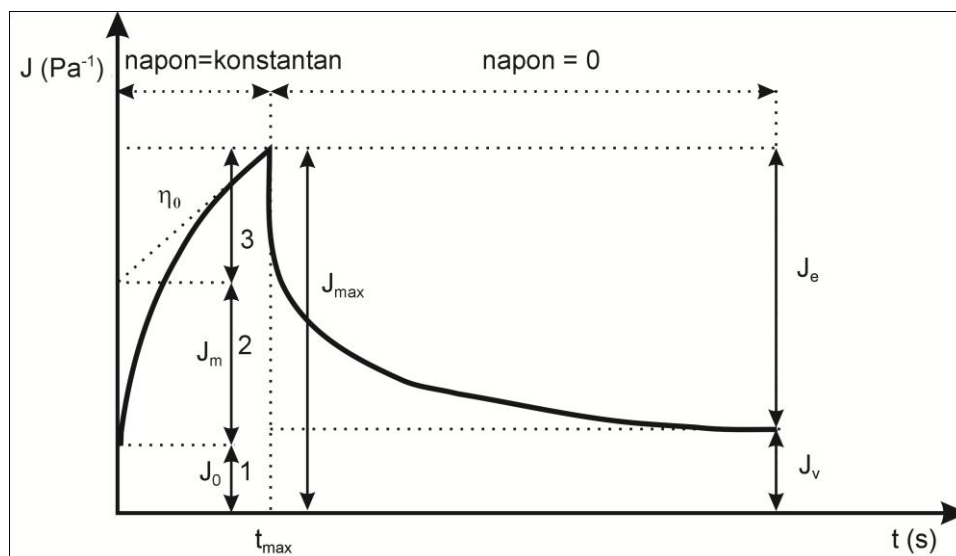
za opisivanje faze oporavka koristila se jednačina:

$$J(t) = J_{max} - J_0 - J_m \cdot (1 - \exp(-t/\lambda)) \quad (5)$$

gde je: J_0 - trenutna (početna) popustljivost materijala (Pa^{-1}), J_m - viskoelastična popustljivost (Pa^{-1}), J_{max} - maksimalni iznos popustljivosti u fazi puzanja (Pa^{-1}), λ - srednja vrednost vremena oporavka sistema (s), η_0 - njutnovski viskozitet (Pas). Deo krive koja opisuje oporavak sistema može se opisati i sledećim parametrima: J_e/J_{max} - udeo elastične komponente (odnosi se na deo strukture koja se oporavila nakon prestanka delovanja napona) (%) i J_v/J_{max} - udeo viskozne komponente (odnosi se na deo strukture koja se nije oporavila nakon prestanka delovanja napona (%), tj. izgubljeni iznos deformacije) (Lazaridou i sar., 2007; Nasser i James, 2008).

Šematski prikaz značenja parametara dat je na krivoj puzanja i oporavka (slika 13).

"*Temperature sweep*" test je podrazumevao promenu temperature od 30 do 90 °C, brzinom od 6 °C/min, pri naponu smicanja od 5 Pa i frekvenciji od 1 Hz, a zatim vraćanje na temperaturu od 30 °C pri istim uslovima. Sva merenja su vršena u tri ponavljanja. Test je sproveden na **model sistemima nativno glutensko brašno - OSA skrob** na istom uzorku kao i "*frequency sweep*" test.



Slika 13. Šematski prikaz krive puzanja i oporavka sa prikazom vrednosti parametara modela (jednačina 4) (preuzeto iz Dapčević Hadnađev i sar., 2013b)

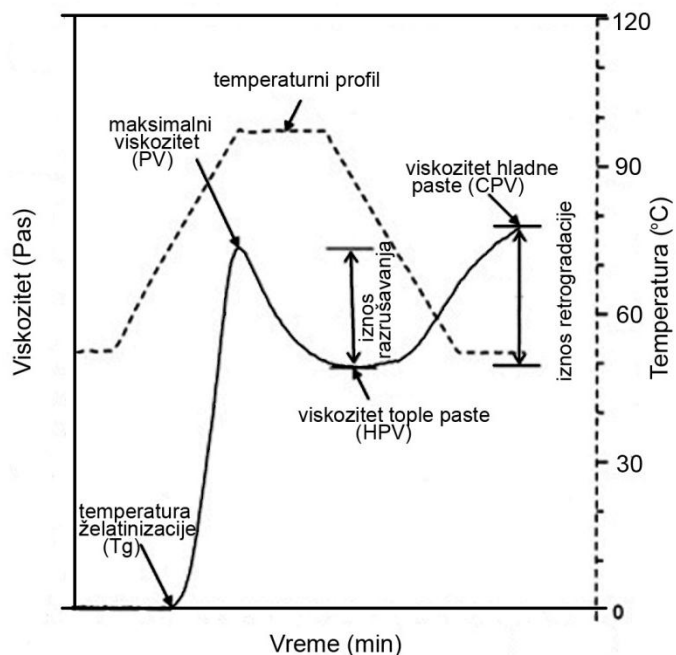
Praćenje promene viskoziteta tokom želatinizacije i retrogradacije vršeno je uz pomoć sledećeg pribora: posude cilindra Z43S koja je bila nazubljena kako bi se sprečilo proklizavanje u toku merenja i propelerskog rotora FL2B (slika 14) specijalno konstruisanog za skrobne suspenzije, sa prorezima koji poboljšavaju mešanje i sprečavaju taloženje na dnu posude.



Slika 14. Propelerski rotor FL2B

Ovim testom ispitivane su 8% suspenzije (računato na masu osušenog uzorka) OSA skroba, pšeničnog skroba i model sistema pšenični skrob/OSA skrob (poglavlje 4.3.2.) pri čemu je količina dodate destilovane vode bila 60 ml. Suspenzije su temperirane na 50 °C u trajanju od 3 min, a zatim zagrevane do 95 °C brzinom od 1,5 °C/min, nakon čega je temperatura održavana konstantnom (95 °C) u toku 15 min, da bi ponovo bila

spuštena na 50 °C brzinom od 1,5 °C/min i održavana na 50 °C u toku 15 min. Brzina smicanja propelera u toku merenja bila je 6 s⁻¹. Kako bi se sprečilo isparavanje vode u toku merenja, korišćena je zaštita od isparavanja ("solvent trap" za Z40 geometriju). Merenja su vršena u tri ponavljanja.



Slika 15. Promena viskoziteta suspenzije skroba sa temperaturom

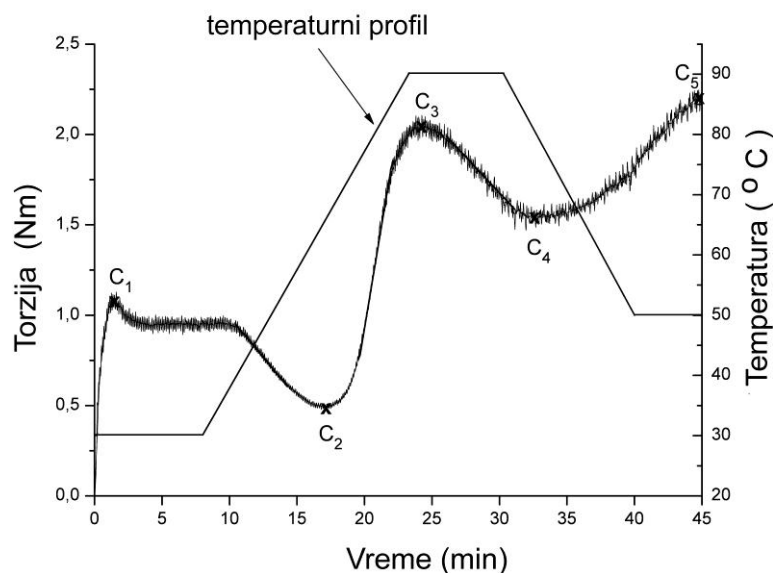
Dobijena je kriva promene viskoziteta u funkciji vremena i temperature (slika 15) sa koje su očitani sledeći parametri: T_g - temperatura početka želatizacije (°C), tj. temperatura u trenutku porasta viskoziteta usled početka bubrenja skrobnih granula; PV - maksimalna vrednost viskoziteta (Pas), tj. viskozitet suspenzije pri kojem je većina granula dostigla maksimum bubrenja; HPV - minimalna vrednost viskoziteta nakon faze zagrevanja (Pas), koja se označava kao stabilnost ili viskozitet tople paste (eng. "hot paste stability/hot paste viscosity/holding strength/trough viscosity") (Aishat i sar., 2007; Thomas i Atwell, 1999; Sandhu i Singh, 2007), a koristi se za izračunavanje iznosa razrušavanja. **Iznos razrušavanja** (Pas) (eng. "breakdown") (Thomas i Atwell, 1999) jednak je razlici $PV-HPV$; dok je CPV - maksimalna vrednost viskoziteta u fazi hlađenja (Pas), krajnji viskozitet ili viskozitet hladne paste (eng. "cold/final paste viscosity") (Aishat i sar., 2007) koji se koristi za izračunavanje iznosa retrogradacije. **Iznos retrogradacije** (Pas) (eng. *setback*) (Thomas i Atwell, 1999) predstavlja razliku između viskoziteta

hladne i tople paste (CPV-HPV). Pored iznosa retrogradacije izračunat je i **totalni iznos retrogradacije** (Pas) kao CPV-PV.

4.6. Empirijski reološki testovi

4.6.1. Određivanje termo-mehaničkih osobina testa primenom miksolaba

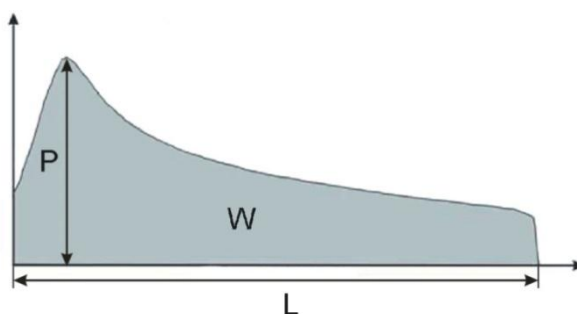
Reološko ponašanje testa sa dodatkom OSA skrobova tokom mešenja i zagrevanja praćeno je pomoću miksolaba (Chopin Technologies, Francuska), primenom "Chopin+" protokola prema ICC 173 (ICC Standards, 2011), u tri ponavljanja, pri čemu su praćeni sledeći parametri krive (slika 16): *MUV* - moć upijanja vode (%); *C1* - inicijalna maksimalna konzistencija (Nm) koja služi za određivanje moći upijanja vode; vreme razvoja (min); stabilitet testa (min); *C2* - minimalna vrednost torzije na početku zagrevanja (Nm); *C3* - maksimalna vrednost (pik) torzije u fazi zagrevanja (Nm); stabilnost skrobne paste, tj. odnos minimuma torzije nakon perioda zagrevanja (*C4*) i maksimuma torzije u fazi zagrevanja (*C3*), *C4/C3*; i iznos retrogradacije tj. razlika između maksimuma torzije nakon perioda hlađenja na 50 °C (*C5*) i torzije u tački (*C4*), *C5-C4* (Nm).



Slika 16. Prikaz parametara miksolab krive

4.6.2. Određivanje alveografskih pokazatelja kvaliteta testa

Jačina i rastegljivost testa sa dodatkom OSA skrobova praćena je primenom alveografa (Chopin Technologies, Francuska), prema metodu opisanom u ICC 121 (ICC Standards, 2011) u tri ponavljanja. Pri tom su praćeni sledeći parametri krive (slika 17): W - rad deformacije (10^{-4} J); P - žilavost testa (mm H₂O), tj. maksimalni pritisak potreban za deformaciju uzorka; L - rastegljivost testa (mm), tj. dužina krive; odnos P/L .



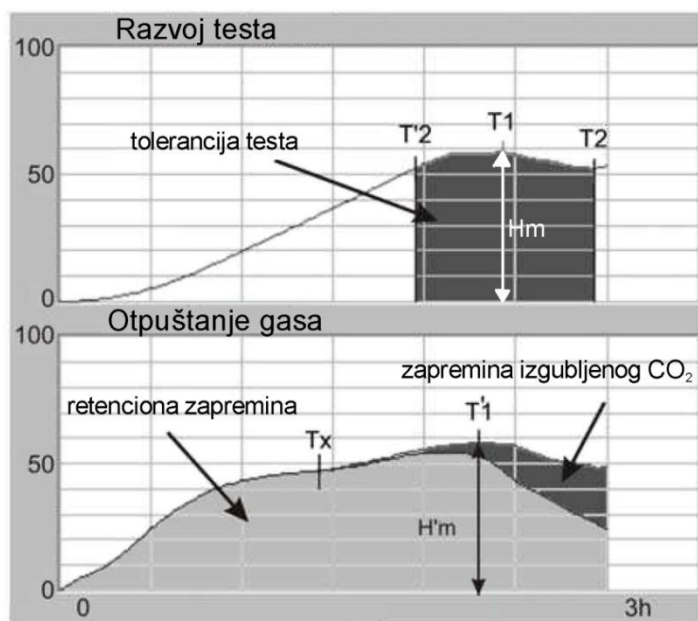
Slika 17. Prikaz parametara alveografske krive

4.6.3. Praćenje reološke promene testa i produkcije gasa tokom fermentacije

Uz pomoć reofermentometra praćena je zapremina gasa nastala kao posledica aktivnosti kvasca, kao i reološko ponašanje testa u toku fermentacije. Testo za reofermentometar pripremano je isto kao i testo za probno pećenje (poglavlje 4.4.2). Nakon toga, 315 g testa stavljeno je u posudu reofermentometra podešenu na 30 °C, i opterećeno tegovima ukupne mase 2000 g. Posuda je čvrsto zatvorena, a rezultati praćeni tokom 180 min, u dva ponavljanja.

Dobijene su krive koje imaju izgled predstavljen na slici 18.

Iz krive razvoja testa dobijeni su parametri: H_m - maksimalni razvoj testa (%); $\%H = (H_m - h)/H_m$ - pad visine testa u periodu od momenta postizanja maksimuma (H_m) do momenta završetka fermentacije (h) (%); T_1 - vreme postizanja maksimalnog razvoja testa (h); T_2 - vreme za koje H_m opadne za 10% (h). Iz krive oslobađanja gasa dobijeni su parametri: $H'm$ - maksimum krive oslobađanja gasa (mm); $T'1$ - vreme dostizanja maksimuma krive oslobađanja gasa (h); T_x - vreme početka oslobađanja CO₂ (h); V_{CO_2} - količina oslobođenog gasa (ml); koef. retencije CO₂ (%) - odnos zapremine gasa zadržanog u testu (retenciona zapremina) i ukupne zapremine gasa oslobođenog tokom fermentacije.



Slika 18. Prikaz parametara i izgleda krivih dobijenih pomoću reofermentometra

4.7. Određivanje rastvorljivosti, moći bubrenja i kapaciteta vezivanja vode

Rastvorljivost (R), moć bubrenja (MB) i kapacitet vezivanja vode (KVV) granula pšeničnog skroba supstituisanih OSA skrobovima, određivani su uz pomoć modifikovanog metoda opisanog od strane Segura-Campos i sar. (2010). Odmereno je 0,3 g (suve materije) skroba (m_1) u epruvetu za centrifugu i dodato 30 ml vode, tako da se dobije 1% suspenzija skroba. Uz pomoć magnetne mešalice, uz konstantno mešanje, suspenzija je držana na temperaturi od $80 \pm 0,5$ °C u vodenom kupatilu u trajanju od 30 min. Suspenzija je zatim ohlađena na sobnu temperaturu, a nakon toga centrifugirana na 2200 g u trajanju od 15 min. Gornji sloj tečnosti (supernatant) je dekantovan u prethodno izmerenu posudu, a ostatak koji je činila masa nabubrenih granula izmeren na analitičkoj vagi (m_2). Dekantovani supernatant sušen je u sušnici na 105 °C u trajanju od 4 h, tj. do konstantne mase (m_3). Rastvorljivost, moć bubrenja i kapacitet vezivanja vode izračunavani su prema sledećim jednačinama:

$$R(\%) = \frac{m_3 \times 100}{m_1} \quad (6)$$

$$MB (g/g) = \frac{(m_2 \times 100)}{m_1 \times (100 - R)} \quad (7)$$

$$KVV (g/g) = m_2/m_1 \quad (8)$$

Sva merenja vršena su u tri ponavljanja.

4.8. Analiza strukture sistema skenirajućom elektronskom mikroskopijom

Strukturne osobine sistema praćene su pomoću skenirajućeg elektronskog mikroskopa JSM-6460LV (SEM, JEOL Ltd., Japan) na 25 kV. Praškasti uzorci direktno su fiksirani na aluminijumski nosač dok su uzorci testa pre posmatranja pripremani tako što su mali komadi potapani u 3% rastvor glutaraldehida u trajanju od 2 h, a zatim dehidrirani u seriji rastvora acetona (25, 50, 75, 80 i 100%) sukcesivnim potapanjem uzorka 20 min u svakom od rastvora. Na kraju su prebaćeni u 100% rastvor acetona iz koga je vršeno superkrićno sušenje pomoću CPD 030 BAL-TEC Critical Point Dryer (BAL-TEC AG, Lihtenštajn). Tako pripremljeni dehidrirani uzorci testa fiksirani su na aluminijumskim nosaćima i prevučeni tankim slojem zlata raspršenog po površini, nakon čega se pristupilo posmatranju na elektronskom mikroskopu pri različitim uvećanjima 500 – 5000x.

4.9. Određivanje strukture diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom

Promene u kristalnoj strukturi čistih skrobova, kao i mešavina nativnog pšenićnog skroba sa OSA skrobovima, tokom želatinizacije i retrogradacije praćene su diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom (DSC) pomoću uređaja Q20 (TA Instruments, SAD). Kalorimetar je kalibrisan uz pomoć standarda indijuma. Pripremane su suspenzije skroba tako da je odnos skrob:voda bio 1:2, koje su puštane da hidratišu 1,5 h uz konstantno mešanje na magnetnoj mešalici. Uzorci (oko 6 mg suve materije) su uzimani mikropipetom direktno iz vrtloga homogenišuće suspenzije, odmeravani u aluminijumske DSC posude i hermetićki zatvarani. Zatim su uzorci zagrevani brzinom od 10 °C/min u režimu porasta temperature od 25 do 90 °C. Prazna DSC posuda služila je kao referentna. Nakon toga, želatinizirani uzorci čuvani su 14 dana na 4 °C, posle čega se pristupilo praćenju krive retrogradacije zagrevanjem uzoraka u istom režimu kao za želatinizaciju. Merenja su vršena u duplikatu.

4.10. Određivanje specifične zapremine hleba

Nakon pečenja (2 h) izmerena je masa hleba, kao i zapremina postupkom istiskivanja semenki prosa (Kalušerović i Filipović, 1998). Specifična zapremina (cm^3/g) računata je kao srednja vrednost odnosa zapremine i mase četiri hleba.

4.11. Određivanje boje kore i sredine hleba

Boja kore i sredine hleba određena je u pet ponavljanja upotrebom kolorimetra Minolta Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta Sensing Inc., Japan) (prečnik kontaktne površine 8 mm). Boja je određena 2 h nakon pečenja. Pre merenja izvršena je kalibracija standardom bele boje. Rezultati su prezentovani prema CIELab sistemu boja, gde su koordinate definisane na sledeći način: L^* je koordinata svetloće boje (gde 0 označava crno, a 100 belo), a^* je crveno-zelena koordinata (gde a^{*+} označava crvenu i a^{*-} označava zelenu boju) i b^* je žuto-plava koordinata (gde b^{*+} označava žutu i b^{*-} označava plavu). Na osnovu navedenih parametara izračunati su indeks beline (WI) sredine hleba, indeks tamnjenja (BI) kore hleba i ukupna razlika boje (ΔE):

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (9)$$

$$BI = [100 \cdot (x - 0,31)] / 0,17 \quad (10)$$

gde je:

$$x = (a^* + 1,75 \cdot L^*) / (5,645 \cdot L^* + a^* - 3,012 \cdot b^*) \quad (11)$$

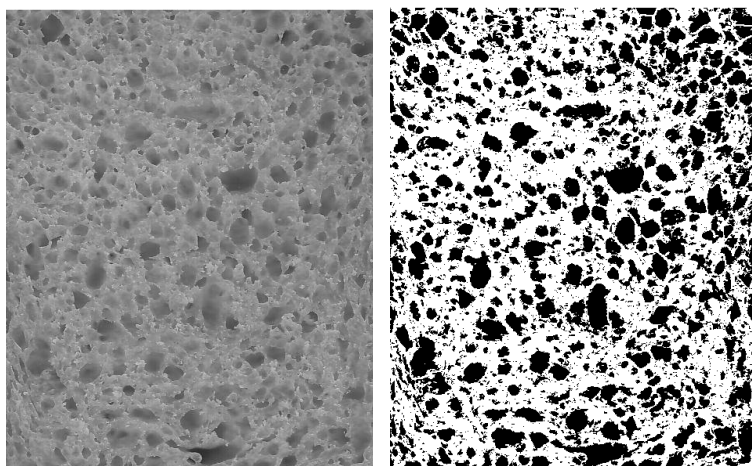
$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2} \quad (12)$$

gde L_0 , a_0 i b_0 predstavljaju parametre boje kontrolnog uzorka. Prema Francis i Clydesdale (1975) ako je:

- $\Delta E < 1$ - razlika u boji nije uočljiva ljudskim okom;
- $1 < \Delta E < 3$ - razlika u boji nije značajna za ljudsko oko
- $\Delta E > 3$ - razlika u boji je uočljiva ljudskim okom.

4.12. Digitalna analiza slike preseka hleba

Digitalna analiza slike sredine hleba izvođena je na uzorcima hleba čuvanim 24 h u kontrolisanim uslovima (hlebovi upakovani u polietilenske kese na temperaturi 23 °C). Hleb je sečen uz pomoć električnog noža na kriške debljine 10 mm. Dve centralne kriške od tri različita uzorka hleba skenirane su na skeneru CanoScan LiDE 100 (Canon Inc. korporacija) rezolucije 300 dpi. Obrada slike vršena je u programu ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>). Deo slike je isečen kako bi se dobilo najveće moguće vidno polje (40x50 mm) i konvertovan u 8-bitnu sliku. Diferencijacija pora od zidova pora (određivanje "threshold"-a) vršena je primenom Otsu algoritma (slika 19) pošto se on pokazao kao objektivniji u slučaju preseka hleba (Gonzales-Barron i Butler, 2006).



Slika 19. Konverzija slike uz pomoć Otsu algoritma

Parametri koji su dobijeni digitalnom analizom bili su: broj pora po kvadratnom centimetru (gustina pora), srednja vrednost površine pora (mm^2) i odnos površine pora i ukupne površine sredine hleba (%). Pod porom se podrazumevala površina veća od $0,01 \text{ mm}^2$, pošto ova površina odgovara čestici prečnika 0,1 mm što je minimalna vrednost razdaljine koju ljudsko oko može da uoči (Archunan, 2004).

4.13. Praćenje promene sadržaja vlage sredine hleba tokom starenja

Vlaga sredine hleba određivana je 2, 24 i 72 h nakon pečenja, u tri ponavljanja, dvofaznim postupkom opisanim u metodu ICC 110/1 (ICC Standards, 2011). Sadržaj vlage izračunat je prema sledećoj formuli:

$$\text{Ukupni sadržaj vlage (\%)} = 100 \cdot \left(1 - \frac{m_1 \cdot m_3}{m_0 \cdot m_2}\right) \quad (13)$$

gde je: m_0 – početna masa uzorka (g), m_1 – masa uzorka nakon prvog stepena sušenja (u termostatu) (g), m_2 – masa samlevenog uzorka osušenog u prvom stepenu (g), m_3 – masa uzorka nakon sušenja u drugom stepenu (u sušnici) (g).

4.14. Praćenje promene teksture sistema tokom starenja

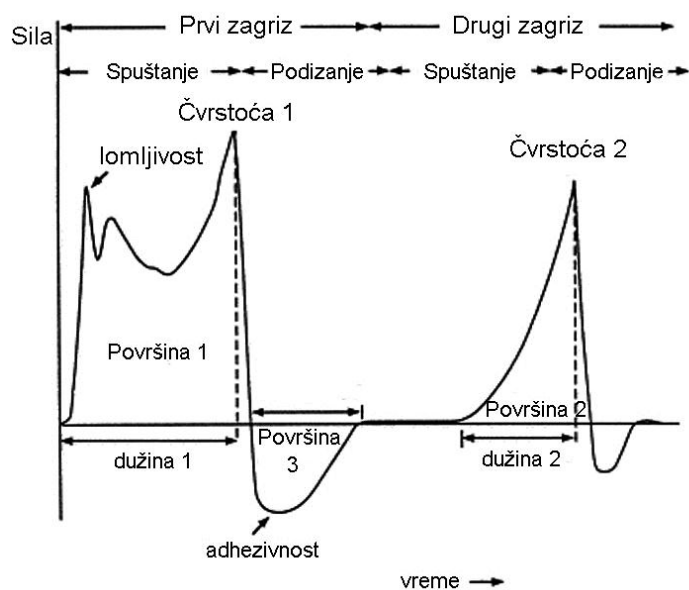
Tekstura sredine hleba i model sistema (8% skrobnih gelova) određivana je primenom TPA (Texture Profile Analysis) testa uz pomoć teksturometra TA.XT2 Texture Analyser (Stable Micro Systems, Engleska) opremljenog mernom ćelijom od 30 kg i mernim priborom P/75 (aluminijumska ploča prečnika 75 mm).

Merenja teksture sredine hleba rađena su u pet ponavljanja nakon 2, 24 i 72 h na kriškama (prečnika 35 mm i visine 10 mm) uzetim iz središnjeg dela hleba.

Skrobni geli, testirani na promenu teksture tokom starenja (1, 2, 3, 5 i 7 dana), pripremani su tako što su sečeni na valjke visine 10 mm i prečnika 30 mm, kako bi bili manjeg prečnika od prečnika ploče, što je uslov za obavljanje testova kompresije (Bourne, 2002). Merenja su izvođena u tri ponavljanja.

Podšavanja teksturometra su bila sledeća: brzina kretanja mernog dela pre analize 1 mm/s, a u toku i nakon obavljene analize 5 mm/s i vreme čekanja između prvog i drugog ciklusa kompresije 5 s. Iznos deformacije kod uzoraka sredine hleba bio je 75%, dok je kod uzoraka skrobnog gela iznos deformacije bio 40% (kako ne bi došlo do oštećenja tj. pucanja gela).

Dobijeni TPA profil prikazan je na slici 20.



Slika 20. Primer TPA profila

Sa TPA profila mogu se očitati sledeći parametri: lomljivost (eng. "fracturability") – vrednost sile pri kojoj dolazi do pucanja materijala, a koja se na profilu uočava kao prvi značajan pik (N); čvrstoća (eng. "hardness") – maksimalna vrednost sile tokom prve kompresije (prvog zagrizava) (N); kohezivnost (eng. "cohesiveness") – odnos površina 2 i 1, koji ukazuje na to koliko dobro proizvod izdržava drugu deformaciju u odnosu na to kako se ponašao u toku prve; adhezivnost (eng. "adhesiveness") – vrednost površine 3, tj. rad potreban da se pribor odvoji od uzorka; naknadna elastičnost (eng. "springiness") – visina koju uzorak povraća tokom vremena između kraja prve deformacije i početka druge deformacije; gumastost (eng. "gumminess") – predstavlja proizvod čvrstoća x kohezivnost, koristi se kod polučvrste hrane (N); otpor žvakanju (žvakljivost) (eng. "chewiness") – predstavlja proizvod gumastost x naknadna elastičnost i koristi se kod čvrste hrane (N); inicijalna elastičnost (eng. "resilience") – opisuje koliko se dobro uzorak "bori da povraća svoj prvobitni oblik" (Bourne, 2002, Köksel, 2009). Za opisivanje teksture sredine hleba korišćeni su parametri (čvrstoća, kohezivnost, naknadna i inicijalna elastičnost, otpor žvakanju) koji su prikladni za takvu vrstu uzorka koji ne ispoljava pucanje/lomljenje pod dejstvom sile i ne pokazuje adhezivnost.

Zavisnost čvrstoće skrobnog gela od vremena skladištenja modelovana je Avrami-jevom jednačinom (Devesa i Martnez–Anaya, 2003; Jiang i sar., 2005):

$$\theta = \frac{(H_{\infty}-H_t)}{(H_{\infty}-H_0)} = e^{-kt^n} \quad (14)$$

gde je: θ – frakcija rekristalizacije koja još treba da se dogodi, H_0 , H_{∞} , H_t su čvrstoće gela (N) u nultom, beskonačnom i t vremenu, k je konstanta brzine starenja (dan^{-1}) i n je Avrami-jev eksponent.

4.15. Određivanje kinetike sinerezisa kao mere starenja sistema

Uzorci za određivanje sinerezisa (4% skrobne paste) pripremani su u Brabenderovom amilografu prema proceduri opisanoj u poglavlju 4.3.2. Tako pripremljene paste razlivene su u epruvete za centrifugu u količini od 40 ml, hladene na sobnu temperaturu, zatvarane i čuvane na 4 °C u toku 1, 2, 3, 5 i 7 dana. Pre određivanja sinerezisa uzorci su temperirani na sobnu temperaturu u trajanju od 1,5 h.

Sinerezis je određivan u tri ponavljanja kao procenat vode izdvojene nakon centrifugiranja uzorka na 3000 ob/min, u trajanju od 20 min.

4.16. Statistička obrada podataka

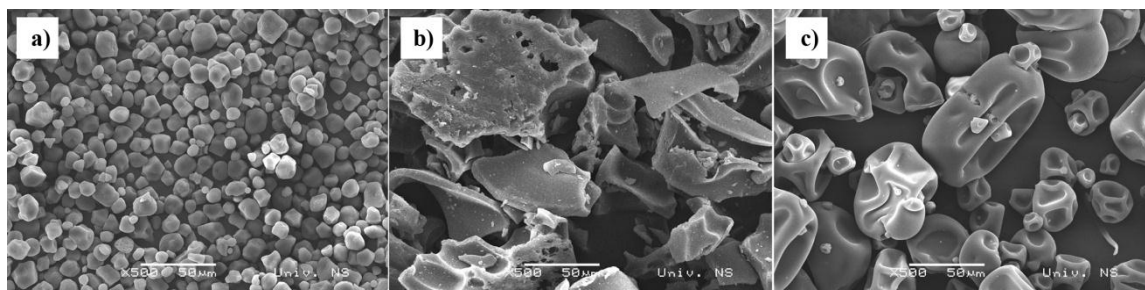
Sva merenja izvođena su u ponavljanjima i predstavljena u obliku srednje vrednosti. Analiza varijanse i Tukey-jev test izvedeni su pomoću softvera Statistica 10.0 (Statsoft, Tulsa, USA). Srednje vrednosti smatrane su značajno različitim pri vrednosti $p \leq 0,05$.

Poglavlje 5

Rezultati i diskusija

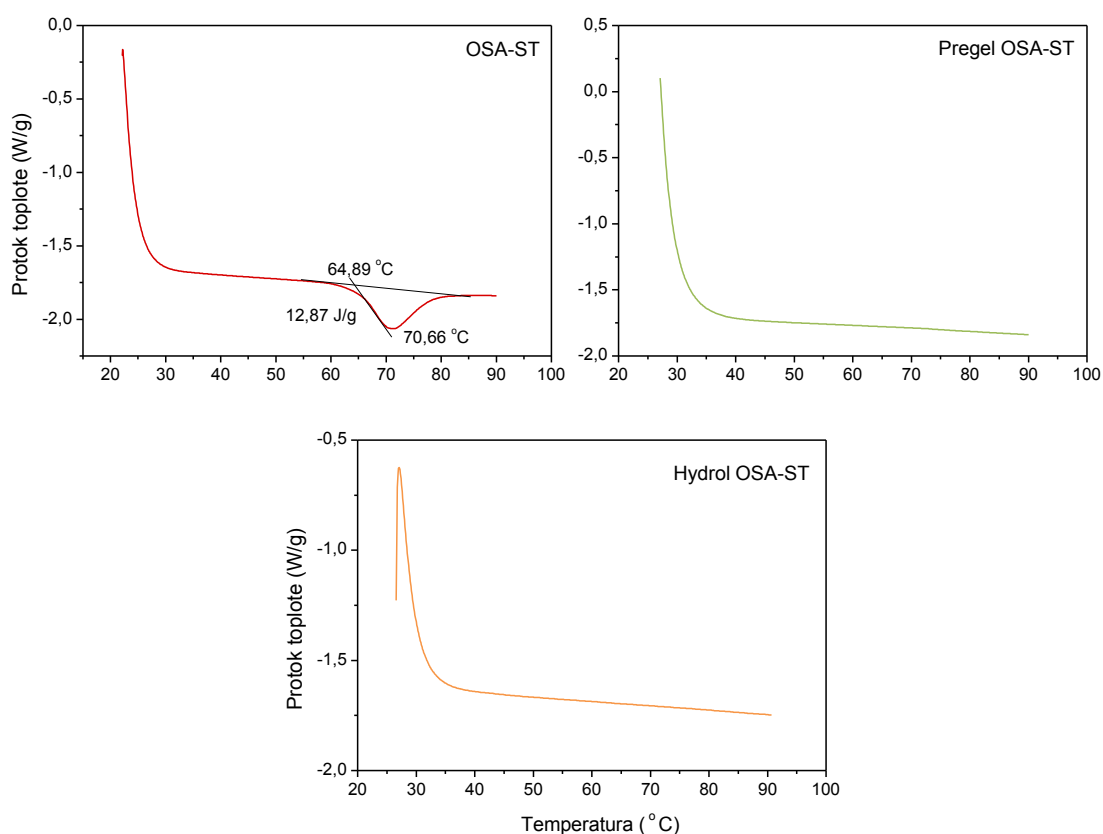
5.1. Struktura i osobine OSA skrobova

Hemijski modificirani škrobovi, korišćeni u disertaciji, bili su škrob-natrijum-oktenilsukcinati (OSA škrobovi) poreklom iz voskastog kukuruza. Karakteristika škrobova izolovanih iz voskastog kukuruza je da sadrže manje od 1% amiloze (Jane, 2009), te se stoga takvi OSA škrobovi mogu smatrati OSA modificiranim amilopektinskim lancima organizovanim u strukturu granule. Ono po čemu su se ovi škrobovi razlikovali bila je dodatna modifikacija izvršena na granulama OSA škroba, koja je uticala na funkcionalne i morfološke osobine ispitivanih OSA škrobova, što se može uočiti na slici 21. Osobine OSA škrobova zavisile su kako od osobina početnog nativnog škroba iz voskastog kukuruza, tako i od osobina nastalih tokom modifikacija izvršenih na granulama škroba voskastog kukuruza.

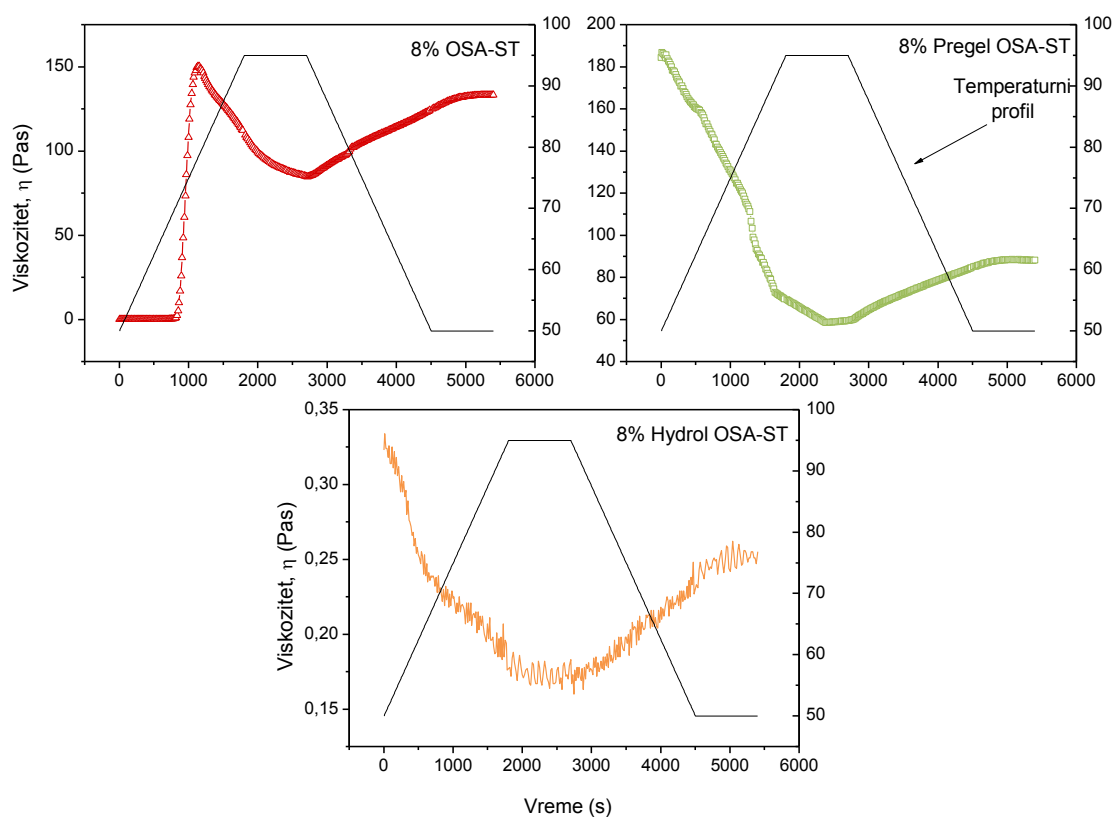


Slika 21. Mikrostruktura granula OSA škroba; a) OSA-ST, b) Pregel OSA-ST, c) Hydrol OSA-ST

Na granulama OSA-ST skroba (slika 21a), osim n-OSA modifikacije, izvršeno je i izbeljivanje granule (tretiranjem skroba malim količinama oksidacionog sredstva) uz pomoć natrijum-hipohlorita, što dovodi do neznatne hemijske modifikacije skroba (Wurzburg, 2006). Granule OSA-ST skroba bile su nerastvorljive u hladnoj vodi i njihov integritet bio je očuvan uprkos modifikacijama. Granule su bile nepravilnog oblika, karakterističnog za skrob iz voskastog kukuruza (Pérez i sar., 2009), veličine 5-15 μm . Očuvana arhitektura granule može se uočiti i na DSC profilu (slika 22) OSA-ST skroba, prema kojem je vrednost entalpije topljenja kristalne strukture granule iznosila 12,87 J/g. Tokom zagrevanja 8% suspenzije OSA-ST skroba (slika 23) uočava se brz porast viskoziteta tokom bubrenja granula, uzak opseg viskoziteta pika, izražen pad viskoziteta usled razaranja granula i izlaska polimera u okolni rastvor i slab rast viskoziteta kao posledice ponovne asocijacije polimera, što su karakteristike skrobova iz voskastog kukuruza (Thomas i Atwell, 1999).



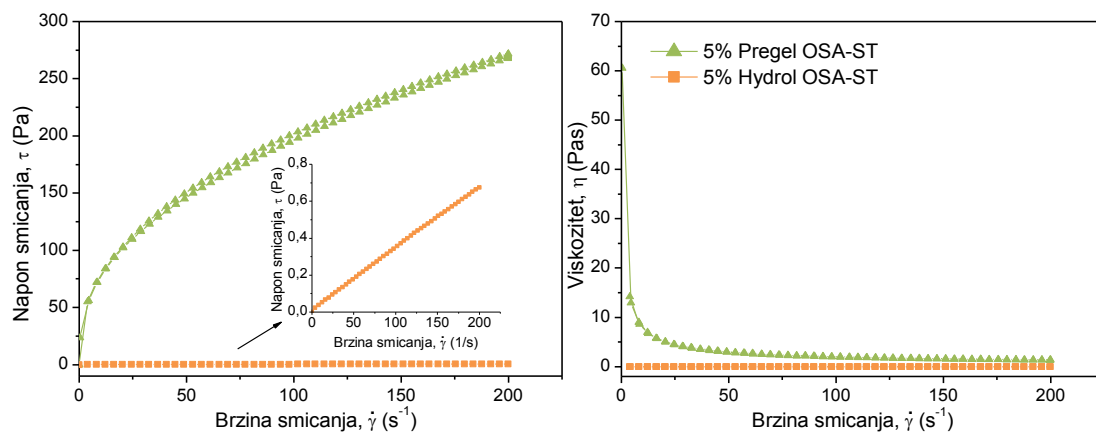
Slika 22. DSC profili OSA skrobova



Slika 23. Promene viskoziteta 8% suspenzija OSA skrobova sa temperaturom

Kod granula Pregel OSA-ST skroba, osim esterifikacije, izvršena je i fizička modifikacija preželatizovanja sušenjem u bubnju, što je prouzrokovalo razaranje skrobne granule i uslovalo da su ove granule nepravilnog, pločastog oblika (slika 21b). Granule Hydrol OSA-ST skroba bile su sfernog oblika (slika 21c) i očuvanijeg integriteta u odnosu na granule Pregel OSA-ST, ali usled bubrenja u toku sušenja u spreju, ove granule bile su oko 6 puta većeg prečnika od granula OSA-ST skroba. Narušena kristalna struktura granula Pregel i Hydrol OSA-ST skrobova registrovana je i pomoću kalorimetra i viskozimetra (slike 22 i 23), i ovi skrobovi nisu obrazovali pik u toku zagrevanja.

Narušavanjem kristalčnosti granule tehnikama sušenja u bubnju i spreju, dobijeni su skrobovi koji su rastvorljivi u hladnoj vodi, što je bila posledica amorfnosti strukture ovih skrobova. Disorganizacija amilopeptinskih lanaca Pregel OSA-ST imala je za posledicu da su granule tog skroba bubrile u hladnoj vodi i obrazovale viskozne gelove.



Slika 24. Krive proticanja OSA skrobova rastvorljivih u hladnoj vodi (zbog male vrednosti napona smicanja kriva proticanja Hydrol OSA-ST predstavljena je i u manjoj razmeri)

Krive proticanja 5% rastvora Pregel i Hydrol OSA-ST skrobova (slika 24) pokazale su da Pregel OSA-ST ispoljava pseudoplastično proticanje, kao posledicu orijentacije lanaca amilopektina u polju delovanja sile smicanja. Nasuprot tome, 5% rastvor Hydrol OSA-ST ponašao se kao tipična njutnovska tečnost. Vrednost viskoziteta Hydrol OSA-ST rastvora bila je značajno manja od viskoziteta Pregel OSA-ST rastvora. Razlog tome bila je činjenica da je na Hydrol OSA-ST izvršena i enzimaska hidroliza, što je dovelo do razgradnje molekula amilopektina i smanjenja prosečne molekulske mase ovih OSA skrobova, a posledično i do smanjenja viskoziteta njihovih rastvora (Wurzburg, 2006).

5.2. Uticaj OSA skrobova na reološke i strukturne osobine glutena

Kako bi se ispitaio uticaj OSA skrobova na promene u strukturi glutena, osim skenirajuće elektronske mikroskopije, praćeno je i reološko ponašanje glutena primenom testova malih deformacija, kao što su dinamička oscilatorna merenja koja su postala precizna i neizbežna tehnika u ispitivanju strukturnih i reoloških osobina pšeničnog testa i proteina, zbog svog karakterističnog odziva i osetljivosti čak i na male promene u strukturi sistema (Song i Zheng, 2007).

Rezultati određivanja uticaja različitih vrsta i koncentracija OSA i nativnog skroba na promene elastičnog i viskoznog modula sa amplitudom napona smicanja prikazani su u tabeli 9.

Tabela 9. Vrednosti parametara "stress sweep" testa za model sistem gluten/skrob

Uzorak	Granica linearnog viskoelastičnog regiona (Pa)	G' (Pa)	G'' (Pa)	$\tan \delta$
Kontrolni (gluten)	380 ^e	3038 ^{cdef}	1482 ^{de}	0,488 ^{de}
Pšenični skrob				
10%	144 ^c	3742 ^{fg}	1620 ^{ef}	0,434 ^{abc}
20%	55 ^b	2656 ^{bcde}	1198 ^{bc}	0,452 ^{cde}
30%	21 ^a	2290 ^{abcd}	1055 ^b	0,460 ^{cde}
OSA-ST				
10%	234 ^d	4422 ^g	780 ^f	0,403 ^{ab}
20%	234 ^d	3391 ^{ef}	1473 ^{de}	0,434 ^{abc}
30%	234 ^d	4636 ^g	1812 ^f	0,392 ^a
Pregel OSA-ST				
10%	380 ^e	3130 ^{def}	1400 ^{cde}	0,448 ^{bcd}
20%	380 ^e	2554 ^{bcde}	1172 ^{bc}	0,459 ^{cde}
30%	380 ^e	2162 ^{abc}	1009 ^{ab}	0,466 ^{cde}
Hydrol OSA-ST				
10%	234 ^d	2804 ^{bcde}	1361 ^{cd}	0,486 ^{de}
20%	234 ^d	2065 ^{ab}	1012 ^{ab}	0,490 ^{de}
30%	144 ^c	1592 ^a	790 ^a	0,496 ^e

Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$).

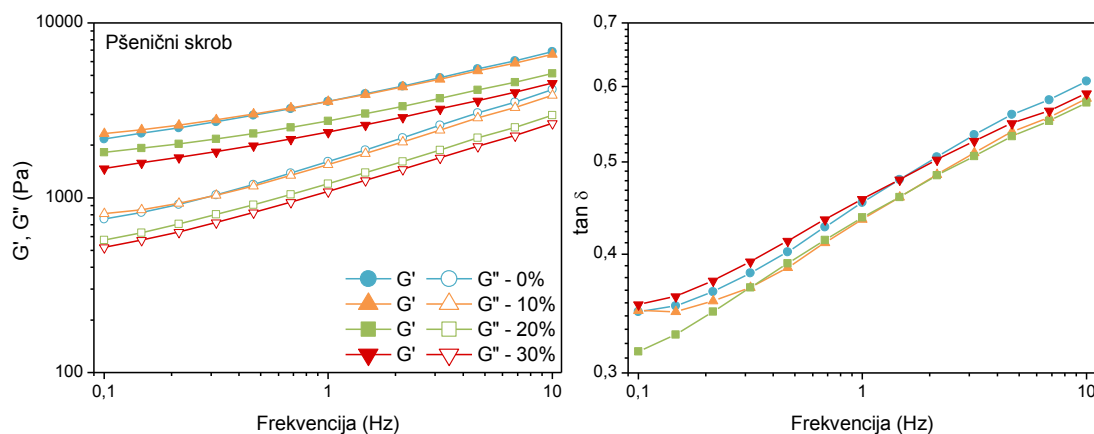
G' – elastični modul, G'' – viskozni modul, $\tan \delta = G'' / G'$.

Posmatrajući linearni viskoelastični region primećuje se da dodatak pšeničnog skroba dovodi do naglog opadanja limita napona smicanja, tj. prinosnog napona koji označava granicu između linearnog i nelinearnog ponašanja sistema. Istraživanja drugih autora takođe dovode do zaključka da je nelinearna viskoelastičnost testa posledica porasta udela skrobne frakcije (Yang i sar., 2011; Uthayakumaran i sar., 2002). Uticaj skrobne komponente na nelinearnu viskoelastičnost sistema dovodi se u vezu sa strukturnim promenama unutar samog sistema. Sa jedne strane, dodatak skrobnih granula u hidratisanu glutensku mrežu dovodi do porasta vrednosti elastičnog i viskoznog modula (Song i Zheng, 2007). Taj efekat porasta modula primećuje se samo kod sistema sa 10% pšeničnog skroba. Sa druge strane, skrobnim granulama pripisuje se i osobina da smanjuju konzistenciju strukture formirane od strane glutena, te stoga testa sa većim sadržajem skroba pokazuju slabiju otpornost na primenjenu deformaciju (Watanabe i sar., 2002). Naime, sa porastom udela skrobne frakcije dolazi do agregacije granula i formiranja strukture koja se prepliće sa već postojećom mrežom formiranom od strane hidratisanog glutena, što dovodi do nelinearnog viskoelastičnog ponašanja testa. Sa porastom koncentracije skroba, dolazi do razbijanja agregata skrobnih granula i lokalnih efekata segregacije usled razlika u viskoelastičnosti prostornih struktura glutena i

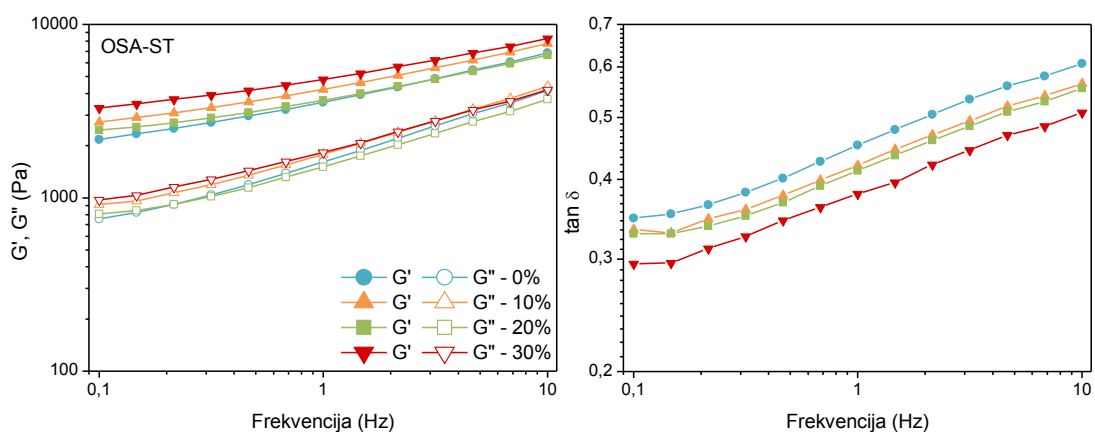
skroba (Yang i sar., 2011), što dovodi do naglog pada vrednosti modula u uzorcima sa većim udelom pšeničnog skroba (20 i 30%).

Za razliku od pšeničnog skroba, dodatak OSA-ST i Pregel OSA-ST nije doveo do naglog smanjenja iznosa linearnog viskoelastičnog regiona sa porastom koncentracije OSA skroba, što ukazuje na postojanje interakcija u sistemu koje su drugačije prirode od onih prisutnih u sistemu gluten/pšenični skrob. Međutim, dodatak Hydrol OSA-ST u koncentraciji od 30% uticao je na smanjenje iznosa linearnog viskoelastičnog regiona u odnosu na uzorke sa 10 i 20% Hydrol OSA-ST, tj. sistem je ispoljavao povećanu popustljivost na velike vrednosti napona smicanja.

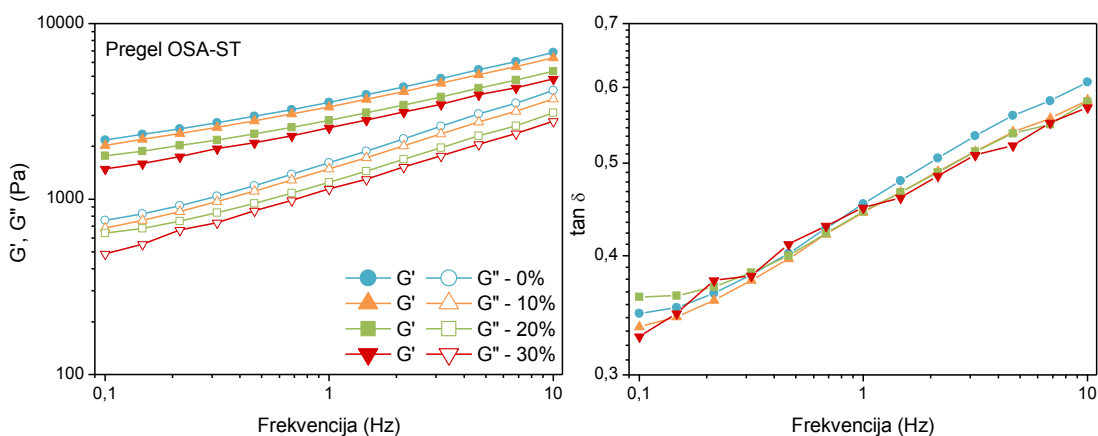
Rezultati "frequency sweep" testa (slike 25-28), kao i rezultati "stress sweep" testa, pokazali su da gluten, kao i gluten supstituisan različitim koncentracijama skroba, ispoljava viskoelastični karakter sa dominantnim vrednostima elastičnog modula (G') u odnosu na vrednosti viskoznog modula (G'') u opsegu primenjenih frekvencija i napona smicanja. Dobijeni rezultati u saglasnosti su sa rezultatima objavljenim od strane drugih autora (Santos i sar., 2005; Yang i sar., 2011; Uthayakumaran i sar., 2002). Vrednosti faznog pomeraja ($\tan \delta = G''/G'$) takođe su ukazivale na postojanje strukture rešetke, kao posledice međumolekulskih interakcija između proteina glutena, kao i interakcija gluten-skrob.



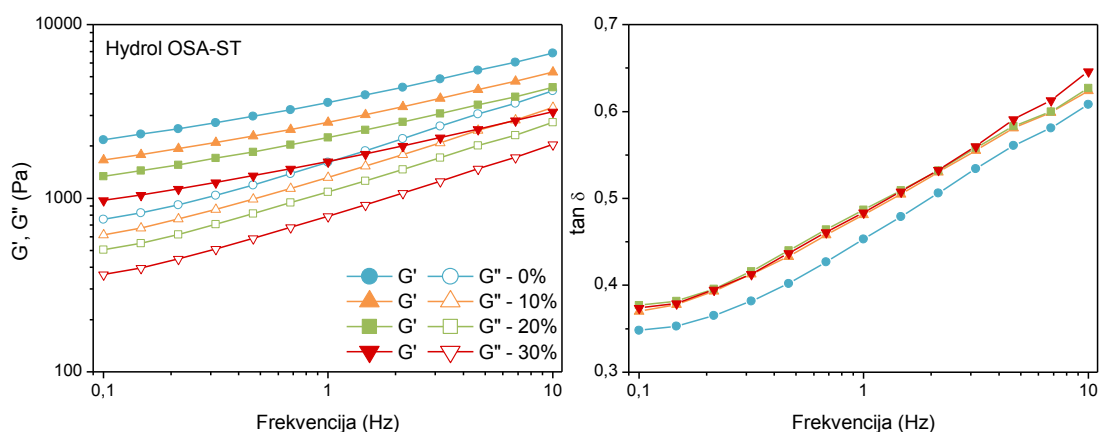
Slika 25. Viskoelastične osobine model sistema gluten/pšenični skrob



Slika 26. Viskoelastične osobine model sistema gluten/OSA-ST



Slika 27. Viskoelastične osobine model sistema gluten/Pregel OSA-ST



Slika 28. Viskoelastične osobine model sistema gluten/Hydrol OSA-ST

Na slikama 25-28 uočava se i porast modula sa porastom frekvencije, i ta zavisnost modula od frekvencije (logaritamski prikaz) fitovana je jednačinom stepenog zakona (2)

i (3). Pri tom su dobijeni parametri K' i K'' , koji predstavljaju koeficijente koji odgovaraju vrednostima modula G' , odnosno G'' na 1 Hz (Peressini i sar., 2000), i n' i n'' koeficijenti, koji predstavljaju nagib krive (Sivaramakrishnan i sar., 2004) i stoga pružaju informaciju o zavisnosti modula od frekvencije (tabela 10). Teorijski, nagib u slučaju postojanja trodimenzionalne strukture rešetke uzorka iznosi 0. Međutim, u slučaju realnih sistema, male vrednosti nagiba takođe ukazuju na strukturu rešetke koja se sastoji od smeše visoko umreženog materijala sa pojedinim neumreženim delovima strukture (Rosell i Foegeding, 2007).

Tabela 10. Vrednosti parametara stepenog zakona primenjenog na rezultate "frequency sweep" testa za model sistem gluten/skrob

Uzorak	$G' = K' f^{n'}$		$G'' = K'' f^{n''}$	
	K'	n'	K''	n''
Kontrolni	3602 ^f	0,264 ^b	1632 ^{fg}	0,404 ^c
Pšenični skrob				
10%	3778 ^f	0,242 ^{ab}	1615 ^{efg}	0,375 ^{abc}
20%	2662 ^{bcd}	0,256 ^b	1200 ^{bc}	0,390 ^{bc}
30%	2496 ^{bc}	0,255 ^b	1128 ^{bc}	0,377 ^{abc}
OSA-ST				
10%	4366 ^g	0,236 ^{ab}	1789 ^{gh}	0,373 ^{ab}
20%	3708 ^f	0,235 ^{ab}	1534 ^{ef}	0,374 ^{ab}
30%	4939 ^h	0,222 ^a	1964 ^h	0,354 ^a
Pregel OSA-ST				
10%	3420 ^{ef}	0,258 ^b	1508 ^{def}	0,388 ^{bc}
20%	2932 ^{cde}	0,258 ^b	1302 ^{cd}	0,381 ^{abc}
30%	2525 ^{bcd}	0,259 ^b	1116 ^{bc}	0,376 ^{abc}
Hydrol OSA-ST				
10%	3025 ^{de}	0,267 ^b	1415 ^{de}	0,391 ^{bc}
20%	2270 ^b	0,268 ^b	1088 ^b	0,387 ^{bc}
30%	1725 ^a	0,266 ^b	821 ^a	0,399 ^{bc}

Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

K' i K'' - koeficijenti koji odgovaraju vrednosti modula G' , odnosno G'' na 1 Hz, n' i n'' - koeficijenti koji predstavljaju nagib krive

Na osnovu vrednosti n' i n'' (tabela 10) uočava se izraženiji porast G'' sa frekvencijom u odnosu na G' , što je dovelo do toga da i parametar $\tan \delta$ raste sa porastom frekvencije. S obzirom da je zavisnost od frekvencije bila najizraženija kod kontrolnog uzorka (glutena bez dodatka skroba), u pojedinim slučajevima (slike 25 i 27) vrednost $\tan \delta$ kontrolnog uzorka pri manjim frekvencijama bila je niža od vrednosti $\tan \delta$ uzorka sa 30% OSA skroba, dok se ta zavisnost pri višim frekvencijama menjala.

Prema rezultatima "frequency sweep" testova, uticaj dodatka skrobova na viskoelastične osobine glutena bio je jače izražen u prisustvu većih koncentracija skroba, dok kod dodatka skroba u koncentraciji od 10%, efekat porasta ili smanjenja modula nije bio statistički značajan ($p > 0,05$). Jedini izuzetak bio je sistem sa Hydrol OSA-ST, kod kojeg je uticaj dodatka OSA skroba bio uočljiv već pri malim koncentracijama. Porast udela pšeničnog skroba doveo je do smanjenja modula elastičnosti, što je bilo u saglasnosti sa istraživanjima Uthayakumaran i sar. (2002). Naime, Uthayakumaran i sar. (2002) su vršili ispitivanje promena u reološkom ponašanju smeša glutena i skroba različitih koncentracija, koje su bile pripremljene na dva načina: upotrebom konstantne količine vode i optimalne količine vode koja odgovara moći upijanja vode sistema. Kada su smeše bile pripremane sa optimalnom količinom vode, porast koncentracije skroba vodio je do porasta modula elastičnosti. Nasuprot tome, priprema sa konstantnom količinom vode uticala je da porast koncentracije skroba u smeši izazove smanjenje modula elastičnosti.

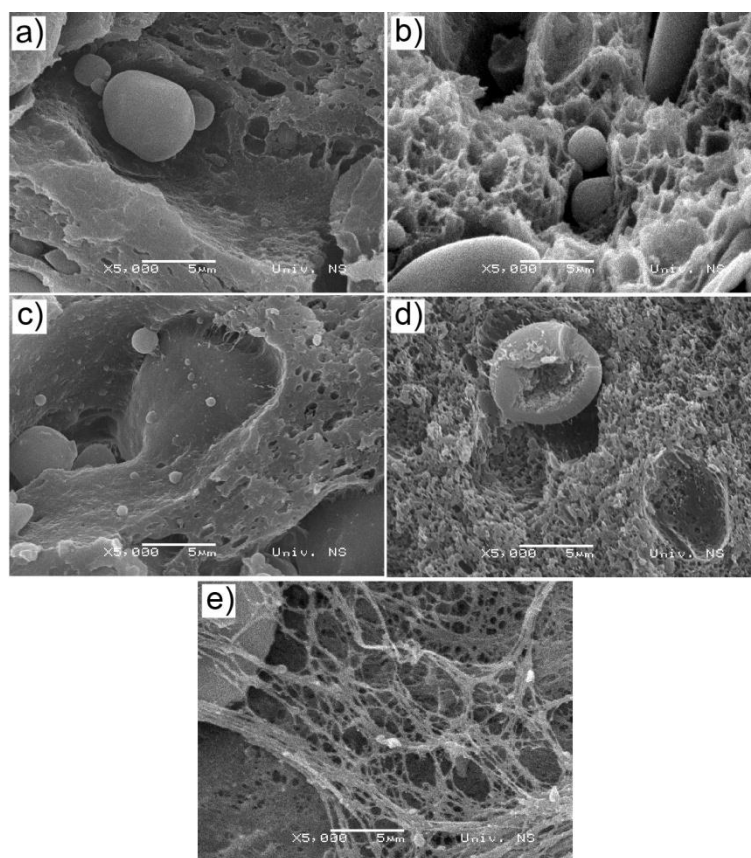
Dodatak OSA skrobova izazvao je drugačiji efekat na viskoelastičnost glutena od pšeničnog skroba, što potvrđuje značajnu ulogu skroba u formiranju strukture testa. Činjenica da dodavanje različitih skrobova istoj količini i vrsti glutena dovodi u pojedinim slučajevima do porasta, a u pojedinim do smanjenja vrednosti elastičnog modula, dovodi do zaključka da su promene u reološkom ponašanju posledica interakcija skrob-voda, skrob-gluten, kao i kombinacije pomenutih interakcija (Petrofsky i Hosenev, 1995).

Dodatak OSA-ST skroba u gluten, nasuprot dodatku pšeničnog skroba, doveo je do povećanja vrednosti oba modula (slika 26), kao i vrednosti koeficijenata K' i K'' . Pored pomenutog, prisustvo OSA-ST skroba smanjilo je zavisnost modula od primenjene frekvencije. Veće vrednosti elastičnog modula i koeficijenta K' i manja zavisnost od frekvencije ukazuju na veću krutost sistema. Veća otpornost sistema na primenjene male vrednosti deformacije posledica je interakcija gluten-OSA-ST, kao i formiranja prostorne strukture između granula OSA skroba i zaostalih granula pšeničnog skroba.

Pored pomenutog, kod sistema sa 20% OSA-ST primećen je pad vrednosti modula G' i G'' u odnosu na sisteme sa 10 i 30% OSA-ST. Prema istraživanjima Fitzsimons i sar. (2008) nekontinualne varijacije u reološkom ponašanju mogu se interpretirati kao posledica interakcija između komponenti sistema.

Na osnovu izgleda SEM mikrofotografije može se primetiti da dodatak OSA-ST ne ometa kontinualnost glutenske mreže (slika 29c).

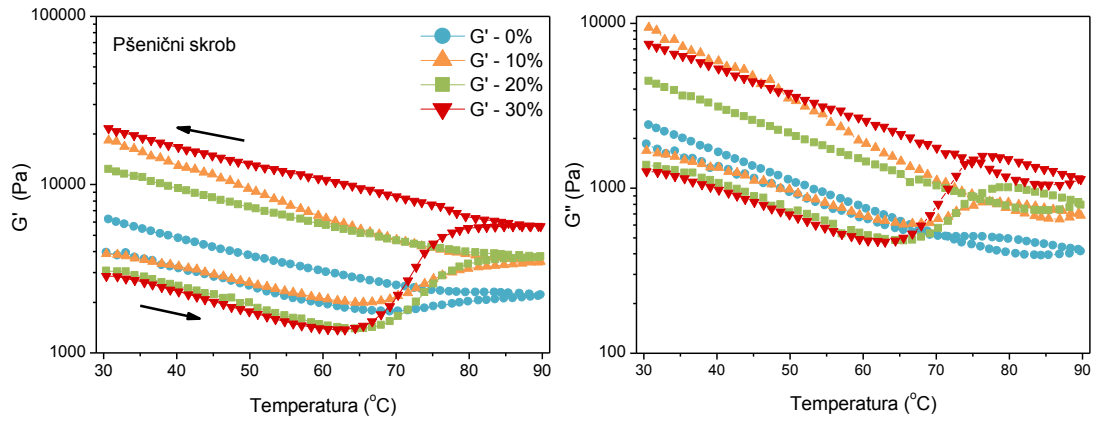
Nasuprot tome, OSA skrobovi koji su bili rastvorljivi u hladnoj vodi (Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST) doveli su do slabljenja strukture glutena. I kod drugih emulgjujućih polisaharida i proteina, kao što su HPMC (Rosell i Foegeding, 2007) i sojini proteini (Roccia i sar., 2009), primećen je efekat smanjivanja vrednosti elastičnog modula glutena.



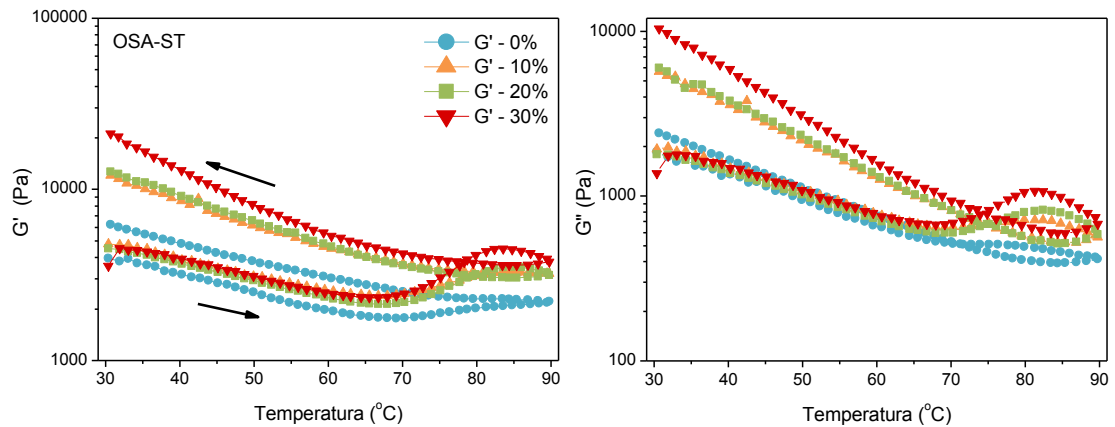
Slika 29. Mikrostruktura glutena (a), glutena sa 30% pšeničnog skroba (b), glutena sa 30% OSA-ST (c), glutena sa 30% Pregel OSA-ST (d), glutena sa 30% Hydrol OSA-ST (e)

Prema izgledu mikrostrukture sistema (slike 29d-e) kod uzoraka koji su sadržali Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST kontinualnost glutenske mreže bila je prekinuta. Dok je u slučaju Pregel OSA-ST došlo do interferencije unutar glutenske mreže i obrazovanja poroznije mreže, u slučaju Hydrol OSA-ST došlo je i do razblaživanja glutenske mreže koja je bila manje gustine. Pošto su poroznije mreže karakteristika slabijih testa, rezultati analize strukture glutena bili su u saglasnosti sa rezultatima reoloških istraživanja.

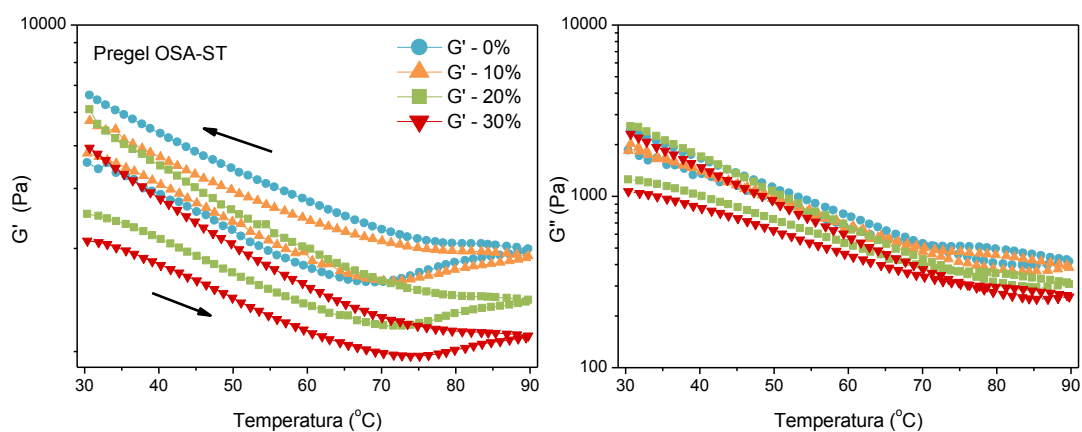
Termoreološko ponašanje glutena (slike 30-33) u prisustvu pšeničnog i OSA skroba praćeno je pri konstantnim vrednostima frekvencije i napona smicanja koji je bio u linearnom viskoelastičnom regionu.



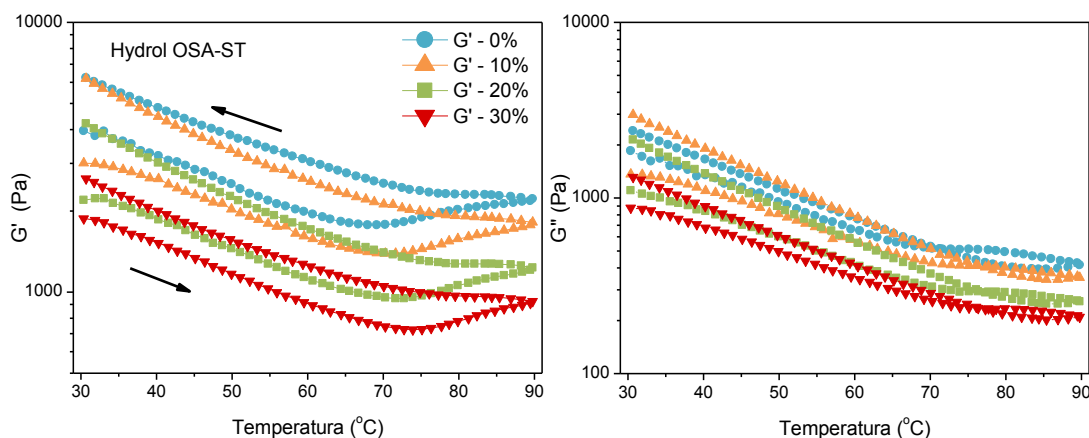
Slika 30. Promena elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula sa temperaturom u model sistemu gluten/pšenični skrob



Slika 31. Promena elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula sa temperaturom u model sistemu gluten/OA-ST



Slika 32. Promena elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula sa temperaturom u model sistemu gluten/Pregel OSA-ST



Slika 33. Promena elastičnog (G') i viskoznog (G'') modula sa temperaturom u model sistemu gluten/Hydrol OSA-ST

Tokom zagrevanja od 30 do 69 °C došlo je do smanjivanja vrednosti elastičnog modula glutena, nakon čega je, tokom daljeg zagrevanja, došlo do porasta vrednosti modula. Ove promene bile su posledica odigravanja dva fenomena: toplotne denaturacije glutena i želatinizacije skroba (Dreese i sar., 1988). Porast temperature doveo je do odmotavanja makromolekula proteina i pada vrednosti elastičnog i viskoznog modula (Rosell i Foegeding, 2007; Hayta i Schofield, 2004; Domenek i sar., 2002). Takva konformacija glutena dovela je do veće izloženosti hidrofobnih zona proteina i povoljnijih uslova za nastanak hidrofobnih interakcija, ali i reorganizacije disulfidnih veza, što je dovelo do agregacije proteina (Domenek i sar., 2002) i porasta elastičnog modula. Istovremeno sa koagulacije glutena u prostoru između skrobnih granula dolazi

i do transfera vode iz glutena do granula skroba (zaostalih u glutenu nakon separacije u količini od 12,1% računato na suhu materiju) i njihovog bubrenja, što takođe dovodi do povećanja vrednost modula (Dreese i sar., 1988). Stoga je sa porastom koncentracije skroba u sistemima sa pšeničnim skrobom i OSA-ST dolazilo do pomeranja minimuma na vrednost temperature od 64 °C i izraženijeg porasta modula na temperaturama višim od 64 °C. Nasuprot tome, dodatak Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST granula doveo je do pomeranja minimuma temperature na 73 °C i slabije izraženog porasta elastičnog modula. S obzirom da su skrobovi Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST već želatinizirani i da ne ispoljavaju maksimalni viskozitet, blagi porast modula bio je posledica promena u strukturi samog glutena, kao i bubrenja granula pšeničnog skroba zaostalih nakon separacije.

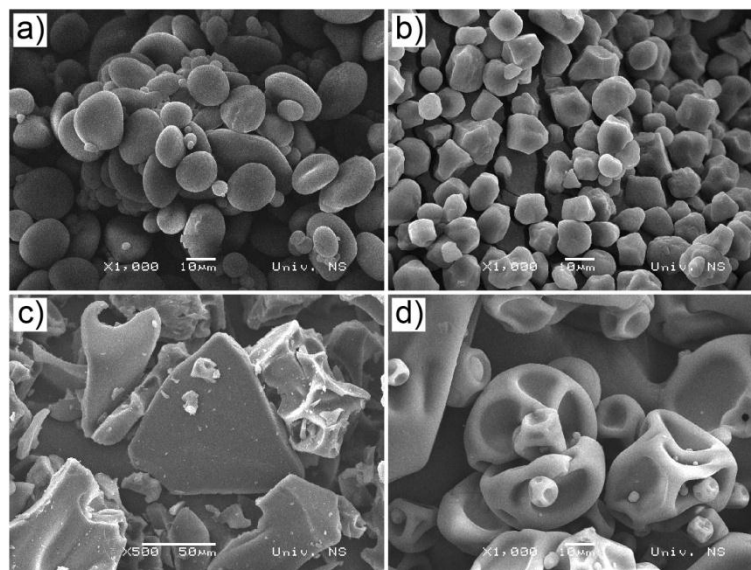
Prilikom hlađenja od 90 do 30 °C došlo je do ravnomernog porasta G' kod svih ispitivanih uzoraka. Prema Rosell i Foegeding (2007) povećanje modula kod glutena mogao bi biti posledica postojanja privlačnih sila (vodoničnih, van der Walsovih) između lanaca glutena. Osim pomenutog, povećanje G' u toku hlađenja bilo je i posledica retrogradacije skroba.

5.3. Uticaj OSA skrobova na reološke i strukturne osobine gela pšeničnog skroba

Uticaj dodatka OSA skrobova (slika 34b-d) na osobine pšeničnog skroba (slika 34a) praćen je pripremanjem gelova u kojima je 0, 10 i 20% pšeničnog skroba zamenjeno OSA skrobovima. Ispitivanja sa procentom zamene od 30% nisu prikazana jer je u slučaju dodatka Hydrol OSA-ST dolazilo do prevelikog slabljenja strukture gela što je onemogućavalo sprovođenje pojedinih analiza.

5.3.1. Rastvorljivost, moć bubrenja i kapacitet vezivanja vode

Uticaj OSA skrobova na rastvorljivost, moć bubrenja i kapacitet vezivanja vode pšeničnog skroba sumirana je u tabeli 11. Rastvorljivost pšeničnog skroba statistički je značajno ($p \leq 0,05$) bila promenjena u prisustvu OSA-ST i Hydrol OSA skroba, dok su moć bubrenja i kapacitet vezivanja vode, kao parametri koji ukazuju na sposobnosti skrobne granule da upije vodu i poveća zapreminu, statistički značajno ($p \leq 0,05$) rasli sa prisustvom i porastom koncentracije OSA-ST i Pregel OSA-ST skrobova.



Slika 34. Mikrostruktura granula pšeničnog (a), OSA-ST (b), Pregel OSA-ST (c) i Hydrol OSA-ST (d) skroba

Dodatak OSA-ST skroba doveo je do smanjenja rastvorljivosti i povećanja moći bubrenja i kapaciteta vezivanja vode skroba. Razlog tome je činjenica da je OSA-ST po svojoj strukturi amilopektin za kog je karakteristično veće bubrenje granule, a time i veća otvorenost strukture, što omogućava bržu dalju penetraciju vode (Gupta i sar., 2009) i slabije sile asocijacije unutar granule (Ikegwu i sar., 2009).

Tabela 11. Uticaj OSA skrobova na rastvorljivost, moć bubrenja i kapacitet vezivanja vode model sistema pšenični škrob/OSA-skrob

Uzorak	Rastvorljivost (%)	Moć bubrenja (g/g)	Kapacitet vezivanja vode (g/g)
Kontrolni (pšenični škrob)	9,58 ^c	12,24 ^a	11,06 ^a
OSA-ST			
10%	7,40 ^a	14,48 ^{bc}	13,42 ^b
20%	7,82 ^{ab}	20,72 ^d	19,10 ^c
Pregel OSA-ST			
10%	9,47 ^c	15,26 ^c	13,82 ^b
20%	9,16 ^{bc}	20,24 ^d	18,38 ^c
Hydrol OSA-ST			
10%	17,06 ^d	13,48 ^{ab}	11,18 ^a
20%	24,18 ^e	14,20 ^{bc}	10,76 ^a

Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

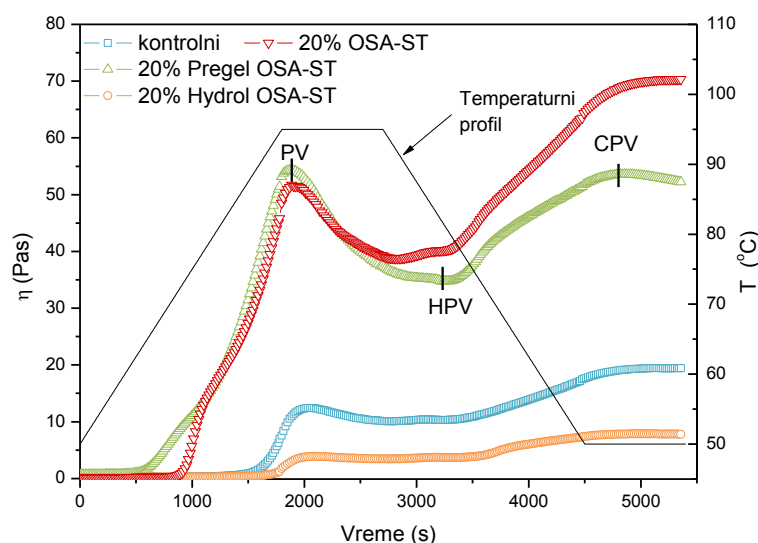
Osim pomenutog, OSA-ST je i hemijski modifikovan u reakciji esterifikacije, a Bhosale i Singhal (2007) su dokazali da modifikacija sa OS utiče na narušavanje kristalne strukture, što dovodi do povećanja kapaciteta vezivanja vode.

Za razliku od OSA-ST skroba, Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST su rastvorljivi u hladnoj vodi, pa se u takvim sistemima mogao očekivati porast parametra rastvorljivosti. Međutim, samo je prisustvo Hydrol OSA-ST dovelo do porasta rastvorljivosti sistema, dok je prisustvo Pregel OSA-ST statistički neznačajno ($p > 0,05$) smanjilo rastvorljivost, ali je značajno povećalo moć bubrenja sistema. Obzirom na osobine koje je ispoljavao Pregel OSA-ST, njegovo ponašanje može se tumačiti i primenom teorija razvijenih za ponašanje hidrokoloida. Tako, Rosell i sar. (2011) tumače razlike u uticaju hidrokoloida na rastvorljivost pirinčanog skroba interakcijama između amiloze i hidrokoloida, koji ostaju asocirani sa skrobnom granulom i na taj način doprinose smanjenju količine materije rastvorljive u vodi. Prema Song i sar. (2006) uticaj hidrokoloida na moć bubrenja sistema može biti i artefakt. Naime, povećanje viskoziteta kontinualne faze može ometati sedimentaciju nabubrelih granula tokom centrifugiranja.

Međutim, iako je Pregel OSA-ST značajno povećao viskozitet kontinualne faze (slika 23, str 59), on nije uticao na ometanje sedimentacije, već je njegovo prisustvo dovelo do porasta moći bubrenja, što je verovatno bilo posledica strukture njegove granule, čija je arhitektura bila značajno oštećena i stoga lakše vezivala vodu i bubrila. Za razliku od Pregel OSA-ST, Hydrol OSA-ST je usled pretrpljene hidrolize bio rastvorljiv u vodi, a blagi porast moći bubrenja pri koncentraciji od 20% verovatno je bio posledica bubrenja ostatka granula koje su bile oštećene usled sušenja u spreju, a koje su izbegle hidrolizu.

5.3.2. Želatinizacija i retrogradacija skroba

Viskozitetni profili pšeničnog skroba, samog, kao i sa dodatkom OSA skrobova, prikazani su na slici 35, dok su statistički obrađene vrednosti parametara krive sumirani u tabeli 12. Profili čistih OSA skrobova prikazani su u poglavlju 5.1. (slika 23, str 59).



Slika 35. Profili pastiranja pšeničnog skroba sa dodatkom različitih OSA skrobova

Prema istraživanjima Crosbie (1991) vrednost maksimalnog viskoziteta (PV) u dobroj je korelaciji sa parametrom moć bubrenja, što je i potvrđeno u ovom radu, s obzirom da su smeše sa OSA-ST i Pregel OSA-ST pokazivale porast oba parametra u odnosu na kontrolni uzorak – pšenični skrob. Ova dva OSA skroba uticala su i na porast viskoziteta tople (HPV) i hladne (CPV) paste, kao i na smanjenje temperature želatinizacije kontrolnog uzorka. Opšte je poznato da su sadržaj amiloze i parametri krive viskoziteta (PV , HPV , CPV) u negativnoj korelaciji (Sweedman i sar., 2013; Sasaki, 2005), te je stoga dodatak OSA-ST skroba koji se sastoji od amilopektinskih lanaca doveo po porasta viskoziteta uzorka. OSA-ST ispoljio je i ostale osobine karakteristične za skrobove voskastog kukuruza, kao što su sniženje vrednosti temperature želatinizacije i povećanje iznosa razrušavanja. Međutim, smanjenje iznosa retrogradacije, karakteristično za ovu vrstu skrobova, izostalo je. Razlog tome je činjenica da OSA-ST ispoljava osobine i skroba voskastog kukuruza i hemijski modifikovanog skroba, tj. skroba supstituisanog natrijum-oktenilsukcinatom. Inkorporacija OS grupa dovodi do prekida linearnosti amiloze i razgranatih delova amilopektina, što utiče na porast viskoziteta paste i smanjenje temperature želatinizacije. To znači da je u slučaju OSA-ST skroba porast parametara viskoziteta i pomeranje temperature želatinizacije ka nižim vrednostima bila posledica i porekla skroba i njegove modifikacije. Međutim, nagli porast viskoziteta skrobne paste pri hlađenju bio je posledica OSA modifikacije (Segura-Campos i sar., 2010).

Tabela 12. Vrednosti parametara viskozitetnog profila pšeničnog skroba sa dodatkom OSA skrobova

Uzorak	T_g (°C)	PV (Pas)	Iznos razrušavanja (Pas)	Iznos retrogradacije (Pas)	Totalni iznos retrogradacije (Pas)
Kontrolni (pšenični skrob)	86,35 ^e	12,31 ^c	2,29 ^c	9,14 ^b	6,85 ^c
OSA-ST					
10%	71,72 ^b	30,68 ^d	8,01 ^d	21,38 ^d	13,37 ^e
20%	71,84 ^b	51,86 ^e	12,77 ^e	31,80 ^e	19,04 ^f
Pregel OSA-ST					
10%	76,97 ^c	31,29 ^d	8,24 ^d	18,17 ^c	9,94 ^d
20%	63,80 ^a	55,02 ^f	19,58 ^f	19,12 ^c	-0,46 ^a
Hydrol OSA-ST					
10%	85,98 ^d	6,25 ^b	0,98 ^b	5,77 ^a	4,79 ^b
20%	86,33 ^e	3,90 ^a	0,43 ^a	4,41 ^a	3,98 ^b

Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

T_g - temperatura želatizacije, PV - maksimalni viskozit, PV-HPV - iznos razrušavanja, CPV-HPV - iznos retrogradacije, CPV-PV - totalni iznos retrogradacije

Pored toga, krive želatizacije pšeničnog skroba sa dodatkom OSA-ST imale su karakterističan profil sa malim pikom na temperaturi od 58 °C, koji odgovara maksimumu bubrenja granula OSA-ST, a naredni, veći pik, maksimumu bubrenja granula pšeničnog skroba.

Sa druge strane, porast vrednosti parametara viskoziteta sa dodatkom Pregel OSA-ST nije bio posledica izraženijeg bubrenja granula OSA skroba, pošto su one već bile želatizirane. Ponašanje sistema pšenični skrob/Pregel OSA-ST može se tumačiti činjenicom da je on po prirodi dvofazan, pri čemu je Pregel OSA-ST, kao komponenta rastvorljiva u vodi, raspoređena u kontinualnoj fazi. Tokom bubrenja granulâ pšeničnog skroba smanjuje se sadržaj vode, koja je na raspolaganju Pregel OSA-ST, i njegova prividna koncentracija raste. Time raste viskozitet kontinualne faze, a i ukupni viskozitet suspenzije. Sličan fenomen zapažen je i pri ispitivanju uticaja β -glukana (Banchathanakij i Supphantharika, 2009), kao i uticaja guar i ksantan gume (Achayuthakan i Supphantharika, 2008) na želatizaciju skroba. Banchathanakij i Supphantharika (2009) takođe navode da rezultujući porast viskoziteta dovodi do povećanog uticaja sila smicanja na sistem, u odnosu na iste koje su delovale na sistem suspenzija skroba u vodi. To prouzrokuje gubitak integriteta granula i pad viskoziteta tople paste, kao i oslobađanje molekula skroba iz granule u okolni rastvor, pri čemu se prvo oslobađa amiloza (Banchathanakij i Supphantharika, 2009). Prema Banchathanakij i

Supphantharika (2009) porast viskozитета hladne paste kod uzorka sa dodatkom β -glukana u odnosu na kontrolni uzorak pirinčanog skroba bio je posledica interakcija između β -glukana i oslobođenih molekula skroba.

Nasuprot OSA-ST i Pregel OSA-ST, dodatak Hydrol OSA-ST doveo je do opadanja vrednosti parametara viskozitetnog profila. Razlog tome je smanjena molekulska masa Hydrol OSA-ST. Naime, viskozitet opada sa smanjenjem molekulske mase, u slučaju da su svi ostali parametri sistema konstantni (Sweedman i sar., 2013). Prilikom ispitivanja uticaja kiseline hidrolize na viskozitetne profile skroba voskastog kukuruza koji je nakon toga OSA modifikovan (Song i sar., 2010), kao i profile skroba tapioke i pirinča (Thirathumthavorn i Charoenrein, 2006), došlo se do istog zaključka. Takođe je utvrđeno da OSA skrobovi hidrolizovani kiselinom imaju povišen viskozitet tople paste usled prisustva OS grupa i većeg uticaja stepena supstitucije na ponašanje sistema u odnosu na stepen hidrolize (Sweedman i sar., 2013). Stoga su Hydrol OSA-ST pokazivali niže vrednosti iznosa razrušavanja u poređenju sa kontrolnim uzorkom.

Uticaj dodatka OSA skrobova na želatinizaciju (tabela 13) i retrogradaciju (tabela 14) pšeničnog skroba ispitan je i upotrebom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije.

Tabela 13. Uticaj OSA skrobova na želatinizaciju pšeničnog skroba

Uzorak	ΔH_g (J/g)	T_0 (°C)	T_p (°C)
Kontrolni (pšenični skrob)	9,82 ^e	57,1 ^{ab}	62,7 ^{ab}
OSA-ST			
10%	7,64 ^d	56,4 ^a	62,1 ^a
20%	5,58 ^{bc} +0,49 ^a	56,6 ^a +70,6 ^d	62,2 ^a +74,2 ^d
Pregel OSA-ST			
10%	7,27 ^d	58,0 ^{bc}	63,0 ^b
20%	6,94 ^{cd}	58,4 ^c	63,6 ^c
Hydrol OSA-ST			
10%	8,47 ^{de}	57,7 ^{bc}	63,2 ^{bc}
20%	5,19 ^b	58,5 ^c	63,8 ^c

Rezultati predstavljaju srednju vrednost dva ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

ΔH_g - entalpija želatinizacije, T_0 - temperatura početka želatinizacije, T_p - temperatura maksimuma želatinizacije

Prema Sasaki (2005) skrobovi sa većim sadržajem amiloze imaju veći udeo amorfnih regiona u odnosu na kristalna područja, što snižava temperaturu početka želatinizacije i endotermnu entalpiju želatinizacije. Na osnovu toga, dodatak OSA-ST skroba koji se sastoji skoro u potpunosti od molekula amilopektina trebao bi da dovede po povećanja temperature početka želatinizacije i entalpije topljenja kristalnih regiona.

Tabela 14. Uticaj OSA skrobova na retrogradaciju pšeničnog skroba

Uzorak	ΔH_r (J/g)	T_{or} (°C)	T_{pr} (°C)
Kontrolni (pšenični skrob)	2,31 ^{de}	52,8 ^a	63,0 ^a
OSA-ST			
10%	2,24 ^d	52,8 ^a	63,9 ^b
20%	2,42 ^e	53,1 ^a	63,6 ^b
Pregel OSA-ST			
10%	2,10 ^c	52,6 ^a	62,9 ^a
20%	1,83 ^b	52,6 ^a	62,8 ^a
Hydrol OSA-ST			
10%	2,07 ^c	54,3 ^b	63,6 ^b
20%	1,09 ^a	54,3 ^b	63,8 ^b

Rezultati predstavljaju srednju vrednost dva ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

ΔH_r - entalpija retrogradacije, T_{or} - temperatura početka topljenja retrogradiranog skroba, T_{pr} - temperatura maksimuma topljenja retrogradiranog skroba

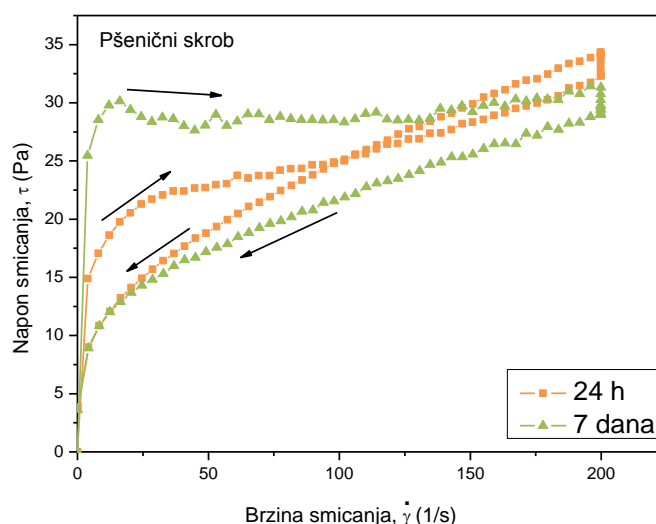
Međutim, dodatak OSA-ST skroba uticao je na smanjenje energije potrebne za topljenje kristalne strukture, dok smanjenje temperature početka želatinizacije nije bilo statistički značajno ($p > 0,05$). Razlog tome može biti činjenica da OSA-ST osim lanaca amilopektina sadrži i bočne OS grupe čije prisustvo slabi interakcije između makromolekula skroba i omogućava bubrenje i topljenje granula na nižim temperaturama i sa nižim iznosom energije (Sweedman i sar., 2013). Osim pomenutog, Sasaki (2005) je utvrdio da u mešavinama skrobova koje sadrže isti odnos amiloze i amilopektina kao i skrob dobijen ukrštanjem voskaste i ne-voskaste pšenice dolazi do smanjenja entalpije i temperature želatinizacije. Razlog tome su razlike u homogenosti sistema. U takvim sistemima prvo dolazi do topljenja granule sa većim sadržajem amiloze (granule pšeničnog skroba), a zatim do topljenja granule skroba voskastog kukuruza, što je u ovom radu prouzrokovalo i pojavu drugog endotermnog pika na temperaturi 70,6 °C, koji je odgovarao topljenju OSA-ST skroba što se uočava poređenjem sa vrednostima temperature topljenja na slici 22, str. 58.

Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST skrobovi, takođe su smanjivali iznos entalpije želatinizacije, što se i moglo očekivati, s obzirom da je zbog pretrpljenih fizičkih modifikacija integritet njihovih granula bio narušen (slika 34) te ih je karakterisalo odsustvo kristalne strukture (slika 22, str. 58). Međutim, njihovo prisustvo ometalo je prodiranje vode u granule pšeničnog skroba, što je uticalo na povećanje temperature početka želatinizacije.

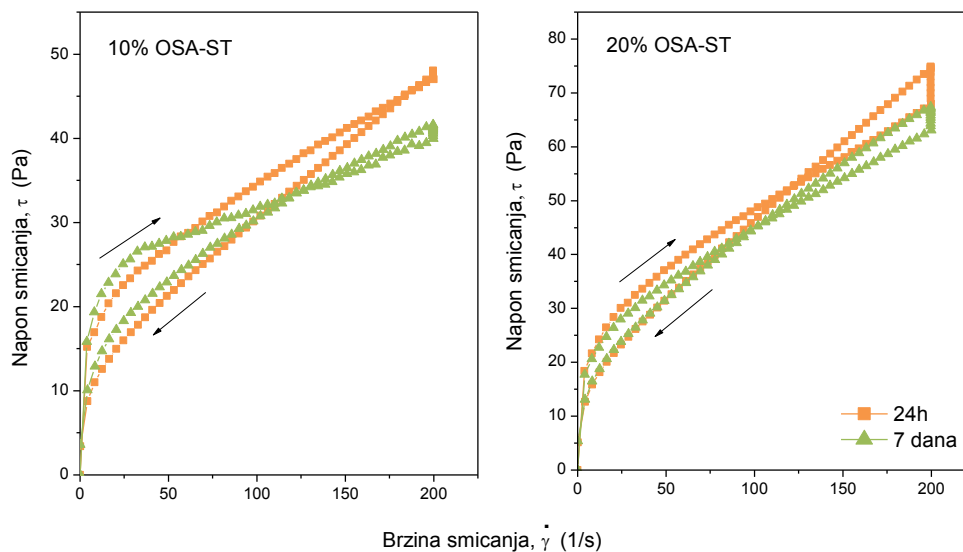
Nakon čuvanja želatiniziranih granula na temperaturi od 4 °C tokom 14 dana, praćene su karakteristične temperature i promena entalpije retrogradiranog skroba (tabela 14). Retrogradirani uzorci pokazivali su niže vrednosti temperature i entalpije u poređenju sa vrednostima tokom želatinizacije, što ukazuje da je struktura izgrađena tokom čuvanja imala slabiju kristaličnost od prvobitne strukture sistema. S obzirom da su uzorci bili čuvani u dužem vremenskom periodu (duže od dva dana), došlo je i do rekristalizacije molekula amilopektina (Sasaki, 2005). Stoga skrobovi sa većim sadržajem amilopektina više rekristališu u toku dužeg perioda čuvanja, i potrebna je veća energija za topljenje formirane kristalne strukture (Sasaki, 2005). Prema rezultatima iz tabele 14, može se uočiti da dodatak OSA-ST ne dovodi do značajnih promena u rekristalizaciji iako je dodatkom OSA-ST povećan udeo amilopektina u uzorku. Takođe se uočava da dodatak Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST dovodi do smanjenja retrogradacije pšeničnog skroba, što je verovatno bilo posledica postojanja sternih smetnji usled prisustva OS grupa. Dobijeni rezultati ukazuju na to da bi dodatak ovih OSA modifikata skroba mogao da utiče na usporavanje starenja hrane koja sadrži pšenični skrob.

5.3.3. Promene reoloških osobina skrobnog gela tokom starenja

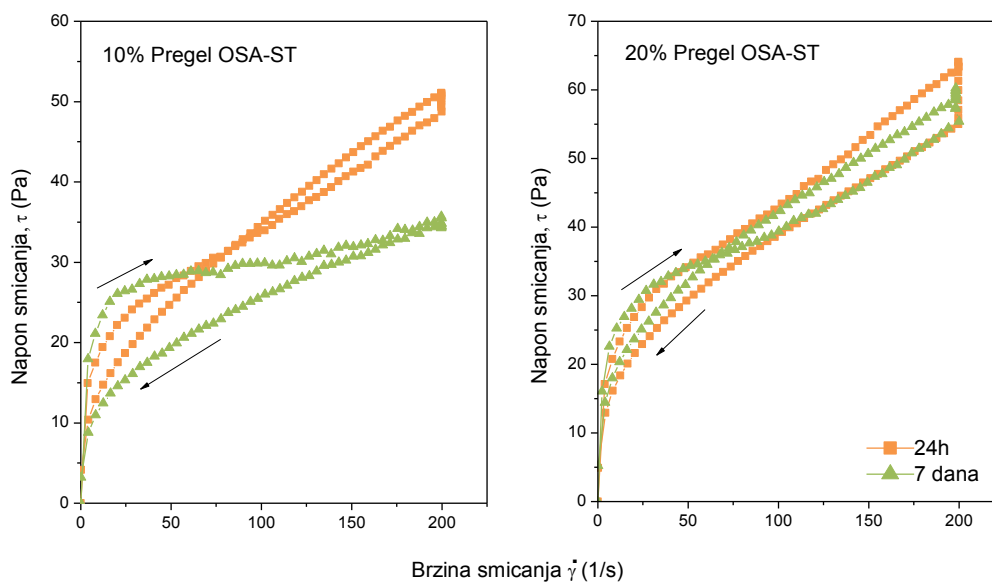
Krive proticanja 4% paste pšeničnog skroba i pšeničnog skroba sa dodatkom OSA skrobova nakon 1 i 7 dana čuvanja na 4 °C prikazane su na slikama 36-39.



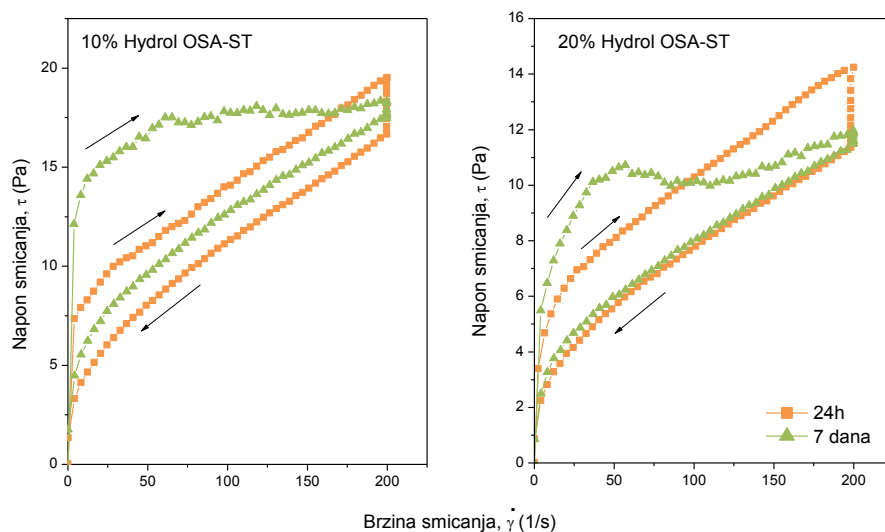
Slika 36. Krive proticanja 4% paste pšeničnog skroba



Slika 37. Krive proticanja 4% paste pšeničnog skroba sa dodatkom 10 i 20% OSA-ST



Slika 38. Krive proticanja 4% paste pšeničnog skroba sa dodatkom 10 i 20% Pregel OSA-ST



Slika 39. Krive proticanja 4% paste pšeničnog skroba sa dodatkom 10 i 20% Hydrol OSA-ST

Krive su fitovane Herschel-Bulkley-ovim modelom (1) i dobijeni parametri: prinosni napon (τ_0), koeficijent konzistencije (K), indeks proticanja (n) prikazani su u tabeli 15. Koeficijent determinacije (r^2) pri fitovanju uzlazne krive bio je 0,969-0,994, a pri fitovanju silazne krive 0,997-0,998.

Tabela 15. Vrednosti parametara Herschel-Bulkley modela krivih proticanja skroba sa dodatkom OSA skroba nakon 24 h skladištenja

Uzorak	$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n$							
	Uzlazna kriva				Silazna kriva			
	τ_0 (Pa)	K (Pa s ⁿ)	n	r^2	τ_0 (Pa)	K (Pa s ⁿ)	n	r^2
Kontrolni (pšenični skrob)	2,788 ^c	3,658 ^c	0,390 ^{ab}	0,969	4,228 ^c	1,386 ^c	0,586 ^b	0,998
OSA-ST								
10%	2,481 ^b	5,556 ^e	0,386 ^a	0,987	5,990 ^e	0,936 ^b	0,713 ^d	0,997
20%	3,708 ^d	6,302 ^f	0,431 ^d	0,991	9,174 ^f	1,103 ^b	0,768 ^d	0,997
Pregel OSA-ST								
10%	3,752 ^d	4,796 ^d	0,411 ^{cd}	0,974	5,665 ^d	1,750 ^d	0,613 ^c	0,998
20%	5,605 ^f	4,663 ^d	0,465 ^e	0,977	5,796 ^{de}	3,196 ^e	0,511 ^a	0,997
Hydrol OSA-ST								
10%	1,790 ^a	2,039 ^b	0,398 ^{bc}	0,969	1,820 ^b	0,566 ^a	0,612 ^c	0,998
20%	3,522 ^e	0,396 ^a	0,620 ^f	0,994	1,127 ^a	0,457 ^a	0,584 ^b	0,998

Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

τ_0 - prinosni napon, K - koeficijent konzistencije, n - indeks proticanja

Sve paste pokazivale su pseudoplastično proticanje ($n < 1$) sa prinosnim naponom. Međutim, dok su pojedine paste pokazivale tiksotropno proticanje, tj. razaranje

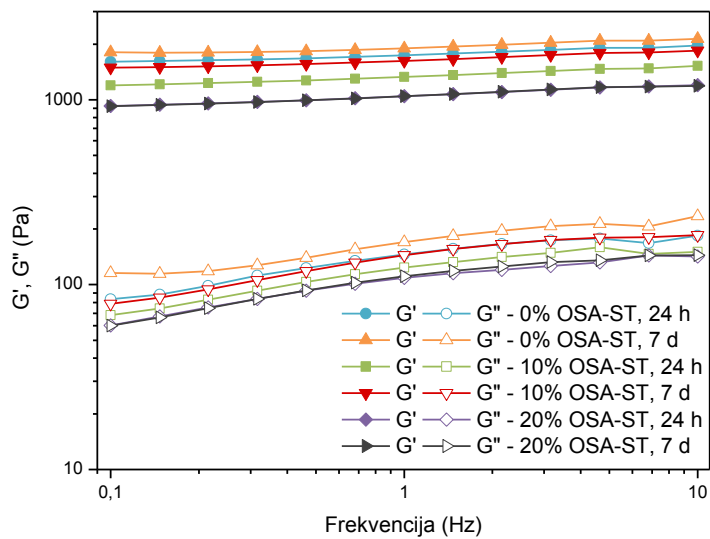
strukture sistema u polju smicanja, pojedine su pokazivale tiksotropno proticanje samo pri niskim brzinama smicanja, dok su pri višim vrednostima brzine smicanja ispoljavale antitiksotropno ponašanje, tj. izgradnju strukture sistema pri delovanju sile smicanja. Antitiksotropno ponašanje skrobnih pasti primećeno je i od strane Achayuthakan i Supphantharika (2008), kao i Tecante i Doublier (1999). Prema Dintzis i sar. (1996) veće količine amilopektina u sistemu odgovorne su za njegovo antitiksotropno ponašanje.

Pojedine uzlazne krive pasti koje su čuvane 7 dana imale su pik pri naponima smicanja od 30 s^{-1} , što ukazuje na napon potreban za razrušavanje strukture sistema, nakon čega sistem slobodno protiče. Pojava pika bila je izraženija kod uzorka koji su duže čuvani, što su zaključili i Banchathanakij i Supphantharika (2009). Pošto takve krive nisu odgovarale ni jednom tipičnom modelu viskoznog ponašanja, one nisu ni bile modelovane.

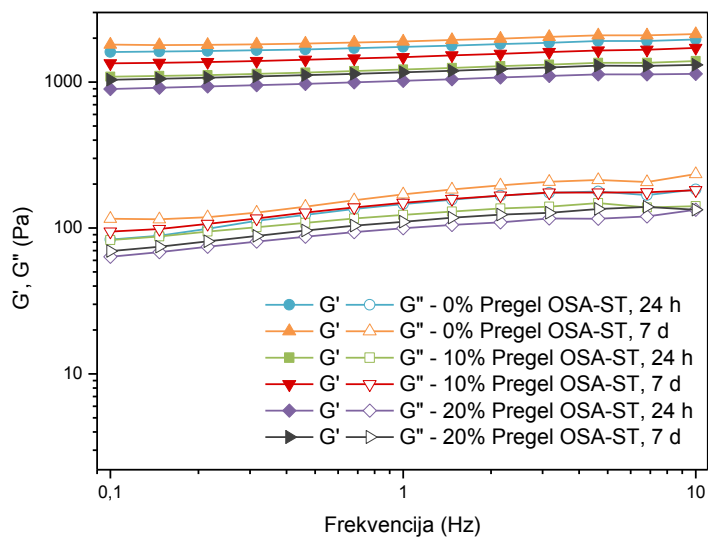
Može se uočiti da su OSA-ST i Pregel OSA-ST povećavali vrednost koeficijenta K , tj. povećavale viskoznost sistema, dok je dodatak Hydrol OSA-ST dovodio do smanjenja viskoziteta. Svi OSA skrobovi povećavali su vrednost parametra τ_0 i n pri višim koncentracijama, tj. podsticali formiranje strukture, ali smanjivali iznos pseudoplastičnosti.

Površina histerezisne petlje kontrolnog, Hydrol OSA-ST, 10% OSA-ST i 10% Pregel OSA-ST se povećavala sa povećanjem vremena skladištenja. Površine histerezisnih petlji OSA-ST i Pregel OSA-ST bile su značajno manje od petlji pšeničnog skroba i sistema koji je sadržao Hydrol OSA-ST, tj. smicanje je neznatno modifikovalo njihovu strukturu, što ukazuje na veliku rezistentnost ovih sistema u smicajnom polju.

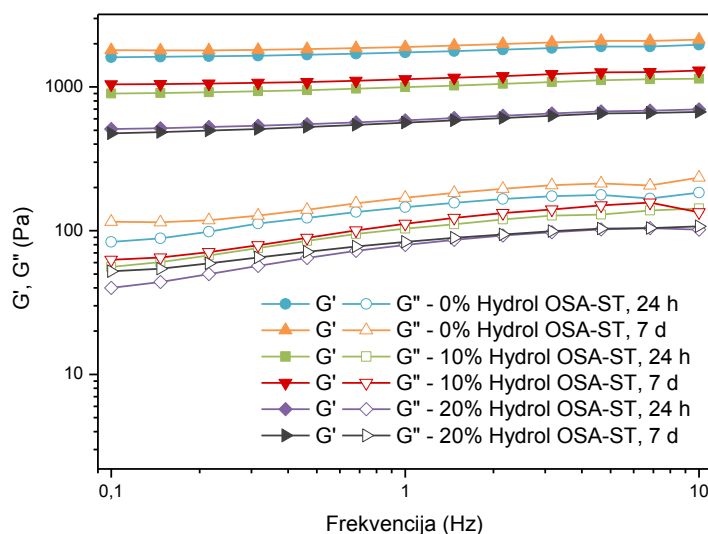
U cilju ispitivanja uticaja OSA skrobova na jačinu 8% gela pšeničnog skroba, kao i na promene u jačini gela tokom starenja, vršena su dinamička oscilatorna (slike 40-42) merenja.



Slika 40. Viskoelastične osobine gela pšeničnog skroba sa dodatkom OSA-ST



Slika 41. Viskoelastične osobine gela pšeničnog skroba sa dodatkom Pregel OSA-ST



Slika 42. Viskoelastične osobine gela pšeničnog skroba sa dodatkom Hydrol OSA-ST

Viskoelastično ponašanje pšeničnog skroba sa dodatkom OSA skrobova (slike 40-42) bilo je tipično za trodimenzionalnu gel strukturu biopolimera (Clark i Ross-Murphy, 1987) gde je G' viši od G'' u oblasti ispitivanih frekvencija, i G' je skoro nezavistan od frekvencije.

Obzirom da se dodatkom OSA skrobova smanjivao udeo amiloze u sistemu takvi gelovi su bili slabiji. Osim pomenutog, bočne OS grupe dodatno su ometale formiranje vodoničnih veza između molekula skroba (Sweedman i sar., 2013). Zbog manje molekulske mase i bolje mobilnosti u kontinualnoj fazi molekuli Hydrol OSA-ST mogli su bolje da ometaju asocijaciju između molekula, te su geli sa dodatkom Hydrol OSA-ST bili najslabiji. Tokom skladištenja, jačina svih gelova je rasla, što se odrazilo na porast elastičnog modula.

5.3.4. Promena čvrstoće skrobnog gela tokom starenja

Kinetika starenja gela praćena je upotrebom TPA testa na uzorcima koji su odležavali 1, 2, 3, 5 i 7 dana na 4 °C. Dobijena kriva modelovana je Avrami-jevom jednačinom (14):

$$\theta = \frac{(H_{\infty} - H_t)}{(H_{\infty} - H_0)} = e^{-kt^n}$$

i pri tom su dobijene vrednosti parametara, koje su sumirane u tabeli 16.

Kao što se može uočiti iz tabele 16, dodatak OSA skrobova uticao je na smanjenje vrednosti $H_{\infty} - H_0$ i konstante k , što ukazuje da su svi OSA skrobovi usporili starenje uzorka (Jiang i sar., 2005). Na osnovu vrednosti parametara, H_0 i H_{∞} , koji ukazuju na početnu i krajnju vrednost jačine gela, uočava se da su svi gelovi pripremljeni sa OSA skrobovima bili slabiji od kontrolnog gela, što je bilo u saglasnosti sa rezultatima dinamičkih oscilatornih merenja.

Tabela 16. Uticaj dodatka OSA skrobova na starenje gela pšeničnog skroba iskazano putem parametara Avrami-jeve jednačine

Uzorak	H_0 (N)	H_{∞} (N)	$H_{\infty} - H_0$ (N)	k (dan ⁻¹)	n
Kontrolni (pšenični skrob)	10,850 ^e	13,770 ^e	2,920 ^f	0,065 ^d	2,365 ^c
OSA-ST					
10%	9,469 ^d	11,354 ^d	1,885 ^d	0,036 ^b	2,286 ^{bc}
20%	7,295 ^{bc}	7,791 ^b	0,496 ^a	0,020 ^a	4,372 ^f
Pregel OSA-ST					
10%	9,248 ^d	11,511 ^d	2,262 ^e	0,063 ^d	2,055 ^{ab}
20%	7,139 ^b	8,366 ^{bc}	1,227 ^{bc}	0,031 ^b	2,652 ^d
Hydrol OSA-ST					
10%	7,569 ^c	8,890 ^c	1,321 ^c	0,064 ^d	1,903 ^a
20%	4,839 ^a	6,032 ^a	1,193 ^b	0,043 ^c	3,057 ^e

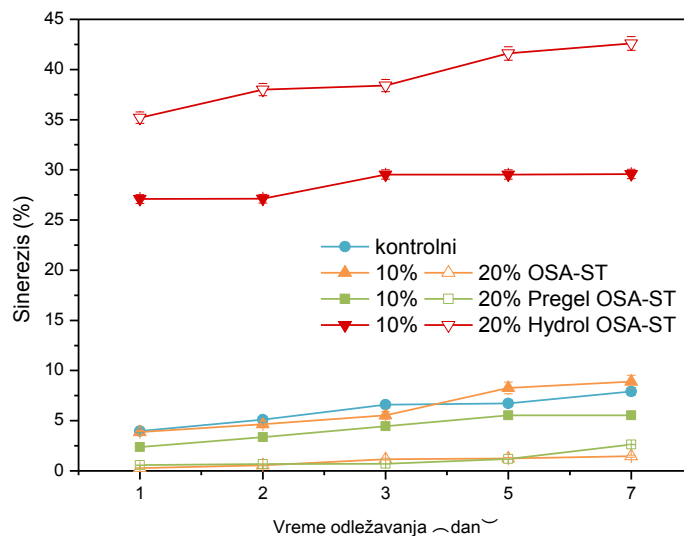
Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

H_0 , H_{∞} , H_t - čvrstoće gela u nultom, beskonačnom i t vremenu, k - konstanta brzine starenja i n - Avrami-jev eksponent.

5.3.5. Promena sinerezisa tokom starenja

Sterne smetnje prouzrokovane prisustvom OS grupa (Sweedman i sar., 2013), kao i povećan udeo amilopektinskih lanaca (Amani i sar., 2005) doveli su i do smanjenog sinerezisa kod OSA-ST i Pregel OSA-ST u odnosu na kontrolni uzorak (slika 43).

Slično su uočili i Sweedman i sar. (2013) prilikom ispitivanja stabilnosti OSA modifikovanih skrobova voskastog kukuruza na procese zamrzavanje-odmrzavanje. Međutim, dodatak Hydrol OSA-ST uticao je na izuzetno povišen sinerezis, što je bilo u saglasnosti sa Segura-Campos i sar. (2010). I Song i sar. (2010) su takođe primetili da sa porastom stepena hidrolize raste i sinerezis. Stoga se osobina usporavanja pojave sinerezisa može očekivati samo kod OSA skrobova koje karakteriše velika molekulska masa.

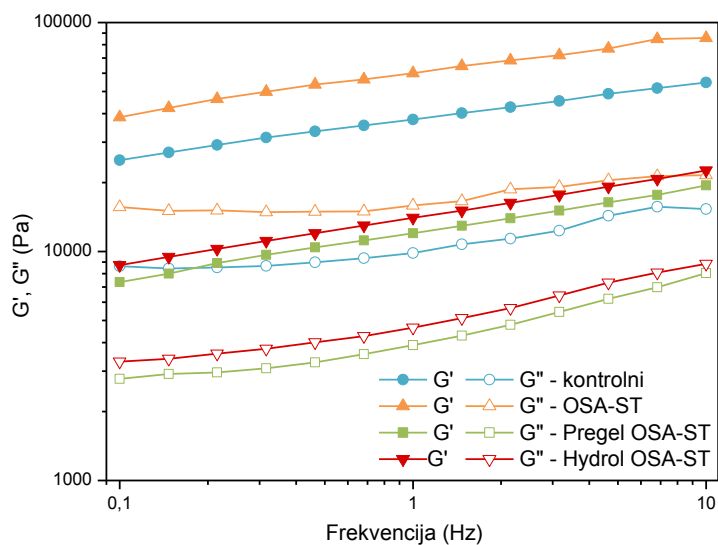


Slika 43. Promena sinerezisa skrobnih gelova sa dodatkom OSA skrobova tokom skladištenja

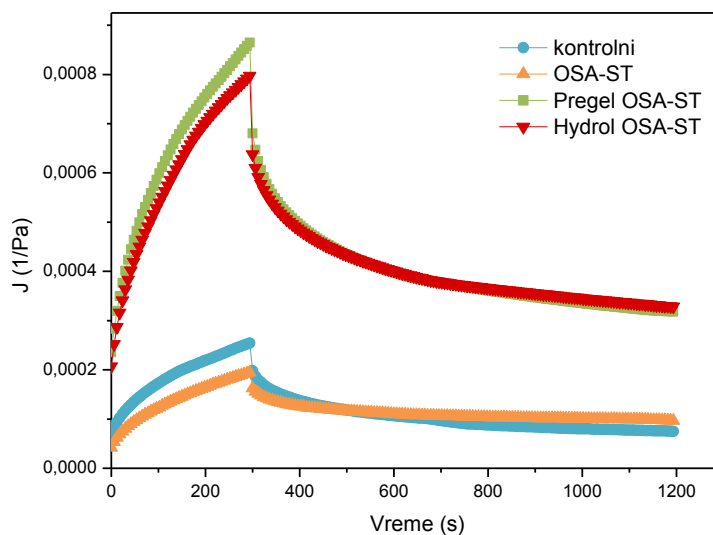
5.4. Uticaj OSA skrobova na reološke osobine model sistema testa

Ispitivanja na model sistemima brašna, koja su se sastojala iz 16,5% nativnog glutenskog brašna i 83,5% pšeničnog skroba, rađena su kako bi se dobio podatak o uticaju zamene pšeničnog skroba OSA skrobovima, bez efekta razblaživanja ostalih komponenti brašna. Naime, u realnom sistemu (pšeničnom brašnu), prilikom zamene dela brašna OSA skrobovima, dolazi do značajnih promena u reološkim osobinama usled razblaživanja komponenti brašna, kao što su gluten i oštećeni skrob (Miyazaki i sar., 2004). Poseban problem predstavlja razblaživanje glutena koji je osnovna komponenta odgovorna za formiranje specifičnih viskoelastičnih osobina testa (Miyazaki i sar., 2006).

Ispitivanja su vršena zamenom 2,5; 5 i 10% pšeničnog skroba OSA skrobovima, a uticaj zamene 10% skroba na rezultate "frequency sweep" testa i testova puzanja i oporavka prikazani su na slikama 44-45.



Slika 44. Viskoelastične osobine model sistema brašna sa dodatkom 10% OSA skrobova

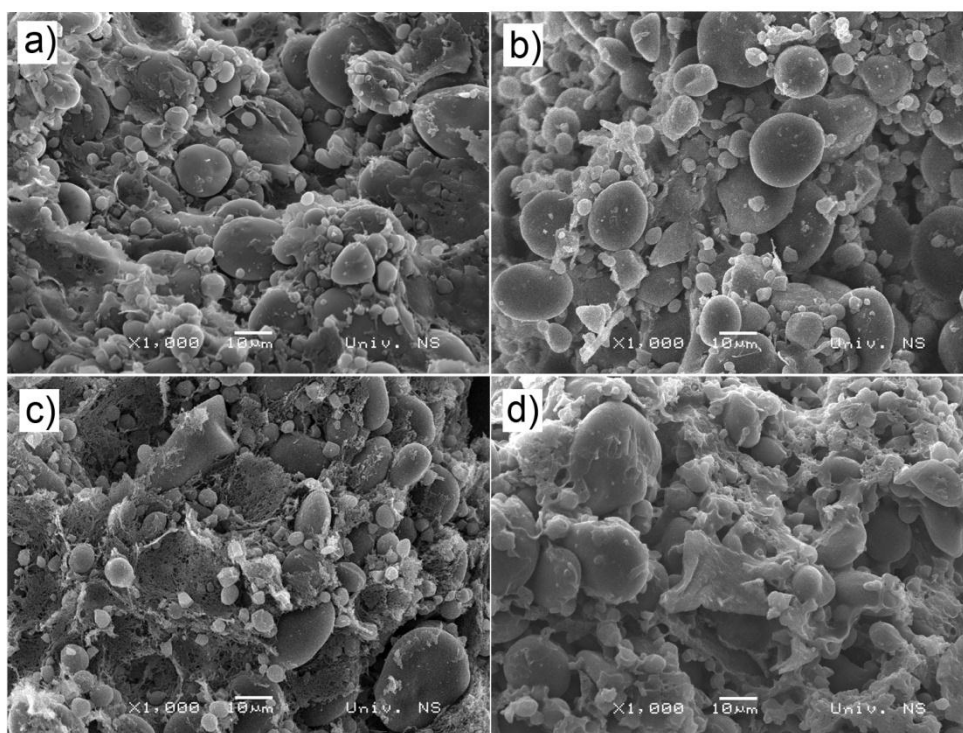


Slika 45. Krive puzanja i oporavka model sistema brašna sa dodatkom 10% OSA skrobova

Rezultati ispitivanja reoloških osobina na model sistemima brašna bili su u saglasnosti sa rezultatima sprovedenim na model sistemima nativno glutensko brašno/OSA skrob, što je ukazalo na činjenicu da uticaj OSA skroba na reološke osobine testa nije samo posledica razblaživanja komponenti sistema, već specifičnih interakcija na mikrostrukturnom nivou.

5.5. Uticaj OSA skrobova na reološke i strukturne osobine testa

Dodatak 2,5; 5 i 10% OSA skrobova u pšenično brašno izazvao je promene u strukturi testa (slika 46), što je dovelo do značajnih promena reoloških osobina sistema koje su praćene primenom različitih tehnika empirijske i fundamentalne reologije.

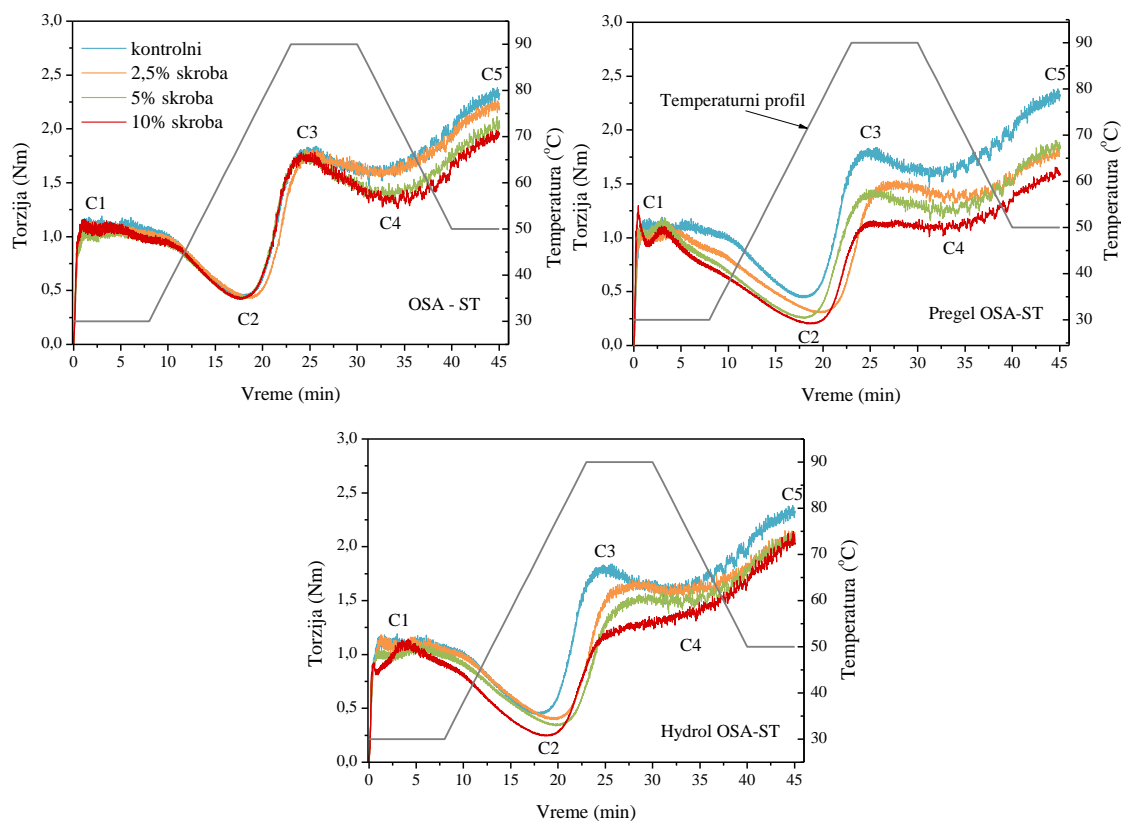


Slika 46. Mikrostruktura testa (a), testa sa 10% OSA-ST (b), testa sa 10% Pregel OSA-ST (c), testa sa 10% Hydrol OSA-ST (d)

Na osnovu izgleda mikrostrukture testa uočava se da u slučaju dodatka OSA-ST dolazi do povećanja broja granula skroba, koje usled agregacije formiraju strukturu, a da pri tom ne omataju kontinualnost glutenske mreže (slika 46b). Nasuprot tome, prisustvo Pregel OSA-ST dovelo je do pojave izraženije poroznosti glutenske mreže (slika 46c), dok je prisustvo Hydrol OSA-ST uticalo na razblaženje i slabljenje glutenske mreže (slika 46d).

5.5.1. Empirijske reološke osobine testa sa dodatkom OSA skrobova

Uticaj dodatka OSA skroba na termomehaničke osobine pšeničnog brašna prikazan je na slici 47, dok su vrednosti parametara miksolab profila sumirani u tabeli 17.



Slika 47. Miksolab profili testa sa dodatkom OSA skrobova

Kod većine emulgujućih skrobova dodatak u pšenično brašno rezultovao je povećanjem moći upijanja vode (*MUV*) u odnosu na kontrolni uzorak. Izuzetak od ovakvog ponašanja bio je sistem sa dodatkom Hydrol OSA-ST koji je pokazivao niže vrednosti moći upijanja vode u odnosu na kontrolni uzorak. Na vreme potrebno za razvoj testa, odnosno vreme za koje se postigne konzistencija od 1,1 Nm, značajno je uticao dodatak Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST. Miksolab krivu testa kontrolnog pšeničnog brašna je karakterisalo prisustvo dva pika na konzistenciji od 1,1 Nm. Prema Weipert (2006), jaka pšenična brašna karakteriše postojanje drugog pika u fazi razvoja testa usled glutenina koji kao predominantni faktor jakih brašna utiče na naknadno očvršćavanje testa. Dodatak 5% i 10% Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST uticao je na pomeranje drugog pika ka nižim vrednostima vremena razvoja testa. Pored toga, dodatak Hydrol OSA-ST uticao je na smanjenje konzistencije prvog pika, dok se na krivama testa sa Pregel OSA-ST uočava postojanje oštrog pika u početnoj fazi razvoja testa koji se javlja usled trenutnog upijanja vode od strane modifikovanog skroba. Stabilitet i konzistencija testa

u tački C2 kao indikatori jačine testa, odnosno otpornost testa na mehaničke i termičke uticaje, nisu se značajno smanjivali u sistemima testa sa OSA-ST. Nasuprot tome, dodatak Pregel OSA-ST uticao je na smanjivanje vrednosti stabiliteta i konzistencije testa u tački C2, dok je dodatak Hydrol OSA-ST značajno ($p \leq 0,05$) redukovao stabilitet samo pri zameni brašna od 10%.

Tabela 17. Miksolab parametri testa sa dodatkom OSA skrobova

Uzorak	MUV (%)	Razvoj testa (min)	Stabilitet (min)	C2 (Nm)	C3 (Nm)	C4/C3	C5-C4 (Nm)
Kontrolni	55,4 ^d	5,26 ^{cd}	9,70 ^c	0,45 ^g	1,78 ^f	0,89 ^{cd}	0,75 ^d
OSA-ST							
2,5%	55,7 ^{de}	4,22 ^b	9,24 ^c	0,45 ^{fg}	1,79 ^f	0,89 ^{cde}	0,76 ^d
5%	56,0 ^e	4,64 ^{ac}	9,47 ^c	0,43 ^{ef}	1,73 ^{ef}	0,80 ^b	0,61 ^{bc}
10%	56,1 ^e	4,96 ^{cd}	9,31 ^c	0,44 ^{efg}	1,76 ^f	0,76 ^a	0,60 ^{bc}
Pregel OSA-ST							
2,5%	58,1 ^f	4,24 ^b	6,69 ^b	0,32 ^c	1,50 ^d	0,91 ^{def}	0,43 ^a
5%	59,6 ^h	3,11 ^a	4,43 ^a	0,27 ^b	1,40 ^c	0,87 ^c	0,60 ^{bc}
10%	59,0 ^g	3,12 ^a	4,70 ^a	0,21 ^a	1,15 ^a	0,94 ^{fg}	0,52 ^{ab}
Hydrol OSA-ST							
2,5%	54,6 ^c	6,39 ^e	9,20 ^c	0,42 ^e	1,67 ^e	0,93 ^{efg}	0,76 ^d
5%	53,8 ^b	5,63 ^d	9,12 ^c	0,35 ^d	1,54 ^d	0,96 ^g	0,63 ^{bc}
10%	52,3 ^a	4,00 ^b	4,65 ^a	0,25 ^b	1,28 ^b	1,07 ^h	0,68 ^{cd}

Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

MUV - moć upijanja vode, C2 - minimalna vrednost torzije na početku zagrevanja, C3 - maksimalna konzistencija u fazi zagrevanja, C4/C3 - stabilnost skrobne paste, C5-C4 - iznos retrogradacije

Na moć upijanja vode kao i na mehaničke osobine testa sa dodatkom emulgujućih skrobova uticalo je više faktora, kao što su razblaživanje glutena, karakteristike nativnog skroba i vrste modifikacije. Zamenom dela pšeničnog brašna skrobom smanjuje se ukupna količina glutena, što rezultira formiranjem slabije proteinske strukture (Miyazaki i sar., 2006). Miyazaki i sar. (2004) su u svom istraživanju pokazali da se smanjivanje moći upijanja vode testa, koja su sadržala različite skrobne hidrolizate, može pripisati posledici razblaživanja komponenti brašna, uključujući gluten i oštećeni skrob. Pored navedenog, supstitucija hidroksilnih grupa skroba oktenilsukcinatnim grupama doprinosi izvesnoj hidrofobnosti inače hidrofilnog lanca skroba. Međutim, utvrđeno je da nakon OSA modifikacije skroba dolazi do narušavanja kristalne

strukture skrobne granule (Sweedman i sar., 2013), što može donekle objasniti neznatno veće vrednosti moći upijanja vode sistema sa 5% i 10% OSA-ST.

Naknadno razrušavanje skrobnih granula uzrokovano sušenjem u bubnju dovodi do formiranja amorfnе, više otvorene porozne strukture preželatiniziranog OSA skroba koja stoga može da veže više vode. Majzoobi i sar. (2011) su takođe prikazali da preželatinizirani skrob ima veću moć upijanja vode u odnosu na polazni nativni - nemodifikovani skrob. Nasuprot tome, hidroliza skroba je uticala na smanjivanje molekulske mase amilopektina i stoga na smanjivanje moći upijanja vode hidrolizovanih OSA granula. Stoga je dodatak Hydrol OSA-ST uticao na smanjivanje moći upijanja vode, što je i u saglasnosti sa rezultatima dobijenim od strane Miyazaki i sar. (2004), koji su takođe ukazali na smanjivanje moći upijanja vode testa sa dodatkom hidrolizata skroba.

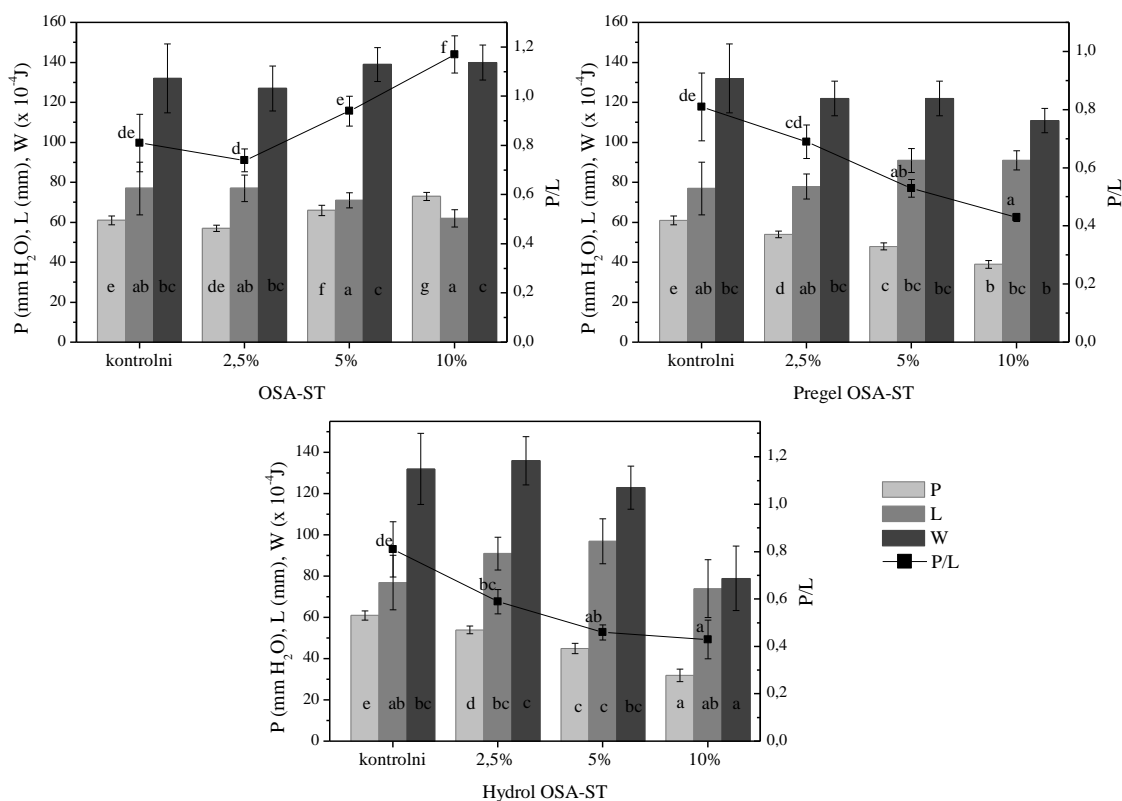
U toku faze zagrevanja testo sa dodatkom OSA-ST je pokazivalo iste osobine želatinizacije (vrednost konzistencije testa u C3) kao i testo od isključivo pšeničnog brašna (kontrolni uzorak). Ova merenja nisu bila u saglasnosti sa ispitivanjima viskozitetnog profila model sistema pšenični skrob/OSA skrob, kod kojih je dodatak OSA-ST prouzorkovao povećanje maksimalnog viskoziteta suspenzije. Razlog tome je činjenica da su model sistemi želatinizirani u suspenziji, u odsustvu drugih komponenti brašna, te su imali dovoljnu količinu vode za potpunu želatinizaciju, dok se želatinizacija u mesilici miksolaba odvijala u sistemu sa limitiranom količinom vode. Pšenično brašno sa dodatkom Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST karakterisala je niža vrednost konzistencije C3 od vrednosti uočene kod pšeničnog brašna, i te vrednosti su opadale sa porastom supstitucije brašna sa OSA-ST i Hydrol OSA-ST. Razblaživanje granula pšeničnog skroba dodatkom skrobova koji su već želatinizirani rezultiralo je smanjivanjem vrednosti konzistencije testa u C3. Međutim, razlog smanjenja konzistencije C3 može biti i posledica adsorpcije OSA skrobova na površinu granule pšeničnog skroba, što dovodi do sprečavanja granule da u potpunosti preuzme vodu otpuštenu od strane glutena pri pečenju. Ova osobina Pregel i Hydrol OSA-ST primećena je i prilikom ispitivanja na model sistemima sa pšeničnim skrobom primenom DSC tehnike. Pojava da dodatak pojedinih hidrolizata skroba ili emulgatora limitira količinu vode potrebne za želatinizaciju skroba primećena je i od strane drugih autora (Witczak i sar., 2010; Stampfli i Nersten, 1995).

Miksolab krive brašna sa dodatkom većih količina OSA-ST pokazivale su malu stabilnost tople paste (vrednost C_4/C_3) u odnosu na kontrolno testo, što je bilo u saglasnosti sa vrednostima iznosa razrušavanja dobijenim na model sistemima sa pšeničnim skrobom. Međutim, dodatak skrobova koji su rastvorljivi u hladnoj vodi (Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST) uticao je na povećanje stabilnosti skrobnih pasti. Inkorporacijom 10% Hydrol OSA-ST u pšenično brašno nije došlo do pojave razrušavanja, tj. gubitka stabilnosti skrobne paste.

Povećana vrednost konzistencije testa u tački C_4 sa dodatkom Pregel OSA-ST bila je posledica povećanja viskoziteta sistema, što se moglo uočiti iz krivih proticanja model sistema pšenični skrob/Pregel OSA-ST. Nasuprot prethodnom, povećanje stabilnosti skrobne paste testa koje sadrži Hydrol OSA-ST nije posledica povećanja viskoziteta sistema, nego se to verovatno može pripisati mogućnosti Hydrol OSA-ST da ograniči bubrenje skroba pšeničnog brašna i isticanje amiloze iz granule.

Krajnja vrednost konzistencije testa (parametra C_5 na Miksolab krivoj) sa dodatkom emulgujućih skrobova je opadala u odnosu na kontrolni uzorak, naročito kod sistema sa većim iznosom stepena supstitucije pšeničnog brašna. Pored toga, dodatak emulgujućih skrobova uticao je na povećanje otpornosti ka retrogradaciji, što se može zaključiti na osnovu nižih vrednosti iznosa retrogradacije (vrednosti C_5-C_4) u odnosu na isti parametar kod uzorka kontrolnog pšeničnog brašna bez dodatka emulgujućih skrobova. Ovi rezultati bili su u saglasnosti sa rezultatima određivanja jačine gela model sistema pšenični skrob/OSA skrob, koji su takođe pokazali da dodatak OSA skrobova u pšenični skrob dovodi do snižavanja vrednosti elastičnog i viskoznog modula. Slično je uočio i Hibi (2001), koji je pokazao da dodatak retrogradiranog voskastog skroba utiče na smanjenje krajnjeg viskoziteta suspenzije, kao i Witczak i sar. (2010), koji su primetili da bezglutenske smeše sa dodatkom maltodekstrina karakterišu niže vrednosti krajnjeg viskoziteta.

U daljem radu ispitivane su alveografske osobine testa sa dodatkom emulgujućih skrobova kako bi se utvrdilo reološko ponašanje testa u uslovima velikih iznosa deformacija (slika 48).



Slika 48. Vrednosti alveografskih parametara testa sa dodatkom OSA skrobova

Kao najjače testo pokazalo se testo sa dodatkom 10% OSA-ST što se može zaključiti na osnovu viših vrednosti alveografskih parametara P i W u odnosu na kontrolni uzorak bez dodatka emulgjućih skrobova.

Nasuprot tome, dodatak Pregel OSA-ST doveo je do porasta rastegljivosti testa (viša vrednost L parametra) i smanjenja jačine testa (niže P i W vrednosti). Dodatak do 5% Hydrol OSA-ST nije značajno uticao na promenu vrednosti parametra W . Međutim, dodatak od 10% Hydrol OSA-ST uticao je značajno ($p \leq 0,05$) na smanjivanje vrednosti alveografskih parametara koji ukazuju na čvrstoću testa kao što su P i W parametar, i dobijeno testo vizuelno je bilo meko i lepljivo.

Dakle, dok je zamena dela pšeničnog brašna sa OSA-ST rezultovala dobijanjem testa povećane jačine i otpornosti ka deformaciji, dodatak Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST uticao je na povećanje alveografske rastegljivosti testa.

Uticao OSA skrobova na razvoj testa tokom fermentacije, kao i sposobnost produkcije i zadržavanja gasova praćen je uz pomoć reofermentometra. Rezultati dobijeni iz krive razvoja testa i krive oslobađanja gasa sumirani su u tabeli 18.

Tabela 18. Uticaj OSA skrobova na vrednosti parametara fermentacije testa u reofermentometru

Uzorak	Kriva razvoja testa				Kriva oslobađanja gasa				
	<i>Hm</i> (%)	% <i>H</i> (%)	<i>T1</i> (h)	<i>T2</i> (h)	<i>H'm</i> (mm)	<i>T'1</i> (h)	<i>Tx</i> (h)	<i>V</i> _{CO₂} (ml)	Koef. retencije CO ₂ (%)
Kontrolni	42,70 ^a	11,85 ^{ab}	2,25 ^{de}	2,95 ^c	68,30 ^b	1,00 ^a	1,050 ^a	1594 ^b	76,1 ^a
OSA-ST									
2,5%	43,95 ^a	7,35 ^a	2,39 ^e	> 3	64,70 ^{ab}	2,02 ^e	1,088 ^a	1522 ^{ab}	81,2 ^{cd}
5%	43,65 ^{ab}	9,15 ^a	2,19 ^{cd}	> 3	64,85 ^{ab}	1,81 ^{cde}	0,912 ^a	1556 ^b	77,2 ^{ab}
10%	46,45 ^{ab}	12,15 ^{ab}	2,02 ^c	> 3	65,00 ^{ab}	1,75 ^{cd}	0,962 ^a	1540 ^{ab}	77,6 ^{ab}
Pregel OSA-ST									
2,5%	46,50 ^{ab}	16,95 ^{bc}	2,36 ^e	2,93 ^{bc}	65,30 ^{ab}	1,32 ^b	1,162 ^a	1571 ^b	79,6 ^{bc}
5%	45,65 ^{ab}	20,35 ^c	1,48 ^a	2,81 ^b	67,60 ^b	1,59 ^c	0,962 ^a	1570 ^b	79,4 ^{abc}
10%	49,05 ^b	19,60 ^c	1,76 ^b	2,83 ^{bc}	68,60 ^b	1,79 ^{cd}	1,396 ^a	1561 ^b	83,3 ^{de}
Hydrol OSA-ST									
2,5%	43,60 ^a	10,25 ^{ab}	2,34 ^{de}	> 3	67,25 ^b	1,11 ^{ab}	1,012 ^a	1564 ^b	78,6 ^{abc}
5%	44,75 ^{ab}	9,80 ^a	2,24 ^{de}	2,95 ^c	65,05 ^{ab}	1,02 ^a	0,962 ^a	1534 ^{ab}	79,0 ^{abc}
10%	58,30 ^c	9,25 ^a	2,32 ^{de}	2,31 ^a	61,50 ^a	1,92 ^{de}	1,262 ^a	1430 ^a	85,1 ^e

Rezultati predstavljaju srednju vrednost dva ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

Hm - maksimalni razvoj testa, %*H* - pad visine testa u periodu od momenta postizanja maksimuma do momenta završetka fermentacije, *T1* - vreme postizanja maksimalnog razvoja testa, *T2* - vreme za koje *Hm* opadne za 10%, *H'm* - maksimum krive oslobađanja gasa, *T'1* - vreme dostizanja maksimuma krive oslobađanja gasa, *Tx* - vreme početka oslobađanja CO₂, *V*_{CO₂} - količina oslobođenog gasa

Dodatak OSA skrobova doveo je do porasta maksimalnog razvoja testa (*Hm*). Najveća vrednost *Hm* primećen je kod testa sa 10% Hydrol i Pregel OSA-ST što ukazuje na to da bi se kod ovih sistema mogle očekivati i najveće zapremine hleba (Abd El-Hady i sar., 1999). Ti rezultati bili su u saglasnosti i sa rezultatima alveografa prema kojima su testa sa 10% Pregel i 5% Hydrol OSA-ST pokazivala i najveću rastegljivost, što prema Wang i sar. (2002) ukazuje na to da bi takva testa mogla ispoljiti i najveći porast visine za vreme fermentacije. Razlike u alveografskim i reofermentometrijskim podacima za uzorak sa 10% Hydrol OSA-ST bile su posledica činjenice da su razlike u pripremi uzoraka (konstantna hidratacija nasuprot konstantne konzistencije) najviše uticale na ovaj sistem jer je on ispoljio najmanju moć upijanja vode, te mu je dodatak iste količine vode u mesilici alveografa, kao i brašnima sa većom moći upijanja vode, doveo do obrazovanja najslabijih testa.

Međutim, testo sa dodatkom 5 i 10% Pregel OSA-ST pokazivalo je najveći pad visine testa (%*H*) u periodu od momenta postizanja maksimuma do momenta završetka

fermentacije koja je u ovom slučaju bila ograničena na 3 h. Takođe, vreme postizanja maksimalnog razvoja testa ($T1$) kod pomenutih sistema bilo je značajno smanjeno. Uzimajući u obzir vrednosti $\%H$ i $T1$ može se zaključiti da je u slučaju Pregel OSA-ST potrebno voditi kraću fermentaciju. Vrednosti $T2$ bile su visoke u slučaju svih ispitivanih uzoraka. Jedini statistički značajan ($p \leq 0,05$) pad vrednosti $T2$ primećen je kod testa sa dodatkom 10% Hydrol OSA-ST.

Posmatrajući krivu produkcije i zadržavanja gasa, primećuje se da prisustvo OSA skrobova nije značajno uticalo na vreme početka oslobađanja CO_2 (Tx), kao ni na količinu oslobođenog gasa (V_{CO_2}). Jedini izuzetak bio je uzorak sa 10% Hydrol OSA-ST kod kojeg je primećeno značajno ($p \leq 0,05$) smanjenje V_{CO_2} . Međutim, dodatak OSA skrobova uticao je na povećanje procenta zadržalog CO_2 u testu nakon 3 h, što je izraženo koeficijentom retencije. Prema Beck i sar. (2012) produkcija gasa pekarskog kvasca povećava veličinu pora, što ukazuje da je za zadržavanje gasa i prevenciju rastvaranja CO_2 u testu potrebna dobro razvijena glutenska trodimenzionalna struktura. Rezultati prezentovani u tabeli 18 ukazuju da prisustvo većih koncentracija Pregel i Hydrol OSA-ST i manjih koncentracija OSA-ST dovodi do formiranja umrežene strukture, koja kao i glutenska, može da zadrži gas.

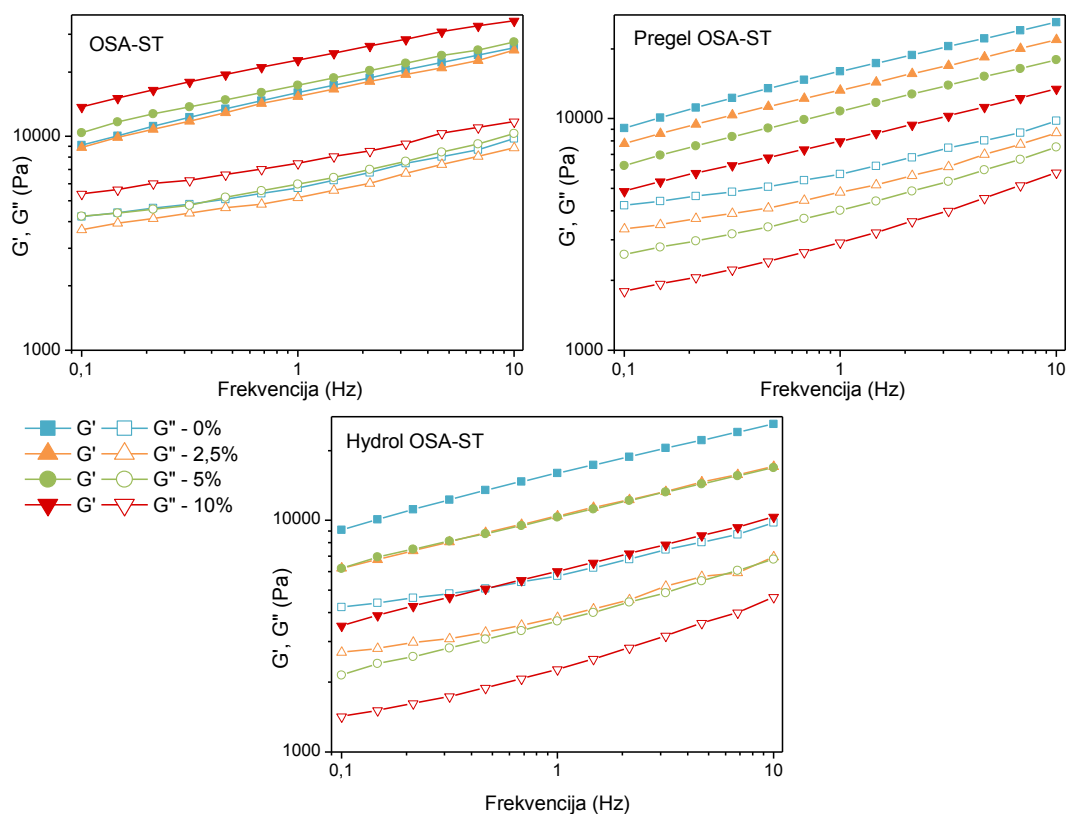
Testa sa najvećim vrednostima koeficijenta retencije CO_2 (10% Pregel i Hydrol OSA-ST, kao i 2,5% OSA-ST) ispoljila su tokom testiranja na alveografu i smanjenu vrednost parametra P , a pojedina i povećanu vrednost parametra L u odnosu na kontrolni uzorak, što ukazuje da opne formirane oko gasnog mehura nisu bile suviše jake i mogle su dovoljno da se rastegnu i zadrže veću količinu gasa od opni formiranih u kontrolnom uzorku. Nasuprot tome, kod uzoraka sa 5 i 10% OSA-ST prevelika otpornost testa ka deformaciji, odnosno prevelika žilavost testa (iskazana kao porast vrednosti parametra P), prouzrokovala je ograničenu i sporu ekspanziju gasnih mehura nastalih u procesu fermentacije (van Vliet i sar., 1992), što se odrazilo na smanjenje koeficijenta retencije gasa u odnosu na uzorak sa 2,5% OSA-ST.

Rezultati su u saglasnosti i sa istraživanjima Kim i sar. (2001) na testu za mafine, koji su takođe pokazali da dodatak OSA skrobova povećava ugradnju gasa u testo. Dobra sposobnost retencije gasova u testu primećena je i kod modifikata celuloze sa emulgujućim svojstvima (Lazaridou i sar., 2007), kao i drugih preželatiniziranih skrobova (Seyhun i sar., 2005).

5.5.2. Fundamentalne reološke osobine testa sa dodatkom OSA skrobova

U ovom radu testa za fundamentalna reološka merenja pripremana su na dva načina. Prvi način podrazumevao je pripremu na konstantnu konzistenciju u miksolabskoj mesilici uzimajući u obzir moć upijanja vode testa, dok je vreme mešenja odgovaralo vremenu razvoja testa. Drugi način pripreme podrazumevao je zames testa na konstantnu hidrataciju ($MUV = 50\%$) na alveografskoj mesilici.

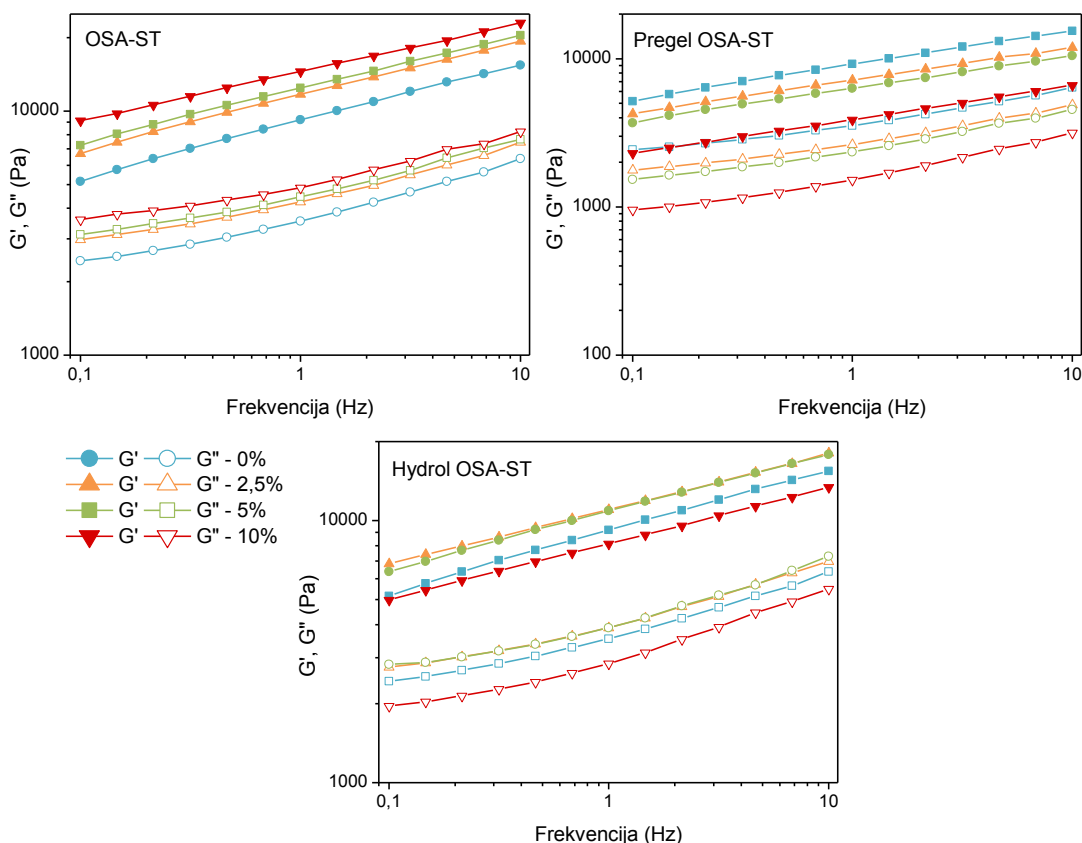
Uticao OSA skrobova na viskoelastične osobine tako pripremljenih testa analiziran je primenom dinamičkih oscilatornih testova (slike 49-50), kao i testova puzanje-oporavak strukture (slike 51-52).



Slika 49. Viskoelastične osobine testa sa dodatkom OSA skrobova pripremljenih na konstantnu hidrataciju

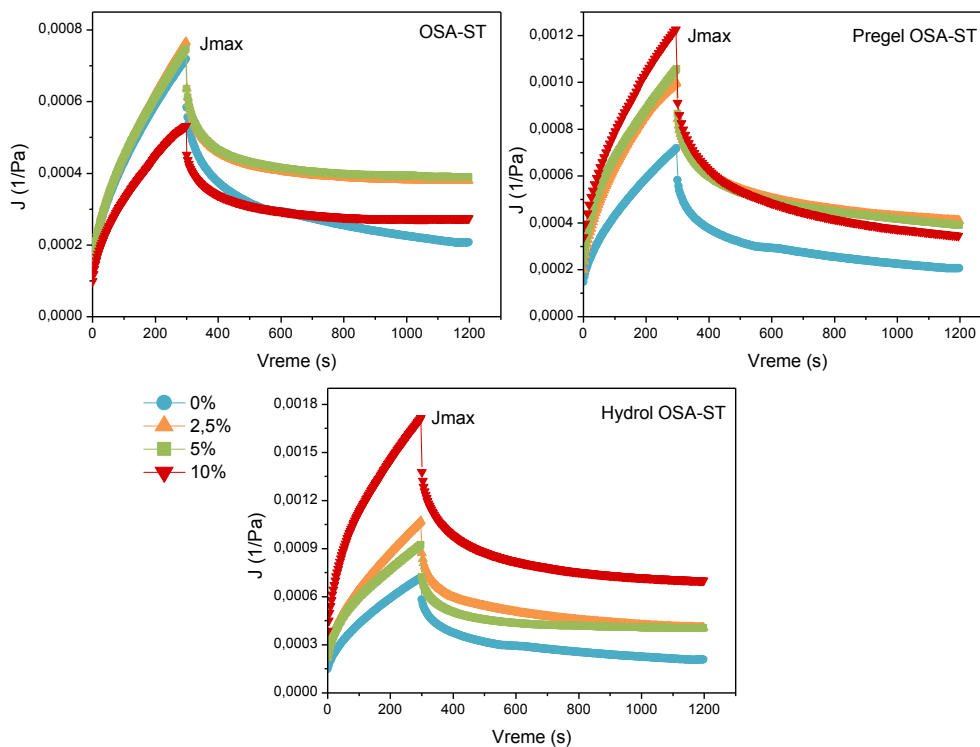
Testovi zavisnosti modula od frekvencije kod svih analiziranih uzoraka (slike 49-50), pokazivali su višu vrednost modula elastičnosti (G') u odnosu na modul viskoznosti (G''). Stoga je vrednost $\tan \delta$ (G''/G') kod ovih sistema bila manja od 1. Međutim, obzirom da je vrednost G' rasla sa porastom frekvencije i da su vrednosti $\tan \delta$ bile veće od 0,1, može se zaključiti da su se ispitivani sistemi testa reološki ponašali kao slabi

gelovi. Takvo ponašanje tipično je za testo dobijeno iz pšeničnog brašna (Dobraszczyk i Morgenstern, 2003; Weipert, 1990). Slično ponašanje (dominantnu vrednost G' u odnosu na G'' i zavisnost modula od frekvencije) ispoljili su i model sistemi testa, s tim da su zbog razlike u sastavu ispitivanih sistema, model sistemi ispoljili više vrednosti elastičnog i viskoznog modula od realnih.



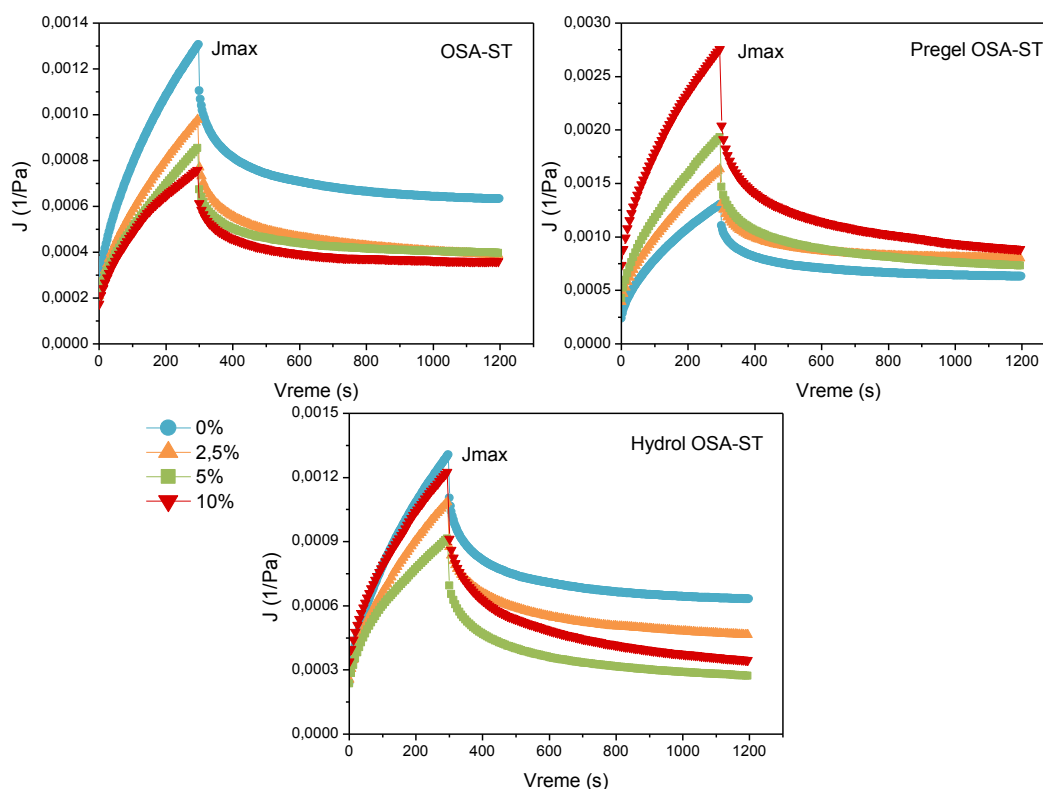
Slika 50. Viskoelastične osobine testa sa dodatkom OSA skrobova pripremljenih na konstantnu konzistenciju

U poređenju sa kontrolnim uzorkom dodatak OSA-ST u većim koncentracijama dovedio je do porasta elastičnog i viskoznog modula sistema, tj. dobijeno testo bilo je jače. Nasuprot tome, dodatak Pregel OSA-ST uticao je na smanjivanje vrednosti oba modula, odnosno obrazovanja slabijih testa u odnosu na kontrolno. Ponašanje Hydrol OSA-ST zavisilo je značajno od vrste zamesa. Dok je povećanje koncentracije Hydrol OSA-ST u zamesu dobijenom na alveografskoj mesilici pri konstantnoj hidrataciji dovelo do značajnog slabljenja testa, pri zamesu na miksolabskoj mesilici slabljenje strukture primećeno je tek pri koncentraciji većoj od 5%.



Slika 51. Krive puzanja i oporavka testa sa dodatkom OSA skrobova pripremljenih na konstantnu hidrataciju

Krive puzanje-opravak prikazane u na slici 51-52. Pri primenjenom naponu smicanja od 7 Pa koji nije prevazilazio opseg linearnog viskoelastičnog regiona, testo supstituisano sa 10% OSA-ST pokazivalo je najveću otpornost na primenjeni napon, što se vidi iz smanjenja vrednosti iznosa maksimalnog puzanja (J_{max}). Redukcija maksimalnog iznosa deformacije (J_{max}) bila je izraženija kod testa koja su bila zamešena na konstantnu konzistenciju. Nasuprot tome, dodatak 5 i 10% Pregel i Hydrol OSA-ST doveo je do porasta J_{max} odnosno povećanja rastegljivosti testa. Dok je kod zamesa na konstantnu hidrataciju povećanje rastegljivosti bilo najizraženije kod testa sa 10% Hydrol OSA-ST, kod zamesa na konstantnu konzistenciju rastegljivost je bila najveća kod 10% Pregel OSA-ST.



Slika 52. Krive puzanja i oporavka testa sa dodatkom OSA skrobova pripremljenih na konstantnu konzistenciju

Na osnovu prikazanih rezultata može se uočiti da su razlike u pripremi testa najviše uticale na sisteme sa Hydrol i Pregel OSA-ST. To se može tumačiti činjenicom da su ove dve vrste dodatka najviše uticale na promenu moći upijanja vode kontrolnog uzorka brašna. Sistem sa 10% Pregel OSA-ST, koji je imao najveću vrednost moći upijanja vode (MUV prema miksolabu 59,0%), prilikom pripreme na konstantnu hidrataciju od 50% bio je nedovoljno hidratisan, te je pokazivao veće vrednosti modula elastičnosti i niže vrednosti J_{max} , tj. davao je jača testa nego u slučaju pripreme na konstantnu konzistenciju.

Vrednosti parametara testova fundamentalne reologije kod uzoraka pripremljenih na konstantnu hidrataciju bili su u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u testovima primenjene reologije, kao i rezultatima dobijenim na model sistemima. Naime, porast vrednosti G' kako realnih tako i model sistema (glutena i testa) uglavnom je praćen porastom vrednosti parametara P i W u alveografskom testu, a opadanjem vrednosti J_{max} u testu puzanja i vrednosti L u alveografskom testu i obrnuto.

Obzirom da su rezultati reološkog ponašanja testa u ovom radu poređeni sa rezultatima probnog pečenja hleba, u daljem radu razmatraće se uticaj OSA skrobova na osobine testa pripremanog na konstantnu konzistenciju (tabele 19 i 20).

Tabela 19. Uticaj dodatka OSA skrobova na vrednosti parametara "frequency sweep" testa

Uzorci	Parametri "frequency sweep" testa	
	G' (Pa)	$\tan \delta$
Kontrolni	15985 ^c	0,408 ^c
OSA-ST		
2,5%	19655 ^{de}	0,383 ^b
5%	19950 ^e	0,377 ^b
10%	24955 ^f	0,347 ^a
Pregel OSA-ST		
2,5%	11935 ^b	0,411 ^{cd}
5%	10850 ^b	0,431 ^d
10%	6389 ^a	0,476 ^e
Hydrol OSA-ST		
2,5%	17640 ^{cd}	0,395 ^{bc}
5%	18180 ^{cde}	0,408 ^c
10%	12955 ^b	0,414 ^{cd}

Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$).

Vrednosti parametara očitane su na 10 Hz.

G' – elastični modul, G'' – viskozni modul, $\tan \delta = G'' / G'$.

Kao što je i prethodno rečeno, dodatak OSA-ST povećavao je vrednost elastičnog modula i posledično smanjivao vrednost $\tan \delta$, dok je Pregel OSA-ST ispoljavao suprotan efekat. Dodatak Hydrol OSA-ST pri malim koncentracijama uticao je na ojačanje strukture, dok je dalji dodatak slabio strukturu sistema.

Rezultati testa puzanja i oporavka (tabela 20) bili su u saglasnosti. Testa supstituisana sa OSA-ST ispoljavala su najveću otpornost na primenjeni napon, što se ogledalo u redukciji iznosa J_{max} . Dodatak OSA-ST nije statistički značajno uticao ($p > 0,05$) na vrednost J_0 , dok je njegovo prisustvo dovelo do smanjenja J_m . Najveći iznos smanjenja J_m u fazi puzanja ispoljio je system sa 5% OSA-ST. Nagla promena vrednosti parametara pri koncentraciji od 5% OSA-ST primećena je i kod model sistema gluten-emulgujući skrob, i još tada je ukazano na mogućnost postojanja interakcija pri ovoj koncentraciji.

Tabela 20. Uticaj dodatka OSA skrobova na vrednosti parametara testa puzanja i oporavka

Uzorci	Kontrolni			OSA-ST			Pregel OSA-ST			HydroI OSA-ST			
	0%	2,5%	5%	10%	2,5%	5%	10%	2,5%	5%	10%	2,5%	5%	10%
Faza puzanja													
J_0 (10^{-5} Pa $^{-1}$)	21,4 ^a	22,0 ^a	18,1 ^a	17,5 ^a	39,6 ^a	34,9 ^a	77,1 ^b	20,2 ^a	24,8 ^a	27,6 ^a			
J_m (10^{-5} Pa $^{-1}$)	34,0 ^{cd}	23,0 ^{ab}	15,9 ^a	26,3 ^{abc}	34,7 ^{cd}	42,6 ^d	65,3 ^e	25,6 ^{abc}	20,9 ^{ab}	29,9 ^{bc}			
λ (s)	42,93 ^a	47,11 ^a	31,76 ^a	69,91 ^b	43,83 ^a	35,59 ^a	44,14 ^a	36,69 ^a	38,58 ^a	37,71 ^a			
η_0 (10^3 Pas)	407,71 ^{bc}	527,86 ^{cde}	572,23 ^{de}	937,98 ^f	315,83 ^{ab}	283,13 ^{ab}	231,67 ^a	464,50 ^{cd}	608,15 ^e	505,72 ^{cde}			
J_{max} (10^{-5} Pa $^{-1}$)	127,5 ^d	99,9 ^{abcd}	85,3 ^{ab}	74,5 ^a	164,5 ^e	181,5 ^e	269,5 ^f	108,5 ^{bcd}	93,7 ^{abc}	115,0 ^{cd}			
Faza oporavka													
J_0 (10^{-5} Pa $^{-1}$)	26,5 ^{bc}	24,1 ^{abc}	19,5 ^{ab}	13,4 ^a	30,0 ^{bc}	48,4 ^d	79,7 ^e	26,6 ^{bc}	25,7 ^{bc}	33,1 ^c			
J_m (10^{-5} Pa $^{-1}$)	35,4 ^{ab}	36,0 ^{ab}	26,9 ^a	24,7 ^a	51,4 ^{bc}	63,7 ^c	110,0 ^d	37,9 ^{ab}	41,2 ^{ab}	45,0 ^{abc}			
λ (s)	136,49 ^{ab}	159,69 ^{ab}	131,41 ^{ab}	117,33 ^a	102,62 ^a	165,95 ^{ab}	183,00 ^{ab}	197,27 ^{ab}	230,65 ^b	187,25 ^{ab}			
J_e / J_{max} (%)	49,8 ^a	60,4 ^{abcd}	56,0 ^{abc}	51,9 ^{ab}	50,5 ^{ab}	63,6 ^{bcd}	72,3 ^d	60,7 ^{abcd}	73,2 ^d	69,5 ^{cd}			
J_v / J_{max} (%)	50,2 ^d	39,6 ^{abcd}	44,0 ^{bcd}	48,1 ^{cd}	49,5 ^{cd}	36,4 ^{abc}	27,7 ^a	39,3 ^{abcd}	26,8 ^a	30,5 ^{ab}			

Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u redu nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

Faze puzanja i oporavka modelovane jednačinama $J(t) = J_0 + J_m \cdot (1 - \exp(-t/\lambda)) + t/\eta_0$, $J(t) = J_{max} - J_0 - J_m \cdot (1 - \exp(-t/\lambda))$
 J_0 – trenutna popustljivost materijala, J_m – viskoelastična popustljivost, J_{max} – maksimalni iznos popustljivosti u fazi puzanja, λ – srednja vrednost vremena oporavka sistema, η_0 – njutnovski viskozitet, J_e/J_{max} – udeo elastične komponente, J_v/J_{max} – udeo viskozne komponente

Sa porastom koncentracije OSA-ST primećen je i porast vrednosti parametra η_0 , što je bilo u saglasnosti sa ostalim parametrima krive puzanja, s obzirom da povećanje vrednosti njutnovskog viskoziteta ukazuje na povećanje jačine testa (Edwards i sar., 2001).

Nasuprot tome, dodatak Pregel OSA-ST uticao je na porast J_{max} , tj. na porast rastegljivosti testa, kao i na smanjenje η_0 . Vrednosti parametara J_0 i J_m bile su statistički značajno ($p < 0,05$) promenjene tek pri iznosu koncentracije od 10%. Rezultati Hydrol OSA-ST su kao i u slučaju dinamičkih oscilatornih testova uticali na blago ojačavanje sistema, ali samo pri nižim iznosima koncentracija (do 5%).

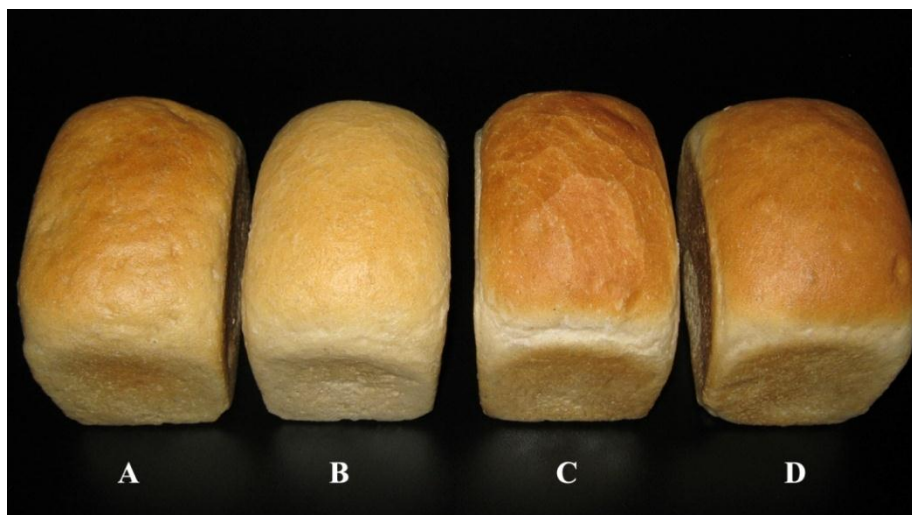
Tokom faze oporavka relativna vrednost elastične deformacije (J_e/J_{max}) uzoraka koji su sadržali OSA skrobove bila je veća u poređenju sa kontrolnim uzorkom, što ukazuje da je dodatak OSA skrobova dovodio do obrazovanja strukture koja je imala veću sposobnost oporavka nakon primenjenog napona smicanja.

Imajući u vidu da jačina brašna, izražena kao visoka vrednost njutnovskog viskoziteta u fazi puzanja, prvenstveno zavisi od gustine prisutnih veza, tj. umrežavanja strukture (Edwards i sar., 2001) razlike u reološkom ponašanju sistema sa različitim OSA skrobovima bile su posledice razlika u strukturi skrobne granule. Do istih zaključaka o vezi struktura-funkcionalnost-ponašanje u procesu proizvodnje došlo se i na osnovu rezultata testova primenjene reologije, kao i rezultata testova na model sistemima gluten i testo, koji su ukazali da OSA-ST usled formiranja strukture sastavljene od agregata granula doprinosi jačini testa, dok Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST formiraju umreženu strukturu koja utiče na kontinualnost glutenske mreže, razblažuje je, što i dovodi do slabljenja strukture sistema.

5.6. Uticaj OSA skrobova na kvalitet i starenje hleba

5.6.1. Kvalitet hleba sa dodatkom OSA skrobova

Uticaj dodatka emulgjujućih skrobova na boju kore hleba kao i na specifičnu zapreminu su prikazani na slici 53, dok su eksperimentalno dobijeni rezultati sumirani u tabeli 21.



Slika 53. Spoljašnji izgled hleba sa dodatkom različitih emulgirajućih skrobova; A) kontrolni, B) 10% OSA-ST, C) 10% Pregel OSA-ST i D) 10% Hydrol OSA-ST

Tabela 21. Specifične zapremine i parametri boje kore hleba sa dodatkom OSA skrobova

Uzorak	Specifična zapremina (cm ³ /g)	L*	a*	b*	BI	ΔE
Kontrolni	2,41 ^a	58,19 ^{cd}	11,39 ^b	31,22 ^c	88,53 ^b	-
OSA-ST						
2,5%	2,48 ^a	59,09 ^{de}	11,47 ^b	32,45 ^{cd}	91,44 ^c	1,71
5%	2,46 ^a	60,03 ^e	11,51 ^b	31,92 ^c	87,30 ^b	1,61
10%	2,50 ^a	64,08 ^f	9,99 ^a	33,25 ^d	82,15 ^a	6,58
Pregel OSA-ST						
2,5%	2,69 ^b	56,62 ^{bc}	12,23 ^{bc}	31,23 ^c	93,01 ^c	2,05
5%	2,84 ^c	56,50 ^b	14,70 ^{ef}	31,54 ^c	97,60 ^d	6,10
10%	2,80 ^c	52,50 ^a	13,18 ^{cd}	28,23 ^a	92,85 ^c	3,86
Hydrol OSA-ST						
2,5%	2,46 ^a	58,32 ^{cd}	12,10 ^{bc}	31,87 ^c	91,39 ^c	1,24
5%	2,68 ^b	55,84 ^b	13,74 ^{de}	29,69 ^b	91,35 ^c	3,94
10%	2,72 ^b	53,28 ^a	15,40 ^f	29,68 ^b	99,43 ^d	6,49

Rezultati predstavljaju srednju vrednost četiri ponavljanja za parametar specifična zapremina i pet za parametar boja kore; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$).

L* - koordinata svetloće boje (gde 0 označava crno, a 100 belo), a* - crveno-zelena koordinata (gde a*+ označava crvenu i a*- označava zelenu boju), b* - žuto-plava koordinata (gde b*+ označava žutu i b*- označava plavu), BI - indeks tamnjenja, ΔE - ukupna razlika boje.

Dodatkom OSA-ST dobijen je hleb svetlije kore (veća vrednost parametra L* i manja vrednost indeksa tamnjenja, BI pri većim udelima emulgirajućeg skroba) i slične specifične zapremine kao kontrolni hleb. Međutim, za razliku od OSA-ST, inkorporacija Pregel OSA-ST kao i Hydrol OSA-ST rezultirala je dobijanjem hlebova tamnije kore (manja vrednost parametra L* i veća vrednost indeksa tamnjenja BI) i većih specifičnih zapremina u odnosu na kontrolni uzorak. Vrednosti parametra ΔE su ukazivale da su

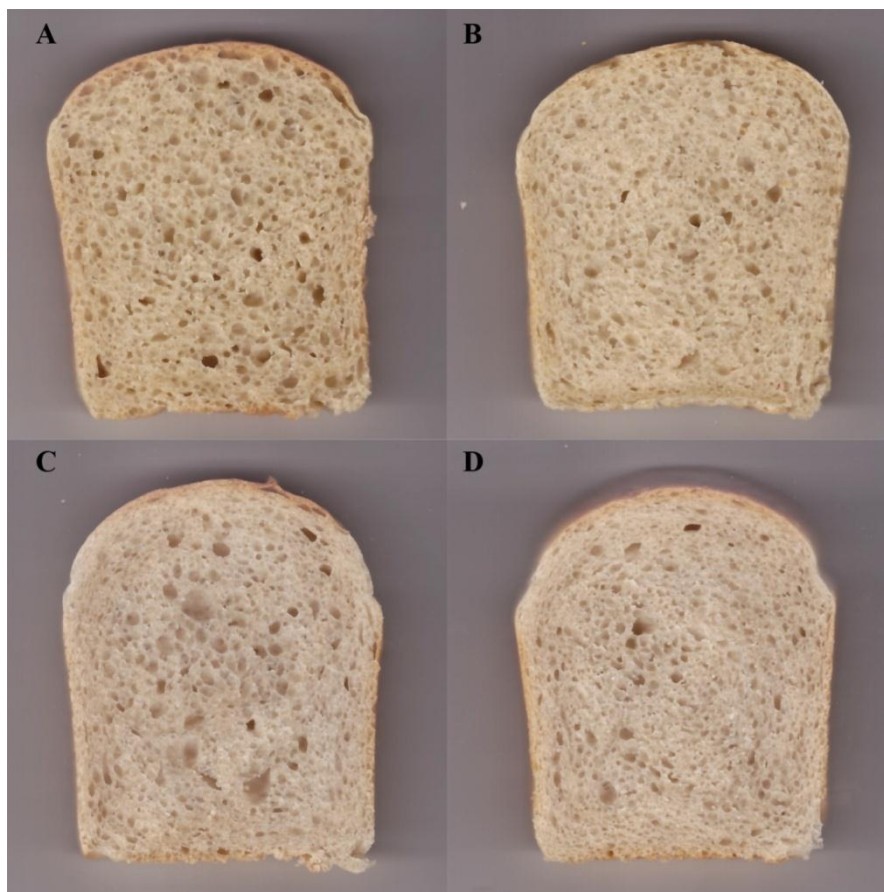
razlike u boji koje se mogu detektovati ljudskim okom bile značajne za hlebove sa dodatkom 10% OSA-ST kao i za hlebove sa dodatkom 5 i 10% Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST u odnosu na kontrolni uzorak bez dodatka emulgjujućih skrobova.

Rezultati određivanje specifične zapremine bili su u saglasnosti sa rezultatima dobijenim na alveografu i reofermentometru prema kojima su dodaci Pregel i Hydrol OSA-ST uticali na smanjenje jačine testa (parametra W), te je u takvim mekšim testima ekspanzija gasnih mehurova bila olakšana, što je dovelo do bolje retencije gasa tokom fermentacije i posledično do veće zapremine hleba. Rezultati su bili u sagasnosti i sa ispitivanjima Seyhun i sar. (2005) koji su testirajući različite skrobove utvrdili da preželatinizirani skrobovi utiču na dobijanje proizvoda najveće zapremine i tu pojavu pripisali osobini ovih skrobova da su već želatinizirani i da stoga mogu lako da formiraju strukturu i povećaju zapreminu.

Tamnija boja kore hlebova koji su sadržali Pregel i Hydrol OSA-ST u odnosu na hlebove sa OSA-ST može se objasniti pomoću rezultata testa rastvorljivosti izvršenog na model sistemima pšenični skrob/OA skrob. Prema tom testu, sistemi koji su sadržali Pregel i Hydrol OSA-ST ispoljili su veću rastvorljivost sistema na povišenoj temperaturi (80 °C) od sistema sa OSA-ST, a povećana količina rastvorljivih ugljenih hidrata uticala je na dobijanje proizvoda sa tamnijom korom (Cauvain, 2007).

Izgled preseka sredine hleba sa dodatkom različitih emulgjujućih skrobova prikazan je na slici 54, dok su parametri strukture sredine hleba sumirani u tabeli 22.

Broj pora po kvadratnom centimetru, prosečna veličina pora kao i gustina pora (odnos površina pora prema ukupnoj površini) koje su izmerene u ovim hlebovima su u dobroj saglasnosti sa vrednostima objavljenim od strane Goesart i sar. (2008). Na osnovu rezultata raspodele veličine pora sredine hleba (tabela 22) može se primetiti da nije bilo statistički značajnih razlika ($p > 0,05$) po pitanju veličine pora i gustine pora između kontrolnog hleba i hlebova sa dodatkom OSA-ST.



Slika 54. Izgled sredine hleba sa dodatkom različitih emulgujućih skrobova; A) kontrolni, B) 10% OSA-ST, C) 10% Pregel OSA-ST i D) 10% Hydrol OSA-ST

Tabela 22. Vrednosti parametara pora sredine kontrolnog hleba kao i hlebova sa dodatkom različitih emulgujućih skrobova

Uzorak	Broj pora/cm ²	Srednja vrednost površine pora (mm ²)	Površina pora/ukupna površina (%)
Kontrolni	88 ^{cd}	0,45 ^{ab}	39,0 ^{ab}
OSA-ST			
2,5%	82 ^{bcd}	0,46 ^{ab}	37,6 ^a
5%	76 ^b	0,50 ^{bc}	37,8 ^a
10%	88 ^d	0,41 ^a	36,6 ^a
Pregel OSA-ST			
2,5%	64 ^a	0,63 ^d	40,7 ^{abc}
5%	64 ^a	0,67 ^d	42,6 ^{bc}
10%	78 ^{bc}	0,48 ^{abc}	37,1 ^a
Hydrol OSA-ST			
2,5%	84 ^{bcd}	0,46 ^{abc}	38,7 ^{ab}
5%	85 ^{bcd}	0,44 ^{ab}	37,2 ^a
10%	83 ^{bcd}	0,54 ^c	44,7 ^c

Rezultati predstavljaju srednju vrednost šest ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

Dodatak Pregel OSA-ST uticao je na smanjenje broja pora po kvadratnom centimetru. Sredine hlebova koji su pripremani uz dodatak 2,5 i 5% Pregel OSA-ST karakterisale su najveće vrednosti površina pora. Dobijeni rezultat je u skladu sa činjenicom da su ovi hlebovi ujedno imali i najveće specifične zapremine. Dodatak Hydrol OSA-ST uticao je na srednju vrednost površine pora kao i na gustinu pora samo pri najvećoj ispitivanoj koncentraciji. Ovo predstavlja veliku prednost upotrebe OSA voskastih kukuruznih skrobova u odnosu na umrežene voskaste kukuruzne skrobove (Hung i Morita, 2004) ili maltodekstrine (Witczak i sar., 2010) za koje je utvrđeno da poboljšavaju mekoću sredine hleba, ali da sredine tako dobijenih hlebova karakteriše pojava neravnomernih i krupnih pora.

Dodatak emulgujućih skrobova uticao je i na povećanje ukupne razlike u boji, ΔE sredine hleba u odnosu na kontrolni uzorak, što se može uočiti na slici 54 kao i na osnovu rezultata merenja boje sredine hleba koji su sumirani u tabeli 23.

Tabela 23. Boja sredine kontrolnog hleba kao i hlebova sa dodatkom različitih emulgujućih skrobova

Uzorak	L^*	a^*	b^*	WI	ΔE
Kontrolni	62,48 ^a	1,11 ^{ab}	19,82 ^f	57,55 ^a	-
OSA-ST					
2,5%	65,89 ^{bcde}	1,07 ^{ab}	19,68 ^f	60,58 ^{bcd}	3,64
5%	66,43 ^{de}	1,02 ^a	19,51 ^{def}	61,39 ^{cd}	3,78
10%	67,73 ^e	0,99 ^a	19,24 ^{def}	62,41 ^{cd}	5,07
Pregel OSA-ST					
2,5%	63,35 ^{ab}	1,17 ^{ab}	19,03 ^{de}	58,75 ^{ab}	1,02
5%	65,29 ^{bcde}	1,00 ^a	18,06 ^c	60,85 ^{bcd}	4,09
10%	66,11 ^{cde}	1,06 ^{ab}	14,96 ^a	62,94 ^d	6,14
Hydrol OSA-ST					
2,5%	63,69 ^{abc}	1,22 ^b	19,57 ^{ef}	58,73 ^{ab}	1,29
5%	64,70 ^{abcd}	1,14 ^{ab}	18,88 ^d	60,08 ^{bc}	2,02
10%	65,38 ^{bcde}	1,05 ^{ab}	16,12 ^b	61,80 ^{cd}	4,78

Rezultati predstavljaju srednju vrednost pet ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

L^* - koordinata svetloće boje (gde 0 označava crno, a 100 belo), a^* - crveno-zelena koordinata (gde a^{*+} označava crvenu i a^{*-} označava zelenu boju) i b^* - žuto-plava koordinata (gde b^{*+} označava žutu i b^{*-} označava plavu), WI - indeks beline, ΔE - ukupna razlika boje.

Upotreba emulgujućih skrobova rezultirala je hlebovima svetlijih sredina (veće L^* i WI vrednosti), s tim da je najizraženiji efekat primećen kod sistema sa OSA-ST. Nisu uočavane značajnije razlike u tonu crvene boje sredine hleba (pozitivna vrednost parametra a^*) pri primeni različitih emulgujućih skrobova dodatih u različitim

količinama, dok se parametar žute boje sredine hleba (pozitivna vrednost parametra b^*) smanjivao sa dodatkom OSA skrobova rastvorljivih u hladnoj vodi. Međutim, na osnovu vrednosti parametra ΔE , razlike u boji koje su vidljive ljudskim okom se mogu primetiti samo pri većoj koncentraciji upotrebljenih emulgjujućih skrobova.

5.6.2. Promene parametara kvaliteta hleba tokom starenja

U tabeli 24 su prikazane promene vlage sredine hleba sa dodatkom emulgjujućih skrobova tokom tri dana skladištenja. Vrednosti vlage sredine hlebova kretale su se od 41,95 do 43,81%, što je u saglasnosti sa vrednostima dobijenim od strane Skendi i sar. (2010) za hleb pripreman od 100 g testa.

Nakon hlađenja na sobnoj temperaturi (2 h), hlebove pripremane sa OSA-ST i Pregel OSA-ST karakterisala je najveća vlaga sredine, dok su kod uzoraka sa dodatkom 5 i 10 % Hydrol OSA-ST izmerene manje vrednosti vlage sredine hleba u odnosu na kontrolni uzorak.

Tabela 24. Promena vlage sredine hleba tokom čuvanja u kontrolisanim uslovima ($T = 23\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Uzorak	Vlaga sredine hleba (%)		
	2 h	24 h	72 h
Kontrolni	41,95 ^{c,3}	41,32 ^{e,2}	40,94 ^{h,1}
OSA-ST			
2,5%	42,46 ^{d,3}	40,81 ^{d,2}	39,51 ^{e,1}
5%	42,40 ^{d,3}	40,87 ^{d,2}	39,48 ^{e,1}
10%	42,40 ^{d,3}	41,81 ^{g,2}	39,16 ^{d,1}
Pregel OSA-ST			
2,5%	42,36 ^{d,3}	41,69 ^{fg,2}	39,54 ^{e,1}
5%	42,82 ^{e,3}	41,60 ^{f,2}	39,75 ^{f,1}
10%	43,81 ^{f,3}	41,24 ^{e,2}	39,89 ^{g,1}
Hydrol OSA-ST			
2,5%	42,30 ^{d,3}	40,37 ^{c,2}	38,73 ^{c,1}
5%	41,56 ^{b,3}	40,12 ^{b,2}	38,45 ^{b,1}
10%	41,19 ^{a,3}	38,10 ^{a,2}	36,57 ^{a,1}

Rezultati predstavljaju srednju vrednost tri ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u koloni i brojem u redu nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

U toku čuvanja (72 h) vlaga sredine hleba je opadala kao posledica migracije iz sredine hleba ka kori. Međutim, dok je kod kontrolnog uzorka vrednost vlage opala za 2,4% u odnosu na početnu vrednost, vrednosti vlage uzoraka sa najvećom koncentracijom OSA-ST, Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST opale su za 7,6%, 8,9% i 11,2%, što ukazuje da

je kapacitet zadržavanja vode sredine hlebova sa dodatkom emulgjućih skrobova bio manji u odnosu na kontrolni uzorak.

Promene u vrednostima TPA parametara hlebova sa dodatkom emulgjućih skrobova tokom tri dana skladištenja prikazane su u tabeli 25. Inkorporacija emulgjućih skrobova uticala je na smanjivanje inicijalne čvrstoće i otpora žvakanju. Dodatak Pregel OSA-ST je značajno uticao na inicijalnu čvrstoću koja se smanjila za 33-64% u odnosu na kontrolni uzorak. Vrsta i količina upotrebljenih emulgjućih skrobova nisu značajno uticali na naknadnu elastičnost i kohezivnost. Nasuprot tome, inicijalna elastičnost hlebova sa dodatkom emulgjućih skrobova opadala je u odnosu na kontrolni uzorak.

Na iznos čvrstoće značajno utiču zapremina i poroznost sredine hleba (Goesaert i sar., 2008). Na primer, smanjenje čvrstoće hleba može biti posledica povećanja ukupne površine pora hleba (Skendi et al., 2010), utičući tako na smanjenje sile potrebne da se komprimuje ispitivani uzorak. Pored toga, povećana mekoća sredine hleba može biti posledica i veće vlage sredine hleba (Morita i sar., 2002). Međutim, prema nekim istraživanjima, vlaga sredine hleba nije povezana sa ispitivanom čvrstoćom hleba (Hibi, 2001). U ovom istraživanju, hlebove sa dodatkom Pregel OSA-ST, koje su karakterisale veće vrednosti specifičnih zapremina, srednje vrednosti površine pora kao i vlage sredina, karakterisalo je i najizraženije smanjivanje čvrstoće sredine hleba u odnosu na kontrolni uzorak.

Smanjena čvrstoća hlebova sa dodatkom emulgjućih skrobova se može povezati sa smanjenom krajnjom vrednosti konzistencije i iznosa retrogradacije koja je primećena tokom merenja upotrebom miksolaba. Dodatak emulgjućih skrobova redukovao je povezivanje polimera amiloze vodoničnim vezama, što je dovelo do slabije gel strukture, a kao posledice toga i mekše sredine hleba.

Tabela 25. Promena vrednosti parametara TPA profila hleba sa dodatkom OSA skrobova tokom skladištenja

Uzorci	Kontrolni			OSA-ST			Pregel OSA-ST			Hydro OSA-ST		
	0%	2,5%	10%	5%	2,5%	10%	5%	2,5%	10%	5%	2,5%	10%
Čvrstoća (g)												
2 h	14910 ^{c1}	11302 ^{b1}	10865 ^{b1}	10865 ^{b1}	9879 ^{b1}	9879 ^{b1}	10054 ^{b1}	6604 ^{a1}	5433 ^{a1}	14620 ^{c1}	11035 ^{b1}	10065 ^{b1}
24 h	18588 ^{e2}	15098 ^{cd2}	13519 ^{bc2}	13519 ^{bc2}	11469 ^{ab2}	11469 ^{ab2}	14074 ^{c2}	9467 ^{a2}	10024 ^{a2}	17530 ^{de2}	17635 ^{de2}	13774 ^{bc2}
72 h	22270 ^{cd3}	21403 ^{bcd3}	19290 ^{bc3}	19290 ^{bc3}	17396 ^{b3}	17396 ^{b3}	20464 ^{bcd3}	12702 ^{a3}	19573 ^{bcd3}	22665 ^{cd3}	23558 ^{d3}	18550 ^{bc3}
Naknadna elastičnost												
2 h	0,97 ^{a2}	0,99 ^{a3}	0,98 ^{a3}	0,98 ^{a3}	0,99 ^{a3}	0,99 ^{a3}	0,97 ^{a3}	1,01 ^{a3}	1,00 ^{a3}	0,97 ^{a2}	0,98 ^{a2}	0,98 ^{a1}
24 h	0,93 ^{bc1}	0,94 ^{bc2}	0,93 ^{bc2}	0,93 ^{bc2}	0,96 ^{c2}	0,96 ^{c2}	0,94 ^{bc2}	0,96 ^{c2}	0,96 ^{c2}	0,91 ^{ab1}	0,88 ^{a1}	0,94 ^{bc1}
72 h	0,93 ^{b1}	0,91 ^{ab1}	0,91 ^{ab1}	0,91 ^{ab1}	0,92 ^{b1}	0,92 ^{b1}	0,90 ^{ab1}	0,92 ^{ab1}	0,92 ^{ab1}	0,91 ^{ab1}	0,88 ^{a1}	0,93 ^b
Kohezivnost												
2 h	0,75 ^{abc2}	0,75 ^{abc3}	0,77 ^{c3}	0,77 ^{c3}	0,75 ^{abc3}	0,75 ^{abc3}	0,75 ^{abc3}	0,77 ^{bc3}	0,77 ^{c3}	0,73 ^{a3}	0,74 ^{ab3}	0,75 ^{abc3}
24 h	0,63 ^{bcd1}	0,63 ^{cd2}	0,60 ^{ab2}	0,60 ^{ab2}	0,63 ^{cd2}	0,63 ^{cd2}	0,61 ^{abcd2}	0,64 ^{d2}	0,63 ^{cd2}	0,59 ^{a2}	0,61 ^{abc2}	0,58 ^{a2}
72 h	0,59 ^{a1}	0,53 ^{a1}	0,51 ^{a1}	0,51 ^{a1}	0,53 ^{a1}	0,53 ^{a1}	0,54 ^{a1}	0,52 ^{a1}	0,55 ^{a1}	0,53 ^{a1}	0,54 ^{a1}	0,53 ^{a1}
Otpor žvakamju (g)												
2 h	10891 ^{c1}	8447 ^{b1}	8199 ^{b1}	8199 ^{b1}	7332 ^{b12}	7332 ^{b12}	7274 ^{b1}	5093 ^{a1}	4242 ^{a1}	10373 ^{c1}	7973 ^{b1}	7383 ^{b1}
24 h	10798 ^{f1}	8937 ^{cde12}	7507 ^{abc1}	7507 ^{abc1}	6936 ^{ab1}	6936 ^{ab1}	8105 ^{bcd1}	5770 ^{a1}	5995 ^{a1}	9541 ^{ef1}	9454 ^{def1}	7483 ^{abcd}
72 h	12110 ^{d1}	10314 ^{bcd2}	8939 ^{abc1}	8939 ^{abc1}	8813 ^{abc2}	8813 ^{abc2}	9924 ^{bcd2}	6015 ^{a1}	9802 ^{bcd2}	11083 ^{bcd1}	11494 ^{cd2}	7939 ^{ab1}
Inicijalna elastičnost												
2 h	0,46 ^{b2}	0,41 ^{a3}	0,43 ^{ab2}	0,43 ^{ab2}	0,40 ^{a3}	0,40 ^{a3}	0,41 ^{a3}	0,39 ^{a3}	0,41 ^{a2}	0,43 ^{ab2}	0,40 ^{a3}	0,40 ^{a2}
24 h	0,33 ^{bc1}	0,31 ^{abc2}	0,28 ^{a1}	0,28 ^{a1}	0,30 ^{abc2}	0,30 ^{abc2}	0,30 ^{abc2}	0,32 ^{abc2}	0,33 ^{c1}	0,29 ^{ab1}	0,31 ^{abc2}	0,28 ^{a1}
72 h	0,31 ^{a1}	0,27 ^{a1}	0,26 ^{a1}	0,26 ^{a1}	0,27 ^{a1}	0,27 ^{a1}	0,28 ^{a1}	0,26 ^{a1}	0,30 ^{a1}	0,27 ^{a1}	0,27 ^{a1}	0,27 ^{a1}

Rezultati predstavljaju srednju vrednost pet ponavljanja; vrednosti označene istim malim slovom u redu i brojem u podkoloni nisu statistički značajno različite ($p > 0,05$)

Praćenje čvrstoće sredine hleba je dobar indikator starenja hleba jer čuvanje istog uzrokuje povećanje čvrstoće (Seyhun i sar., 2005). Tokom stajanja čvrstoća sredine hleba je porasla, dok su elastičnost, kohezivnost i inicijalna elastičnost opadale (tabela 25). Razlog povećanja čvrstoće bilo je smanjivanje vlage sredine hleba, ali i fenomen retrogradacije (Biliaderis i sar., 1995). Prema Ghiasi i sar. (1984) amilozna frakcija retrogradira brzo tokom početnog hlađenja hleba, dok su spore promene amilopektinskih frakcija odgovorne za naknadno povećanje čvrstoće. Vrednosti čvrstoće sredine hleba sa dodatkom OSA-ST i hleba sa Pregel OSA-ST nakon 24 h čuvanja su bile slične ili značajno niže u odnosu na čvrstoću kontrolnog uzorka praćenog 2 h nakon pečenja.

Kako emulgujući skrobovi nisu pokazivali velike kapacitete zadržavanja vode, njihov efekat omekšavanja se može pripisati slabljenju retrogradirane strukture pšeničnog skroba, što se i ogledalo u smanjivanju iznosa retrogradacije određenog na miksolabu. Razlog smanjivanja iznosa retrogradacije može biti i formiranje amiloza-OSA inkluzionog kompleksa, što su pretpostavili Thirathumthavorn i Charoenrein (2006). DSC merenja na model sistemima ukazala su da je prisustvo Pregel i Hydrol OSA-ST ometalo prodiranje vode u granule pšeničnog skroba, tj. da su oni uticali na smanjenje bubrenja i rastvorljivosti pšeničnog skroba u toku pečenja, što se posledično odrazilo i na smanjenje čvrstoće sredine hleba (Gill i sar., 2002). Rezultati praćenja promene čvrstoće sredine hleba bili su u saglasnosti i sa rezultatima određivanja promene čvrstoće model sistema pšenični skrob/OSA skrob, koji su takođe pokazali sa dodatkom OSA skrobova usporava pojavu retrogradacije skrobnog gela.

Na osnovu prezentovanih rezultata može se uočiti da je hleb sa 5% Pregel OSA-ST pokazivao najmanju čvrstoću sredine hleba nakon 72 h skladištenja, dok je dodatak veće količine Pregel OSA-ST značajno uticao na pogoršanje reoloških osobina testa u pogledu jačine testa, a time i kvaliteta hleba u smislu specifične zapremine i teksture sredine hleba.

Poglavlje 6

Zaključak

Pokazano je da se emulgjući skrobovi (skrob-natrijum-oktenilsukcinati - OSA skrobovi) ispitivani u ovoj disertaciji: a) izbeljeni (OSA-ST), b) preželatizirani (Pregel OSA-ST) i c) hidrolizovan, sušen u spreju (Hydrol OSA-ST), mogu primeniti kao poboljšivači u proizvodnji hleba.

- Ispitivanja sprovedena na model sistemima: a) gluten sa dodatkom 10, 20 i 30% OSA skroba i b) mešavina glutena i pšeničnog skroba u odnosu 16,5/83,5 u kojoj je 2,5; 5 i 10% pšeničnog skroba zamenjeno OSA skrobom, pokazala su da uticaj OSA skroba na reološke osobine testa nije samo posledica razblaživanja glutena kao komponente odgovorne za viskoelastično ponašanje testa, već i specifičnih interakcija na mikrostrukturnom nivou. Na osnovu rezultata ispitivanja mikrostrukture sistema uočava se da dodatak OSA-ST dovodi do povećanja udela skrobnih granula koje usled agregacije formiraju strukturu i utiču na ojačanje glutenske mreže i posledično povećanje modula elastičnosti sistema. Nasuprot tome, dodatak Pregel OSA-ST i Hydrol OSA-ST doveo je do narušavanja kontinualnost glutenske mreže i obrazovanja poroznije strukture što se odrazilo na smanjenje modula elastičnosti sistema.
- Model sistemi (1, 4 i 8% gelovi pšeničnog skroba sa dodatkom 10 i 20% OSA skroba) pripremani u cilju praćenja uticaja OSA skroba na retrogradaciju pšeničnog skroba, kao fenomena odgovornog za starenje hleba, ukazali su da

dodatak OSA-ST i Pregel OSA-ST dovodi do povećanja viskoziteta 4% skrobnih pasti, dok Hydrol OSA-ST snižava vrednost viskoziteta u odnosu na kontrolni uzorak. Takođe je primećeno (primenom reoloških dinamičkih testova i testova analize profila teksture) da dodatak OSA skrobova utiče na slabljenje jačine 8% gela pšeničnog skroba. Parametri Avrami-jeve jednačine korišćene za modelovanje kinetike starenja gela, tj. promene čvrstoće gela u toku 1, 2, 3, 5 i 7 dana pokazali su da OSA skrobovi smanjuju brzinu starenja skrobnog gela. Sterne smetnje prouzrokovane prisustvom oktenilsukcinat grupa, kao i povećan udeo amilopektinskih lanaca, doveli su i do smanjenog sinerezisa (kao još jednog pokazatelja starenja sistema) kod OSA-ST i Pregel OSA-ST u odnosu na kontrolni uzorak. DSC merenja ukazala su da dodatak sva tri OSA skroba dovodi do smanjenja entalpije želatinizacije, kao i da nakon 14 dana skladištenja na 4 °C (period u toku kojeg dolazi do retrogradacije amilopektina) uzorci sa Pregel i Hydrol OSA-ST pokazuju manji iznos entalpije retrogradacije u odnosu na kontrolni uzorak.

- Dodatak od 2,5; 5 i 10% OSA skrobova u testo doveo je do promena u mikrostrukturi sistema, što se odrazilo na promene u reološkom ponašanju testa. Brašna koja su sadržala OSA-ST ispoljavala su veću moć upijanja vode i dobijena testa pokazivala su veću otpornost na deformaciju u odnosu na kontrolni uzorak, što su potvrdili i reološki testovi malih deformacija (oscilatorni dinamički i testovi puzanja i deformacije) i testovi velikih deformacija (miksolab, alveograf). Dodatak Pregel OSA-ST skrobnih granula dovelo je do obrazovanja sistema sa najvećom moći upijanja vode. Nasuprot tome, dodatak Hydrol OSA-ST skroba uticao je na smanjivanje moći upijanja vode pšeničnog brašna. Testa sa dodatkom Pregel i Hydrol OSA-ST skroba ispoljavala su manju otpornost na sile deformacije (niže P i W vrednosti alveografa, niže module elastičnosti i viskoznosti, i veće vrednosti maksimuma popustljivosti u reološkim testovima puzanja i oporavka) i povećanu rastegljivost testa izraženu kroz L parametar alveografa. Tokom temperaturnog ciklusa zagrevanja i hlađenja testa supstituisanog OSA skrobovima u mesilici miksolaba (zagrevanje u intervalu temperatura od 30 do 90 °C i hlađenje u intervalu od 90 do 50 °C) ustanovljeno je da dodatak Pregel i Hydrol OSA-ST dovodi do snižavanja maksimuma konzistencije tokom želatinizacije i povećanja stabilnosti skrobne paste. Dodatak

sva tri OSA skroba uticao je na smanjenje iznosa retrogradacije sistema, pri čemu je najveći uticaj ispoljio dodatak od 2,5 i 10% Pregel OSA-ST. Rezultati praćenja ponašanja testa tokom fermentacije (reofermentometar) pokazali su da dodatak OSA skrobova utiče na porast maksimalnog razvoja testa i procenta zadržalog CO₂ u testu, pri čemu je najveći porast primećen kod testa sa 10% Hydrol i Pregel OSA-ST.

- Promene u reološkim osobinama sistema prouzrokovane dodatkom emulgujućih skrobova uticale su i na kvalitet krajnjeg proizvoda (hleba). Dodatak OSA-ST uticao je na dobijanje hleba svetlije boje kore i slične specifične zapremine kao kontrolni hleb. Međutim, za razliku od OSA-ST, inkorporacija Pregel OSA-ST kao i Hydrol OSA-ST rezultirala je dobijanjem hlebova tamnije kore i većih specifičnih zapremina u odnosu na kontrolni uzorak, što je bilo u saglasnosti sa rezultatima praćenja reoloških osobina testa tokom fermentacije. Sredine hlebova pripremanih uz dodatak 2,5 i 5% Pregel OSA-ST i 10% Hydrol OSA-ST karakterisale su najveće vrednosti površina pora. Ostale vrste i koncentracije emulgujućih skrobova nisu značajno uticale na strukturu sredine hleba definisanu vrednostima pokazatelja kvaliteta: gustina pora, srednja vrednost površine pora i odnos površine pora i ukupne površine sredine hleba. Dodatak emulgujućih skrobova uticao je i na dobijanje hlebova svetlijih sredina. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu (2 h nakon pečenja), hlebove pripremane sa OSA-ST i Pregel OSA-ST je karakterisala najveća vlaga sredine. Međutim, kapacitet zadržavanja vode sredine hlebova sa dodatkom emulgujućih skrobova bio je manji u odnosu na kontrolni hleb, te je nakon 72 h skladištenja hleba u kontrolisanim uslovima kontrolni uzorak imao najveću vlagu sredine hleba. Praćenje starenja hleba vršeno je određivanjem čvrstoće sredine hleba. Dodatak OSA skrobova uticao je na formiranje mekše sredine hleba, što je bilo u saglasnosti sa rezultatima dobijenim na miksolabu, koja su pokazala da OSA skrobovi snižavaju iznos retrogradacije amiloze – pojave odgovorne za inicijalno starenje proizvoda sa skrobom. Vrednosti čvrstoće sredine hleba sa dodatkom OSA-ST i Pregel OSA-ST i nakon 24 h čuvanja bile su slične ili značajno niže u odnosu na čvrstoću kontrolnog uzorka praćenog 2 h nakon pečenja. Najveće poboljšanje kvaliteta hleba, u smislu povećanja zapremine i produženja svežine sredine hleba primećeno je pri dodatku 5% Pregel OSA-ST.

Literatura

- 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.
- Abd El-Hady, E.A., El-Samahy, S.K., Brümmer, J.-M. (1999). Effect of oxidants, sodium-stearoyl-2-lactylate and their mixtures on rheological and baking properties of nonprefermented frozen doughs. *LWT - Food Science and Technology*, 32, 446-454.
- Abd Karim, A., Norziah, M.H., Seow, C.C. (2000). Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*, 71, 9-36.
- Achayuthakan, P., Suphantharika, M. (2008). Pasting and rheological properties of waxy corn starch as affected by guar gum and xanthan gum. *Carbohydrate Polymers*, 71, 9-17.
- Aishat, A.B., Adebayo, A.I., Busie, M.-D. Robert, A. (2007). Effect of Tuber Harvest Time and Storage Period on the Pasting Properties of Yam (*Dioscorea rotundata*) Starch. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(6), 781-787.
- Amani, N.G., Kamenan, A., Rolland-Sabate, A., Colonna, P. (2005). Stability of yam starch gels during processing. *African Journal of Biotechnology*, 4(1), 94-101.
- Amemiya, J.I., Menjivar, J.A. (1992). Comparison of small and large deformation measurements to characterize the rheology of wheat flour doughs. *Journal of Food Engineering*, 16, 91-108.
- Archunan, G. (2004). *Microbiology*, pp 47-97, Sarup & Sons, New Delhi, India.
- Atwell, W.A., Hood, L.F., Lineback, D.R., Varriano-Marston, E., Zobel, H.F. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World*, 33, 306-311.
- Autio, K., Flander, L., Kinnunen, A., Heinonen, R. (2001). Bread quality relationship with rheological measurements of wheat flour dough. *Cereal Chemistry*, 78, 654-657.

- Bai, Y., Shi, Y.-C., Wetzell, D.L. (2009). Fourier transform infrared (FT-IR) microspectroscopic census of single starch granules for octenyl succinate ester modification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 6443–6448.
- Bai, Y., Shi, Y.-C., Herrera, A., Prakash, O. (2011). Study of octenyl succinic anhydride-modified waxy maize starch by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 83, 407–413.
- Banchathanakij, R., Suphantharika, M. (2009). Effect of different β -glucans on the gelatinization and retrogradation of rice starch. *Food Chemistry*, 114, 8–14.
- Balestra, F. (2009). *Empirical and fundamental mechanical tests in the evaluation of dough and bread rheological properties*. PhD-thesis Facoltà di Agraria, University of Bologna, Italy.
- Beck, M., Jekle, M., Becker, T. (2012). Impact of sodium chloride on wheat flour dough for yeast-leavened products. II. Baking quality parameters and their relationship. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 299–306.
- Bhandari, P.N., Singhal, R.S. (2002). Studies on the optimisation of preparation of succinate derivatives from corn and amaranth starches. *Carbohydrate Polymers*, 47, 277–283.
- Bhosale, R., Singhal, R. (2007). Effect of octenylsuccinylation on physicochemical and functional properties of waxy maize and amaranth starches. *Carbohydrate Polymers*, 68, 447–456.
- Biliaderis, C.G., Izydorczyk, M.S., Rattan, O. (1995). Effect of arabinoxylans on breadmaking quality of wheat flours. *Food Chemistry*, 53, 165–171.
- Biswas, A., Shogren, R.L., Kim, S., Willett, J.L. (2006). Rapid preparation of starch maleate half-esters. *Carbohydrate Polymers*, 64, 484–487.
- Blazek, J. (2008). *Role of amylose in structure-function relationship in starches from australian wheat varieties*. PhD-thesis Faculty of Agriculture, Food and Natural Resources, The University of Sydney, Australia.
- Bloksma, A.H. (1990). Rheology of the breadmaking process. *Cereal Foods World*, 35, 228–236.
- Bornet, F.R.J., Billaux, M.S., Messing, B. (1997). Glycaemic index concept and metabolic diseases. *International Journal of Biological Macromolecules*, 21, 207–219.
- Bourne, M.C. (2002). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement* (2nd ed.). (pp 182–186). Academic Press, UK.
- Caldwell, C.G. (1952). Free-flowing starch esters. National Starch Products Inc. USPTO, US 1952/2613206.
- Caldwell, C.G., Wurzburg, O.B. (1953). Polysaccharide derivatives of substituted dicarboxylic acids. National Starch Products Inc. USPTO, US 1953/2661349.

- Cauvain, S.P., Whitworth, M.B., Alava, J.M. (1999). The evolution of bubbles structure in bread doughs and its effects on bread structure. In: G.M. Campbell, C. Webb, S.S. Pandiella, K. Niranjana (Eds.), *Bubbles in Food*. (pp 85–88), St Paul: Eagan Press, MN, USA.
- Cauvain, S.P. (2007). Dough retarding and freezing. In: S.P. Cauvain, L.S. Young (Eds.), *Technology of Breadmaking* (pp 175-206). NY: Springer Science+Business Media, LLC, USA.
- Cilliers, J.J.L., Sadr-kazemi, N. (1999). Image analysis of food foams In: G.M. Campbell, C. Webb, S.S. Pandiella, K. Niranjana (Eds.), *Bubbles in Food*. (pp 245–251), St Paul: Eagan Press, MN, USA.
- Clark, A.H., Ross-Murphy, S.B. (1987). Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Advances in Polymer Science*, 83, 57–192.
- Collado, L.S., Corke, H. (2003). Starch properties and functionality. In: G. Kaletunç, K.J. Breslauer (Eds.), *Characterization of cereals and flours: Properties, analysis, and applications* (chapter 15), NY: Marcel Dekker, Inc., USA.
- Crosbie, G. B. (1991). The relationship between starch swelling properties, paste viscosity and boiled noodle quality in wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 13, 145–150.
- Cui, S.W. (2005). *Food carbohydrates: Chemistry, physical properties, and applications*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Czuchajowska, Z., Pomeranz, Y. (1989). Differential scanning calorimetry, water activity and moisture contents in crumb centre and near-crust zones of bread during storage. *Cereal Chemistry*, 66, 305–309.
- Dapčević Hadnađev, T., Dokić, Lj., Hadnađev, M., Pojić, M., Torbica, A. (2013a). Rheological and Breadmaking Properties of Wheat Flours Supplemented with Octenyl Succinic Anhydride-Modified Waxy Maize Starches. *Food and Bioprocess Technology*, DOI 10.1007/s11947-013-1083-y.
- Dapčević Hadnađev, T., Pojić, M., Hadnađev, M., Torbica, A. (2011). The role of empirical rheology in flour quality control. In: I. Akyar (Ed.), *Wide spectra of quality control* (pp. 335–360). Rijeka: InTech, Croatia.
- Dapčević Hadnađev, T., Torbica, A., Hadnađev, M. (2013b). Influence of Buckwheat Flour and Carboxymethyl Cellulose on Rheological Behaviour and Baking Performance of Gluten-Free Cookie Dough. *Food and Bioprocess Technology*, 6(7), 1770–1781.
- D' Appolonia, B.L., Morad, M.M., (1981). Bread staling. *Cereal Chemistry*, 58, 186-190.
- Devesa A., Martnez–Anaya, M.A. (2003). Influence of pentosans on texture of starch gels during storage, and effects after enzyme treatment. *European Food Research Technology*, 216, 323–330.

- Dhanasekharan, M., Wang, C. F., Kokini, J. L. (2001). Use of nonlinear differential viscoelastic models to predict the rheological properties of gluten dough. *Journal of Food Process Engineering*, 24, 193–216.
- Dintzis, F.R., Berhow, M.A., Bagley, E.B., Wu, Y.V., Felker, F.C. (1996). Shear-thickening behavior and shear-induced structure in gently solubilized starches. *Cereal Chemistry*, 73, 638–643.
- Dobraszczyk, B.J. (2003). The physics of baking: rheological and polymer molecular structure-function relationships in breadmaking. *Polish Journal Of Food And Nutrition Sciences*, 12/53, SI 1, 24–31.
- Dobraszczyk, B. J., Morgenstern, M. P. (2003). Rheology and the Breadmaking Process. *Journal of Cereal Science*, 38(3), 229-245.
- Domenek, S., Morel, M., Bonicel, J., Guilbert, S. (2002). Polymerization Kinetics of Wheat Gluten upon Thermosetting. A Mechanistic Model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5947-5954.
- Dreese, P.C. (1987). *Rheological studies of flour and gluten dough*. PhD dissertation, Kansas State University, Manhattan, USA.
- Dreese, P.C., Faubion, J.M., Hosene, R.C. (1988). Dynamic rheological properties of flour, gluten, and gluten-starch doughs. II. Effect of various processing and ingredient changes. *Cereal Chemistry*, 65, 354-359.
- Edwards, N.M., Dexter, J.E., Scanlon, M.G., Cenkowski, S. (1999). Relationship of Creep-Recovery and Dynamic Oscillatory Measurements to Durum Wheat Physical Dough Properties. *Cereal Chemistry*, 76(5), 638–645.
- Edwards, N.M., Mulvaney, S.J., Scanlon, M.G., Dexter, J.E. (2003). Role of gluten and its components in determining durum semolina dough viscoelastic properties. *Cereal Chemistry*, 80, 755–763.
- Edwards, N.M., Peressini, D., Dexter, J.E., Mulvaney, S.J. (2001). Viscoelastic properties of durum wheat and common wheat dough of different strengths. *Rheologica Acta*, 40, 142–153.
- Eerlingen, R.C., Delcour, J.A. (1995). Formation, analysis, structure and properties of Type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science*, 22, 129-138.
- Eisenhaber, F., Schultz, W. (1992). Monte-carlo simulation of the hydration shell of double-helical amylose: a left-handed antiparallel double helix fits best into liquid water structure. *Biopolymers*, 32, 1643–1664.
- Englyst, K.N., Hudson, G.J., Englyst, H.N. (2000). Starch analysis in food. In: R.A. Meyers (Ed.), *Encyclopedia of analytical chemistry* (pp. 4246–4262). Chichester: John Wiley and Sons Ltd., UK.

- Fitzsimons, S.M., Mulvihill, D.M., Morris, E.R. (2008). Large enhancements in thermogelation of whey protein isolate by incorporation of very low concentrations of guar gum. *Food Hydrocolloids*, 22, 576–586.
- Francis, F.J., Clydesdale, F.M. (1975). *Food colorimetry: Theory and applications*. The Avi publishing company, INC, Westport, Connecticut, USA.
- Ghiasi, K., Hosney, R.C., Zeleznak, K., Rogers, D.E. (1984). Effect of Waxy Barley Starch and Reheating on Firmness of Bread Crumb. *Cereal Chemistry*, 61, 281–285.
- Gianibelli, M.C., Masci, S., Larroque, O.R., Lafiandra, D., MacRitchie, F. (2002). Biochemical characterisation of a novel polymeric protein subunit from bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science*, 35, 265–276.
- Gill, S., Vasanthan, T., Oraikul, B., Rossnagel, B. (2002). Wheat bread quality as influenced by the substitution of waxy and regular barley flours in their native and extruded forms. *Journal of Cereal Science*, 36, 219–237.
- Goesaert, H., Leman, P., Delcour, J.A. (2008). Model approach to starch functionality in bread making. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 6423–6431.
- Gonzales-Barron, U., Butler, F. (2006). A comparison of seven thresholding techniques with the k-means clustering algorithm for measurement of bread-crumbs features by digital image analysis. *Journal of Food Engineering*, 74, 268–278.
- Gupta, M., Singh Bawa, A., Dutt Semwal, A. (2009). Morphological, thermal, pasting, and rheological properties of barley starch and their blends. *International Journal of Food Properties*, 12, 587–604.
- Hallberg, L.M., Chinachoti, P. (2002). A fresh perspective on staling: The significance of starch recrystallization on the firming of bread. *Journal of Food Science*, 67, 1092–1096.
- Han, J.A., BeMiller, J.N. (2007). Preparation and physical characteristics of slowly digesting modified food starches. *Carbohydrate Polymers*, 67, 366–374.
- Hayman, D., Hosney, R.C., Faubion, J.M. (1998a). Bread crumb grain development during baking. *Cereal Chemistry*, 75(5), 577–580.
- Hayman, A., Sipes, K., Hosney, R.C., Faubion, J.M. (1998b). Factors controlling gas cell failure in bread dough. *Cereal Chemistry*, 75(5), 585–589.
- Hayta, M., Schofield, J. (2004). Heat and additive induced biochemical transitions in gluten from good and poor breadmaking quality wheats. *Journal of Cereal Science*, 40, 245–256.
- He, G.Q., Song, X.Y., Ruan, H., Chen, F. (2006). Octenyl succinic anhydride modified early indica rice starches differing in amylose content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2775–2779.
- Hibi, Y. (2001). Effect of Retrograded Waxy Corn Starch on Bread Staling. *Starch/Stärke*, 53, 227–234.

- Hódsági, M. (2011). *Recent results of investigations of resistant starches*. PhD-thesis Budapest University of Technology and Economics, Hungary.
- Horvat, D., Drezner, G., Šimić, G., Dvojković, K. (2006). Rezervne bjelančevine pšenice analizirane rp-hplc metodom. *Agriculture*, 12(2), 42-47.
- Huang, Q., Fu, X., He, X.-w., Luo, F.-x., Yu, S.-j., Li, L. (2010). The effect of enzymatic pretreatments on subsequent octenyl succinic anhydride modifications of cornstarch. *Food Hydrocolloids*, 24, 60-65.
- Huijbrechts, A.M.L. (2008). *Multifunctional starch derivatives: synthesis, characterization and properties*. PhD-thesis Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.
- Hung, P.V., Morita, N. (2004). Dough properties and bread quality of flours supplemented with cross-linked corn starch. *Food Research International*, 37, 461-467.
- Hussain, A., Lukow, O.M. (1997). Influence of gliadin-rich subfractions of Glenlea wheat on the mixing characteristics of wheat flour. *Cereal Chemistry*, 74(6), 791-799.
- ICC Standards. (2011). *Standard Methods of the International Association for Cereal Science and Technology*, International Association for Cereal Science and Technology, Vienna, Austria, methods ICC 110/1, ICC 121, ICC 173.
- Ikegwu, O.J., Nwobasi V.N., Odoh, M.O. and Oledinma, N.U. (2009). Evaluation of the pasting and some functional properties of starch isolated from some improved cassava varieties in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 8 (10), 2310-2315.
- Imberty, A., Perez, S. (1988). A revisit to the 3-dimensional structure of the B-type starch. *Biopolymers*, 27, 1205-1221.
- Jane, J. (2009). Structural Features of Starch Granules II. In: J. BeMiller, R. Whistler (Eds.), *Starch: Chemistry and Technology* (3rd ed.) (pp. 193-237). Amsterdam: Academic Press, The Neatherlands.
- Janssen, A.M., van Vliet, 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.
- Jiang Z., Li X., Yang S, Li L, Tan S. (2005). Improvement of the breadmaking quality of wheat flour by the hyperthermophilic xylanase B from *Thermotoga maritime*, *Food Research International*, 38, 37-43.
- Kaluđerović, G., Filipović, N. (1998). *Metode ispitivanja kvaliteta žita, brašna i gotovih proizvoda*. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Kim, H.Y.L., Yeom, H.W., Lim, H.S., Lim, S.T. (2001). Replacement of Shortening in Yellow Layer Cakes by Corn Dextrins. *Cereal Chemistry*, 78, 267-271.
- Knill, C.J., Kennedy, J.F. (1998). Starch: Commercial source and derived products. In: Dumitriu, S. (Eds.), *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility* (pp. 605-624). NY: Marcel dekker, Inc., USA.

- Köksel, H.F. (2009). *Effects of xanthan and guar gums on quality and staling of gluten free cakes baked in microwave-infrared combination oven*. MSc thesis, Middle East Technical University, Turkey.
- Kuktaite, R. (2004). *Protein quality in wheat: Changes in protein polymer composition during grain*. PhD thesis. Swedish University of Agricultural Science, Sweden.
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C.G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79, 1033–1047.
- León, A.E., Durán, E., Benedito de Barber, C. (1997). A new approach to study starch changes occurring in the dough-baking process and during bread storage. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung*, 204, 316-320.
- Letang, C., Piau, M., Verdie, C., (1999). Characterization of wheat flour-water doughs. Part I: Rheometry and microstructure. *Journal of Food Engineering*, 41, 121-132.
- Lineback, D.R. (1999). The chemistry of complex carbohydrates. In: S. Cho, L. Prosky, M.L. Dreher (Eds.), *Complex carbohydrates in foods*. Boca Raton: CRC Press, FL, USA.
- Liu Z., Scanlon, M.G. (2003). Predicting mechanical properties of bread crumb. *Food and Bioproducts Processing*, 81(3), 224-238.
- Maarel, M.J.E.C., Veen, B., Uitdehoog, J.C.M. Leemhuis, H., Dijkhuizen, L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*, 94, 137-155.
- Majzoobi, M., Radi, M., Farahnaky, A., Jamalian, J., Tongdang, T., Mesbahi, Gh. (2011). Physicochemical properties of pre-gelatinized wheat starch produced by a twin drum drier. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13, 193-202.
- Masi, P., Cavella, S., Sepe, M. (1998). Characterization of dynamic viscoelastic behaviour of wheat flour doughs at different moisture contents. *Cereal Chemistry*, 75(4), 428–432.
- Matveev, Y.I., van Soest, J.J.G., Nieman, C., Wasserman, L.A., Protserov, V.A., Ezernitskaja, M., Yuryev, V.P. (2001). The relationship between thermodynamic and structural properties of low and high amylose maize starches. *Carbohydrate Polymers*, 44, 151-160.
- Mauro, D.J. (1996). An up to date of starch. *Cereal Food World*, 41, 776–778.
- McCleary, B.V., Charnock, S.J., Rossiter, P.C., O’Shea, M.F., Power, A.M., Lloyd, R.M. (2006). Measurement of carbohydrates in grain, feed and food. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 1648–1661.
- Miles, M.J., Morris, V.J., Orford, P.D., Ring, S.G. (1985). The roles of amylose and amylopectin in gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate Research*, 135, 271–281.

- Miyazaki, M., Hung, P.V., Maeda, T., Morita, N. (2006) Recent advances in application of modified starches for breadmaking. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 591-599.
- Miyazaki, M., Maeda, T., Morita, N. (2004). Effect of various dextrin substitutions for wheat flour on dough properties and bread qualities. *Food Research International*, 37, 59-65.
- Miyazaki, M., Maeda, T., Morita, N. (2005a). Gelatinization properties and bread quality of flours substituted with hydroxypropylated, acetylated and phosphorylated cross-linked tapioca starches for wheat flour. *Journal of Applied Glycoscience*, 52, 345-350.
- Miyazaki, M., Maeda, T., Morita, N. (2005b). Starch retrogradation and firming of bread containing hydroxypropylated, acetylated, and phosphorylated cross-linked tapioca starches for wheat flour. *Cereal Chemistry*, 82, 639-644.
- Miyazaki, M., Maeda, T., Morita, N. (2008). Bread quality of frozen dough substituted with modified tapioca starches. *European Food Research and Technology*, 227, 503-509.
- Morita, N., Maeda, T., Miyazaki, M., Yamamori, M., Miura, H., Ohtsuka, I. (2002). Effect of Substitution of Waxy-Wheat Flour for Common Flour on Dough and Baking Properties. *Food Science and Technology Research*, 8, 119-124.
- Murphy, P. (2000). Starch, In: G.O. Phillips, P.A. Williams (Eds.), *Handbook of Hydrocolloids*. Boca Raton: CRC Press, FL., USA.
- Nasser, M.S., James, A.E. (2008). Degree of flocculation and viscoelastic behaviour of kaolinite-sodium chloride dispersions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 315(1-3), 165-175.
- Pateras, I.M.C. (2007). Bread Spoilage and Staling. In: S.P. Cauvain, L.S. Young (Eds.), *Technology of Breadmaking* (pp 275-298). NY: Springer Science+Business Media, LLC, USA.
- Peng, M., Gao, M., Båga, M., Hucl, P., Chibbar, R.N. (2000). Starch-Branching Enzymes Preferentially Associated with A-Type Starch Granules in Wheat Endosperm. *Plant Physiology*, 124(1), 265-272.
- Peressini, D., Sensidoni, A., Pollini, C.M., De Cindio, B. (2000). Rheology of wheat doughs for fresh pasta blends and salt content production: influence of semolina-flour blends and salt content. *Journal of Texture Studies*, 31(2), 163-182.
- Pérez, S., Baldwin, P. M., Gallant, D. J. (2009). Structural Features of Starch Granules I. In: J. BeMiller, R. Whistler (Eds.), *Starch: Chemistry and Technology* (3rd ed.) (pp. 149-192). Amsterdam: Academic Press, Netherlands.
- Petrofsky, K.E., Hosney, R.C. (1995). Rheological properties of dough made with starch and gluten from several cereal sources. *Cereal Chemistry*, 72(1), 53-58.

- Rao, M.V.N., Skinner, G.E. (1986). Rheological properties of solid foods. In: M.A. Rao, S.S.H. Rizvi (Eds.), *Engineering Properties of Foods* (pp. 215–226). New York: Marcel Dekker, USA.
- Rivero, I.E., Balsamo, V., Muller, A.J. (2009). Microwave-assisted modification of starch for compatibilizing LLDPE/starch blends. *Carbohydrate Polymers*, 75, 343–350.
- Roccia, P., Ribotta P.D., Pérez, G.T., León, A.E. (2009). Influence of soy protein on rheological properties and water retention capacity of wheat gluten. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 358–362.
- Rojas, J.A., Rosell, C.M., Benedito de Barber, C., Pérez Munuera, I., Lluch, M.A. (2000). The baking process of wheat rolls followed by cryo scanning electron microscopy. *European Food Research and Technology*, 212(1), 57–63.
- Rosell, C.M., Foegeding, A. (2007). Interaction of hydroxypropylmethylcellulose with gluten proteins: Small deformation properties during thermal treatment. *Food Hydrocolloids*, 21, 1092–1100.
- Rosell, C.M., Yokoyama, Y., Shoemaker, C. (2011). Rheology of different hydrocolloids–rice starch blends. Effect of successive heating–cooling cycles. *Carbohydrate Polymers*, 84, 373–382.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S., Kulkarni, P.R. (2006). Resistant starch–A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5, 1–17.
- Sandhu, K.S., Singh, N., (2007). Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chemistry*, 101, 1499–1507.
- Santos D.M.J., Monteiro, S.R., Lopes da Silva, J.A. (2005). Small strain viscoelastic behaviour of wheat gluten – pentosan mixtures. *European Food Research and Technology*, 221, 398–405.
- Sasaki, T. (2005). Effect of Wheat Starch Characteristics on the Gelatinization, Retrogradation, and Gelation Properties, *JARQ*, 39(4), 253–260.
- Scanlon, M.G., Zghal, M.C. (2001). Bread properties and crumb structure. *Food Research International*, 34(10), 841–864.
- Schoch, T.J., French, D. (1947). Studies on bread staling. 1. Role of starch. *Cereal Chemistry*, 24, 231–249.
- Schramm, G. (2004). *A Practical Approach to Rheology and Rheometry*. (2nd edition). Thermo Electron (Karlsruhe) GmbH, Karlsruhe, Germany.
- Segura-Campos, M., Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D. (2010). Effect of octenylsuccinylation on functional properties of lima bean (*Phaseolus lunatus*) starch. *Journal of Food Process Engineering*, 33, 712–727.

- Seyhun, N., Sumnu, G., Sahin, S. (2005). Effects of different starch types on retardation of staling of microwave-baked cakes. *Food and Bioproducts Processing*, 83, 1–5.
- Shogren, R.L., Viswanathan, A., Felker, F., Gross, R.A. (2000). Distribution of octenyl succinate groups in octenyl succinic anhydride modified waxy maize starch. *Starch - Stärke*, 52, 196–204.
- Sivaramakrishnan, H.P., Senge, B., Chattopadhyay, P.K. (2004). Rheological properties of rice dough for making rice bread. *Journal of Food Engineering*, 62, 37–45.
- Skendi, A., Biliaderis, C.G., Papageorgiou, M., Izydorczyk, M.S. (2010). Effects of two barley β -glucan isolates on wheat flour dough and bread properties. *Food Chemistry*, 119, 1159–1167.
- Skendi, A., Papageorgiou, M., Biliaderis, C.G. (2009). Effect of barley β -glucan molecular size and level on wheat dough rheological properties. *Journal of Food Engineering*, 91, 594–601.
- Službeni list SFRJ. (1988). Pravilnik o metodama fizičkih i hemijskih analiza za kontrolu kvaliteta žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo smrznutih testa, 74.
- Song, J.Y., Kwon, J.Y., Choi, J., Kim, Y.C., Shin, M. (2006). Pasting properties of non-waxy rice starch-hydrocolloid mixtures. *Starch/Stärke*, 58, 223–230.
- Song, Y., Zheng, Q. (2007). Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 132–138.
- Song, X.-Y., Zhu, W., Li, Z., Zhu, J. (2010). Characteristics and application of octenyl succinic anhydride modified waxy corn starch in sausage. *Starch - Stärke*, 62, 629–636.
- Stampfli, L., Nerste, B. (1995). Emulsifiers in bread making. *Food Chemistry*, 52, 353–360.
- Steffe, J.F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. Freeman Press, USA.
- Sweedman, M.C., Tizzotti, M.J., Schäfer, C., Gilbert, R.G. (2013). Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: a review. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 905–920.
- Tecante, A., Doublier, J.L. (1999). Steady flow and viscoelastic behavior of crosslinked waxy corn starch-k-carrageenan pastes and gels. *Carbohydrate Polymers*, 40, 221–231.
- Tester, R.F., Karkalas, J., Qi, X. (2004). Starch - composition, fine structure and architecture - review. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151–165.
- Tester, R.F., Morrison W.R. (1990). Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effect of amylopectin, amylose and lipids. *Cereal Chemistry*, 67, 551–557.
- Thirathumthavorn, D., Charoenrein, S. (2006). Thermal and pasting properties of native and acid-treated starches derivatized by 1-octenyl succinic anhydride. *Carbohydrate Polymers*, 66, 258–265.
- Thomas, D.J., Atwell, W.A. (1999). *Starches*. Eagen Press, St. Paul, MN, USA.

- Uthayakumaran, S., Newberry, M., Phan-Thien, N., Tanner, R. (2002). Small and large strain rheology of wheat gluten. *Rheologica Acta*, 41, 162-172.
- Van Bockstaele, F., De Leyn, I., Eeckhout, M., Dewettinck, K. (2011). Non-linear creep-recovery measurements as a tool for evaluating the viscoelastic properties of wheat flour dough. *Journal of Food Engineering*, 107, 50-59.
- van Vliet, T. (1999). Physical factors determining gas cell stability in a dough during bread making. In: G.M. Campbell, C. Webb, S.S. Pandiella, K. Niranjana (Eds.), *Bubbles in Food*. (pp 121-127), St Paul: Eagan Press, MN, USA.
- van Vliet, T., Janssen, A.M., Bloksma, A.H., Walstra, P. (1992). Strain hardening of dough as a requirement for gas retention. *Journal of Texture Studies*, 23(4), 439-460.
- Veraverbeke, W.S., Delcour, J.A. (2002). Wheat Protein Composition and Properties of Wheat Glutenin in Relation to Breadmaking Functionality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(3), 179-208.
- Veregin, R.P., Fyfe, C.A., Marchessault, R.H. (1987). Investigation of the crystalline 'V' amylose complexes by high-resolution ¹³C CP/MAS NMR spectroscopy. *Macromolecules*, 20, 3007-3012.
- Viswanathan, A. (1999). Effect of degree of substitution of octenyl succinate starch on the emulsification activity on different oil phases. *Journal of Polymers and the Environment*, 7, 191-196.
- Wang, F.C., Sun, X.S. (2002). Creep-recovery of wheat flour doughs and relationship to other physical dough tests and breadmaking performance (1). *Cereal Chemistry*, 79 (4), 567-571.
- Wang, J., Rosell, C.M., Benedito de Barber, C. (2002). Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*, 79, 221-226.
- Watanabe, A., Larsson, H., Eliasson, A.C. (2002). Effect of physical state of nonpolar lipids on rheology and microstructure of gluten-starch and wheat flour doughs. *Cereal Chemistry*, 79, 203-209.
- Weipert, D. (2006). Fundamentals of rheology and spectrometry. In: L. Popper, W. Schafer, W. Freund (Eds.), *Future of flour a compendium of flour improvement* (pp. 117-146). Clenze: Agrimedia, Germany.
- Weipert, D. (1990). The Benefits of Basic Rheometry in Studying Dough Rheology. *Cereal Chemistry*, 67(4), 311-317.
- Wetzel, D.L., Shi, Y.-C., Schmidt, U. (2010). Confocal Raman and AFM imaging of individual granules of octenyl succinate modified and natural waxy maize starch. *Vibrational Spectroscopy*, 53, 173-177.

- Witczak, M., Juszczak, L., Ziobro, R., Korus, J. (2012). Influence of modified starches on properties of gluten-free dough and bread. Part I: Rheological and thermal properties of gluten-free dough. *Food Hydrocolloids*, 28, 353–360.
- Witczak, M., Korus, J., Ziobro, R., Juszczak, L. (2010). The effects of maltodextrins on gluten-free dough and quality of bread. *Journal of Food Engineering*, 96, 258-265.
- Wolf, B.W., Bauer, L.L., Fahey, G.C. (1999). Effects of chemical modification on in vitro rate and extent of food starch digestion: An attempt to discover a slowly digested starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4178–4183.
- Wu, H. C. H., Sarko, A. (1978). The double-helical molecular structure of crystalline A-amylase. *Carbohydrate Research*, 61, 27–40.
- Wurzburg, O.B. (2006). Modified starches, In: A.M. Stephen, G.O. Phillips, P.A. Williams (Eds.). *Food polysaccharides and their applications* (2nd ed.). Boca Raton: CRC Press, FL, USA.
- Yang, Y., Song, Y., Zheng, Q. (2011). Rheological behaviors of doughs reconstituted from wheat gluten and starch. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 489–493.
- Ziobro, R., Korus, J., Witczak, M., Juszczak, L. (2012). Influence of modified starches on properties of gluten-free dough and bread. Part II: Quality and staling of gluten-free bread. *Food Hydrocolloids*, 29, 68–74.
- Zobel, H.F., Stephen, A.M. (2006). Starch: Structure, analysis, and application, In: A.M. Stephen, G.O. Phillips, P.A. Williams (Eds.), *Food polysaccharides and their applications* (2nd edition) (pp. 25-59). Boca Raton: CRC Press, FL., USA.

Prilozi

Prilog 1

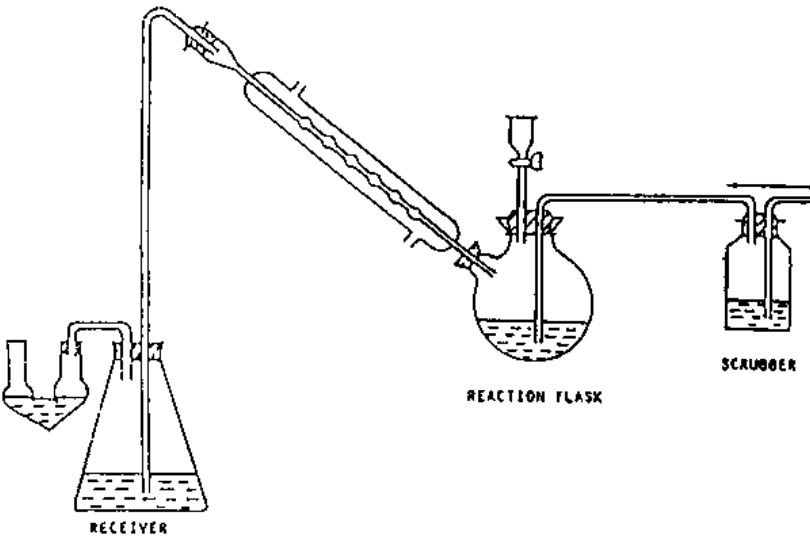
Iz "Combined Compendium of Food Additive Specifications", Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Rome, 1997.:

*Prepared at the 49th JECFA (1997)
superseding specifications prepared at the 35th JECFA (1989),
published in FNP 49 (1990)*

	<p>Modified starches comprise the following:</p> <p>Dextrin roasted starch: INS No. 1400 Acid treated starch: INS No. 1401 Alkaline treated starch: INS No. 1402 Bleached starch: INS No. 1403 Oxidized starch: INS No. 1404 Enzyme-treated starch: INS No. 1405 Monostarch phosphate: INS No. 1410 Distarch phosphate: INS No. 1412 Phosphated distarch phosphate: INS No. 1413 Acetylated distarch phosphate: INS No. 1414 Starch acetate: INS No. 1420 Acetylated distarch adipate: INS No. 1422 Hydroxypropyl starch: INS No. 1440 Hydroxypropyl distarch phosphate: INS No. 1442 Starch sodium octenylsuccinate: INS No. 1450</p>
DEFINITION	<p>Food starches which have one or more of their original characteristics altered by treatment in accordance with good manufacturing practice by one of the procedures listed in Table 1. In the case of starches treated with heat in the presence of acid or with alkali, the alteration is a minor fragmentation. When the starch is bleached, the change is essentially in the colour only. Oxidation involves the deliberate production of carboxyl groups. Treatment with reagents such as orthophosphoric acid results in partial substitution in the 2,6- or 3- position of the anhydroglucose unit unless the 6-position is occupied for branching. In cases of cross-bonding, where a polyfunctional substituting agent, such as phosphorus oxychloride, connects two chains, the structure can be represented by: Starch-O-R-O-Starch, where R = cross-bonding group and Starch refers to the linear and/or branched structure. The article of commerce can be specified by the parameter specific for the particular type of modification as indicated in Column 3 of Table 1, and may also be further specified as</p>

	to the loss on drying, sulfated ash, protein and fat.	
C.A.S. number	Starch acetate:	9045-28-7
	Acetylated distarch adipate:	68130-14-3
	Hydroxypropyl starch:	9049-76-7
	Hydroxypropyl distarch phosphate:	53124-00-8
DESCRIPTION	Most modified starches are white or off-white, odourless powders. According to the drying method these powders can consist of whole granules having the appearance of the original native starch, or aggregates consisting of a number of granules (pearl starch, starch-grits) or, if pregelatinized, of flakes, amorphous powder or coarse particles.	
FUNCTIONAL USES	Thickener, stabilizer, binder, emulsifier	
CHARACTERISTICS		
IDENTIFICATION		
<i>Solubility</i>	Insoluble in cold water (if not pregelatinized); forming typical colloidal solutions with viscous properties in hot water; insoluble in ethanol.	
Microscopy	Passes test See description under TESTS	
Iodine stain	Passes test See description under TESTS	
Copper reduction	Passes test See description under TESTS	
Differentiation test	Passes test for type of starch See description under TESTS for: 1. Hypochlorite oxydised starch 2. Specific reaction for acetyl groups 3. Positive test for ester groups	
PURITY		
Sulfur dioxide	Not more than 50 mg/kg for modified cereal starches Not more than 10 mg/kg for other modified starches unless otherwise specified in Table 1 See description under TESTS	
<i>Lead</i>	Not more than 2 mg/kg Prepare a sample solution as directed for organic compounds in the Limit Test and determine the lead content by atomic absorption spectrometry	
Additional purity specifications for individual modified starches		
	See column 3 of Table 1 See description under TESTS	
TESTS		
IDENTIFICATION TESTS		
Microscopy	Modified starches which have not been pregelatinized retain their granular structure and can be identified as starches by microscopic observation. Shape, size and sometimes striations are characteristics of the botanical origin. In polarized light under crossed nicol prisms the typical polarization cross will be observed	
Iodine stain	Add a few drops of 0.1 N potassium tri-iodide to an aqueous suspension of the sample. These starches stain with iodine in the same way as native starches. The colour can range from dark blue to red	
Copper reduction	Place about 2.5 g of the sample previously washed with water, in a boiling	

	flask, add 10 ml of dilute hydrochloric acid (3%) and 70 ml of water, mix, reflux for about three hours and cool. Add 0.5 ml of the resulting solution to 5 ml of hot alkaline cupric tartrate TS. A copious red precipitate is produced
Differentiation test	<p>To differentiate between various treated starches perform the following tests:</p> <p>1. Test for hypochlorite-oxidized starch (not for slightly oxidized potato starch)</p> <p>Principle:</p> <p>Because of the carboxyl group content, hypochlorite-oxidized starch has anionic properties. It can be dyed with positively charged dyes such as methylene blue.</p> <p>Procedure:</p> <p>50 mg of the sample are kept in suspension for 5-10 min in 25 ml of a 1% aqueous dye solution and stirred occasionally. After decantation of the excess solution, the starch is washed with distilled water. Microscopic inspection clearly shows colouring, if the sample is hypochlorite-oxidized starch. By this test hypochlorite-oxidized starch is distinguished from native and acid modified starch of the same botanical origin.</p> <p>2. Specific reaction of acetyl groups</p> <p>Principle:</p> <p>Acetate is liberated upon saponification of acetylated starch. After concentration the acetate is converted to acetone by heating with calcium hydroxide. The acetone thus produced stains blue with o-nitrobenzaldehyde.</p> <p>Procedure:</p> <p>About 10 g of the sample is suspended in 25 ml water to which is added 20 ml of 0.4 N NaOH. After shaking for 1 h the starch is filtered off and the filtrate evaporated in an oven at 110°. The residue is dissolved in a few drops of water and transferred to the test tube. Calcium hydroxide is added and if the sample is an acetylated starch, the tube heated thereby gives off acetone vapours. These produce a blue colour on a paper strip soaked in a fresh saturated solution of o-nitrobenzaldehyde in 2 N NaOH. The blue colour is more distinct when the original yellow colour of the reagents is removed with 1 drop of a 1 in 10 solution of hydrochloric acid.</p> <p>3. Positive test for ester groups</p> <p>The infrared spectrum of a thin film gives a typical absorption band at about 1720 cm⁻¹ which is an indication for ester groups. The limit of detection is about 0.5% acetyl, adipyl or succinyl groups in the product.</p>
PURITY TESTS	

Sulfur dioxide	<p>Scope:</p> <p>The method is applicable, with minor modifications, to liquid or solid samples even in the presence of other volatile sulfur compounds.</p> <p>Principle:</p> <p>The sulfur dioxide is released from the sample in a boiling acid medium and is removed by a stream of carbon dioxide. The separated gas is collected in dilute hydrogen peroxide where it is oxidized to sulfuric acid and titrated with standard alkali. Alternatively, the sulfuric acid may be determined gravimetrically.</p> <p>Apparatus:</p> <p>"Monier-Williams" apparatus for the determination of sulfurous acid, constructed with standard-taper glass connections, can be obtained from any reliable scientific glass apparatus store. It is customary, however, to construct the apparatus with regular laboratory glassware using stopper connections (see Figure 1).</p> <p style="text-align: center;">Figure 1</p>  <p>The assembly consists of a 1000-ml two-neck round-bottom boiling flask to which a gas-inlet tube, a 60-ml dropping funnel having a 2-mm bore stopcock, and a sloping Allihn reflux condenser are attached. A delivery tube connects the upper end of the condenser to the bottom of a 250-ml conical receiving flask, which is followed by a Peligot tube.</p> <p>In operation, carbon dioxide is passed through the scrubber and bubbled through the heated reaction mixture, sweeping sulfur dioxide through the condenser and into the receivers where it is absorbed quantitatively.</p> <p>Preparation of solutions:</p> <p>Sodium carbonate solution: Dissolve approximately 15 g of Na_2CO_3 or 40</p>
----------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

	<p>g of $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ in distilled water, and dilute to 100 ml.</p> <p>Hydrogen peroxide, 3%: Dilute 10 ml of C.P. (Chemical Purity) neutral 30% hydrogen peroxide (H_2O_2) with distilled water to 100 ml.</p> <p>Procedure:</p> <p>Pass carbon dioxide from a generator or cylinder through the sodium carbonate scrubber solution to remove chlorine, thence into the gas-inlet tube of the boiling flask. Place 15 ml of the 3% hydrogen peroxide in the receiving flask and 5 ml in the Peligot tube. Connect the apparatus and introduce into the boiling flask, by means of the dropping funnel, 300 ml of distilled water and 20 ml of concentrated hydrochloric acid. Boil the contents approximately 10 min in a current of carbon dioxide. Weigh, to the nearest g, 100 g of the sample and disperse in approximately 300 ml of recently-boiled distilled water. Transfer the slurry to the boiling flask by means of dropping funnel, regulating the sample addition rate and the gas flow rate through the apparatus to prevent drawback of hydrogen peroxide, inclusion of air, or burning of sample. Boil the mixture gently for 1 h in a slow current of carbon dioxide. Stop the flow of water in the condenser just before the end of the distillation. When the delivery tube just above the receiving flask becomes hot, remove the tube from the condenser immediately. Wash the delivery tube and the Peligot tube contents into the receiving flask, and titrate with 0.1 N sodium hydroxide, using bromphenol blue indicator (see Note).</p> <p>Perform a blank determination on the reagents, and correct results accordingly.</p> $\% \text{ sulfur dioxide} = \frac{(B - S) \times 0.0032 \times 100}{W}$ <p>in which</p> <p>S = ml of 0.1 N sodium hydroxide used for the sample B = ml of 0.1 N sodium hydroxide used for the blank W = the weight (in grams) of the sample.</p> <p><u>Note.</u> A gravimetric determination may be made after titration. Acidify with HCl, precipitate with BaCl_2, settle, filter, wash, ignite, and weigh as BaSO_4.</p>
--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Table 1. Additional purity specifications for individual chemically modified starches (All percentages calculated on dry substance)

Modification	Process limitations	End-product specifications
Dextrin roasted starch	Dry heat treatment with hydrochloric acid or ortho-phosphoric acid	Final pH 2.5-7.0
Acid treated starch	Treatment with hydrochloric acid or ortho-phosphoric acid or sulfuric acid	Final pH 4.8-7.0
Alkaline treated starch	Treatment with sodium hydroxide or potassium	Final pH 5.0-7.5

	hydroxide	
Bleached starch	Treatment with peracetic acid and/or hydrogen peroxide, or	Added carbonyl group not more than 0.1%
	sodium hypochlorite or sodium chlorite, or	No residual reagent
	sulfur dioxide or alternative permitted forms of sulfites, or	Residual sulfur dioxide not more than 50 mg/kg
	potassium permanganate or ammonium persulfate	Residual manganese not more than 50 mg/kg
Enzyme-treated starch	Treatment in an aqueous solution at a temperature below the gelatinization point with one or more food-grade amyolytic enzymes	Residual sulfur dioxide not more than 50 mg/kg
Oxidized starch	Treatment with sodium hypochlorite	Carboxyl groups not more than 1.1%
		Residual sulfur dioxide not more than 50 mg/kg
Monostarch phosphate	Esterification with ortho-phosphoric acid, or sodium or potassium ortho-phosphate, or sodium tripolyphosphate	Phosphate calculated as phosphorus not more than 0.5% for potato or wheat, and not more than 0.4% for other starches
Distarch phosphate	Esterification with sodium trimetaphosphate or phosphorus oxychloride	Phosphate calculated as phosphorus not more than 0.5% for potato and wheat, and not more than 0.4% for other starches
Phosphated distarch phosphate	Combination of treatments for Monostarch phosphate and Distarch phosphate	Phosphate calculated as phosphorus not more than 0.5% for potato and wheat, and not more than 0.4% for other starches
Acetylated distarch phosphate	Esterification by sodium trimetaphosphate or phosphorus oxychloride combined with esterification by acetic anhydride or vinyl acetate	Acetyl groups not more than 2.5%; phosphate calculated as phosphorus not more than 0.14% for potato and wheat, and 0.04% for other starches; and vinyl acetate not more than 0.1 mg/kg
Starch acetate	Esterification with acetic anhydride or vinyl acetate	Acetyl groups not more than 2.5%
Acetylated distarch adipate	Esterification with acetic anhydride and adipic anhydride	Acetyl groups not more than 2.5% and adipate groups not more than 0.135%
Hydroxypropyl starch	Esterification with propylene oxide	Hydroxypropyl groups not more than 7.0%; propylene chlorohydrin not more than 1 mg/kg
Hydroxypropyl distarch phosphate	Esterification by sodium trimetaphosphate or phosphorus oxychloride combined with etherification by propylene oxide	Hydroxypropyl groups not more than 7.0%; propylene chlorohydrin not more than 1 mg/kg; and residual phosphate calculated as phosphorus not more than 0.14% for potato and wheat, and not more than 0.04% for other starches
Starch sodium octenylsuccinate	Esterification by octenylsuccinic anhydride	Octenylsuccinyl groups not more than 3%; and residual octenylsuccinic acid not more than 0.3%

Methods for additional purity specifications:

Degree of substitution of starch sodium octenyl succinate

Principle:

The Degree of Substitution is determined by alkali consumed after acidification and thorough washing of the starch half ester.

Procedure:

Weigh out 5.0 g of sample in a 150-ml beaker. Wet out with a few ml of reagent grade isopropyl alcohol. Add, by pipette 25 ml of 2.5 N hydrochloric acid in isopropanol, allowing the acid to wash down any sample on the sides of the beaker. Stir for 30 min on a magnetic stir plate. Add 100 ml of 90% isopropanol from a graduated cylinder. Stir for 10 min. Filter the sample through a Buchner funnel and wash the filter cake with 90% isopropanol until the filtrate is negative for chloride ions. Use 0.1 N AgNO₃ to check for chloride ions. Transfer the filter cake to a 600-ml beaker and rinse the Buchner funnel to wash any starch into the beaker. Bring to a 300-ml volume with distilled water. Place for 10 min in a boiling water bath with stirring. Titrate while hot with 0.1 N NaOH to the phenolphthalein end-point.

Calculation:

Calculate as follows:

$$\text{Degree of substitution (DS)} = \frac{0.162 \times A}{1 - 0.210 \times A}$$

where:

A = milliequivalents of sodium hydroxide required per g of starch octenyl succinate.

Residual octenyl succinic acid in starch sodium octenyl succinate

Extraction and Preparation of Sample Solution:

Extract about 500 mg of starch with 15 ml of methanol overnight under constant shaking (weigh starch accurately). Filter the extraction mixture. Wash the starch on the filter with 7 ml of methanol. Repeat three times. Combine all filtrates (about 80% of the residuals are extracted by this procedure). Add 1 ml of 0.16 N methanolic KOH to the extracts. Dry the extracts with a flash evaporator at 30°. Dissolve the residue in 2 ml methanol. Take 0.5 ml of residue solution to the reaction vial. Add 0.5 ml derivative reagent (2.8 g of 2-p-dibromoacetophenone and 0.28 g 18-Crown-6 in 50 ml CH₃CN) to the reaction vial. Add 2 ml CH₃CN to the reaction vial. Cap the reaction vial and heat it at 80° for 30 min. Cool the reaction solution to room temperature (use within 24h).

Liquid Chromatography Analysis:

Column:	Micro-Bondapack C ₁₈ (Waters)
Mobile Phase:	Gradient elution of 70% methanol in water to 80% methanol in water in 5 min. Curve 6 (Waters 660 solvent programmer)
Flow Rate:	1.5 ml/min
Detector:	UV at 254 nm, attenuation 0.16 AUFS
Injection volume:	5 μl

Preparation of Calibration Curve:

Prepare a 0.5 M solution of sodium octenyl succinate (Solution A). With a syringe take 0.25 ml of Solution A and place into a 25-ml volumetric flask. Dilute to mark with methanol (Solution B). Prepare three calibration standards by taking 0.5, 1 and 2 ml of Solution B and placing into three 50-ml round bottom flasks. Add to each 1 ml of 0.16 N methanolic KOH. Dry each solution with a flash evaporator at 30°. Dissolve the residue in 2.0 ml of methanol (Solution C₁, C₂ and C₃). Place 0.5 ml of the residue solution in the reaction vial. Add 0.5 ml derivative reagent (2.8 g of 2-p-dibromoacetophenone and 0.28 g of 18-Crown-6 in 50 ml of CH₃CN) to the reaction vial. Add 2 ml of CN₃CN to the reaction vial. Cap the vial and heat to 80° for 30 min. Cool the reaction solution to room temperature (the derivative should be prepared as needed and used immediately). Inject 5 μl into the Liquid Chromatograph. The amount of residuals in each of the 5-μl injections are the following:

for Solution C ₁	0.2375 μg
for Solution C ₂	0.4750 μg
for Solution C ₃	0.9500 μg

Plot peak height from Liquid Chromatograph Chart versus μg of residuals per 5 ml of solution.

Calculations:

Prepare a calibration curve according to the procedure. Using the peak height of the unknown sample from the Liquid Chromatograph Chart, determine the level of residuals (calculated as octenyl succinic acid) in the injected volume from the calibration curve.

$$\% \text{ Residual in Starch} = \frac{300 \times \text{Value from Graph}}{\text{Weight of Starch (mg)}}$$

Note: The formula is corrected to 100% recovery by dividing by 0.80, so that 240/0.80 = 300.

Prilog 2

Iz Pravilnika o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine (Sl. List SCG br. 56/03, 5/04 i 16/05):

E 1450 SKROB-NATRIJUM-OKTENILSUKCINAT

Sinonimi	SSOS
Definicija	Skrob esterifikovan anhidridom oktenilčilibarne kiseline
Osobine	Beo ili skoro beo prašak ili zrnca ili, ukoliko je preželiran (prokuvan i osušen), ljuspice, amorfan prašak ili grube čestice
Identifikacija	
A. Mikroskopski pregled (nepreželiran)	
B. Bojenje jodom	Tamnoplava do svetlocrvena boja
Čistoća	Sve vrednosti su izražene u odnosu na bezvodnu supstancu izuzev gubitka sušenjem
Gubitak sušenjem	Najviše 15,0% (za skrob žitarica) Najviše 21,0% (za krompirov skrob) Najviše 18,0% (za ostale skrobove)
Oktenilsukcinil grupe	Najviše 3,0%
Rezidui oktenilčilibarne kiseline	Najviše 0,3%
Sumpor-dioksid	Najviše 50 mg/kg (za skrob žitarica) Najviše 10 mg/kg (za ostale skrobove, ukoliko nije drukčije specificirano)
Arsen	Najviše 1 mg/kg
Olovo	Najviše 2 mg/kg
Živa	Najviše 0,1 mg/kg