



UNIVERZITET U NOVOM SADU
TEHNOLOŠKI FAKULTET

**Uticaj termičkih tretmana hrane za
životinje na promene skrobne
komponente i svarljivost**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentori:

Prof. dr Ljubica Dokić

Dr Jovanka Lević

Kandidat:

Bojana Kokić

Novi Sad, 2017.

Želela bih da se zahvalim svojoj mentorki, dr Jovanki Lević, osobi koja je sve ovo omogućila, koja mi je pružila priliku, obezbedila uslove i imala puno poverenja u mene. Hvala joj na velikoj podršci i pomoći.

Mentoru prof. dr Ljubici Dokić dugujem veliku zahvalnost na razumevanju, dragocenoj pomoći i sugestijama tokom izrade ove disertacije.

Posebno se zahvaljujem dr Radetu Jovanoviću na svestranoj pomoći, korisnim sugestijama i stručnim savetima koje mi je pružio tokom izrade ove disertacije.

Veliku zahvalnost za pomoć u eksperimentalnom radu, kao i na preuzimanju velikog dela drugih obaveza koje sam zapostavila tokom rada na disertaciji, dugujem dragim kolegama dr Oliveri Đuragić, dr Đuri Vukmiroviću, dr Radmilu Čoloviću, dr Dušici Čolović, dr Ivani Čabarkapi, dr Šandoru Kormanjošu, Nedeljki Spasevski, Sanji Popović, Slađani Rakiti, Vojislavu Banjcu, Albertu Kormanjošu, Sari Kiš, dr Tamari Dapčević Hadnađev i dr Miroslavu Hadnađevu.

Veliku zahvalnost dugujem kolegama Maria Chrenkova, Zuzana Formelova, Maria Polacikova i Matus Rajskey iz Animal Production Research Centre Nitra u Slovačkoj na svesrdnoj pomoći u realizaciji eksperimentalnog dela i izvođenju in situ metode.

Zahvaljujem se dr Lati Pezu na ogromnoj pomoći tokom obrade eksperimentalnih podataka.

Zahvaljujem se koleginići Milici Marković i FSH „Opulent“ koji su mi omogućili izvođenje parnog flekičenja kukuruza.

Zahvaljujem se direktoru FSH „Komponenta“ za izvođenje tretmana mikronizacije.

Posebnu zahvalnost dugujem dr Draganu Paliću od kog je i potekla ideja o izradi ove disertacije.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici na bezgraničnom razumevanju i moralnoj podršci bez koje bi sve ovo bilo neizvodljivo.

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ**ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ****KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada: VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Bojana Kokić, dipl. inženjer
Mentor: MN	Prof. dr Ljubica Dokić, redovni profesor Dr Jovanka Lević, naučni savetnik
Naslov rada: NR	Uticaj termičkih tretmana hrane za životinje na promene skrobne komponente i svarljivost
Jezik publikacije: JP	srpski, latinica
Jezik izvoda: JI	srpski / engeski
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2017
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija

Fizički opis rada: FO	7 poglavlja, 129 stranica, 19 slika, 21 tabela, 216 literaturnih navoda
Naučna oblast: NO	Biotehničke nauke
Naučna disciplina: ND	Tehnologija hrane za životinje
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	hrana za životinje, kukuruz, termički tretmani, skrob, svarljivost
UDK	
Čuva se: ČU	Biblioteka Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, Bul. cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija
Važna napomena: VN	Istraživanja u ovoj tezi finansirana su od strane Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije u okviru projekta III46012 i projekta bilateralne saradnje sa Slovačkom (evidencioni broj 680-00-140/2012-09/14)
Izvod: IZ	<p>Pravilna ishrana preživara je važna za održanje zdravstvenog stanja životinja, a takođe je i ključna za efikasnu i ekonomičnu proizvodnju mleka i mesa. Kod visokoproizvodnih preživara, kao što su tovna junad i mlečne krave, energetske potrebe su velike kako bi se ostvario brz prirast telesne mase i visok prinos mleka. Termički tretmani se koriste za poboljšanje hranljivih, higijenskih, fizičkih i hemijskih karakteristika hrane za životinje. Osnovni cilj istraživanja u okviru ove disertacije je analiza uticaja različitih termičkih tretmana na promene skrobne komponente i svarljivost kukuruza kod preživara. U tu svrhu primenjeni su tretmani peletiranja, parnog flekičenja, mikronizacije i ekstrudiranja na uzorcima kukuruza i potpune smeše za krave muzare. Promene u strukturi skrobnih granula su praćene pomoću skeniranja elektronske mikroskopije i diferencijalne skenirajuće kalorimetrije, dok su promene u hidrataciji i bubrenju uzoraka određene analizom kriva pastiranja, indeksa apsorpcije vode (WAI) i indeksa rastvorljivosti u vodi (WSI). <i>In situ</i> tehnikom je praćena promena brzine svarljivosti skroba i suve materije u buragu preživara i uticaj različitih termičkih tretmana na mesto varenja skroba kukuruza. Promene u svarljivosti organske materije (SOM) kroz ceo digestivni trakt preživara su određene <i>in vitro</i> multi-enzimskom metodom.</p> <p>Na osnovu rezultata DSC analize uzoraka kukuruza i smeša utvrđeno je da su parno flekičenje, mikronizacija i peletiranje blagi tretmani, dok je ekstrudiranje oštiji tretman koji dovodi do potpunije želatinizacije skroba. U uzorku parno flekičanog kukuruza došlo je do interakcije degradiranih komponenti (skroba, proteina i lipida) na molekularnom nivou i nastanak jedinjenja sa većom molekulskom masom i smanjenom rastvorljivošću. U dva uzorka ekstrudiranog kukuruza zbog većih sila smicanja i dužeg vremena zadržavanja materijala u ekstruderu došlo je do delimične želatinizacije koja</p>

je bila praćena dekstrinizacijom skroba. *In situ* metodom su za uzorak netretirane smeše određene najniže vrednosti nestajanja SM i skroba u buragu, dok su svi primenjeni termički tretmani doveli do značajnog povećanja razgradnje SM i skroba. Najmanje povećanje razgradnje skroba u poređenju sa netretiranom smešom je zabeleženo kod smeše koja je sadržala parno flekićan kukuruz, dok je u svim uzorcima ekstrudiranih smeša došlo do razgradnje velike kolićine skroba već tokom prva 3h inkubacije. U poređenju sa netretiranom smešom, svi primenjeni termički tretmani su doveli do povećanja brzine razgradnje skroba u manjoj ili većoj meri a u zavisnosti od vrste i intenziteta tretmana. Znaćajne razlike u karakteristikama razgradnje skroba su zabeležene nakon variranja procesnih parametara ekstrudiranja, dok su uočene razlike između smeša koje su sadržale mikronizirani kukuruz bile mnogo manje izražene. *Mobile bag* metodom određena je svarljivost skroba u crevima koja je u netretiranoj i svim termički tretiranih smešama iznosila 100%. Statistićkom obradom rezultata nije utvrđeno znaćajno povećanje SOM kukuruza i smeše nakon primenjenih termićkih tretmana u poređenju sa netretiranim uzorcima.

Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	25.6.2015
Datum odbrane: DO	
Ćlanovi komisije: KO	<p>dr Aleksandar Fišteš, vanredni profesor, Tehnološki fakultet, Novi Sad, predsednik</p> <p>dr Ljubica Dokić, redovni profesor, Tehnološki fakultet, Novi Sad, mentor</p> <p>dr Jovanka Lević, naućni savetnik, Naućni institut za prehrambene tehnologije, Novi Sad, mentor</p> <p>dr Dragana Šoronja Simović, docent, Tehnološki fakultet, Novi Sad, ćlan</p> <p>dr Denis Kućević, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, ćlan</p>

UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF TEHNOLOGY
KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Bojana Kokić, Graduated Engineer
Mentor: MN	dr Ljubica Dokić, full professor dr Jovanka Lević, research fellow
Title: TI	The influence od feed heat treatments on changes of starch component and digestibility
Language of text: LT	Serbian, latin
Language of abstract: LA	Serbian / English
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	AP Vojvodina
Publication year: PY	2017
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Serbia
Physical description: PD	7 chapters, 129 pages, 19 figures, 21 tables, 216 references
Scientific field: SF	Biotechnical sciences
Scientific discipline: SD	Feed technology

Subject, Key words: SKW	animal feed, corn, thermal treatments, starch, digestibility
UDC	
Holding data: HD	Library of Faculty of Technology, Novi Sad, Bul. cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Serbia
Note: N	Research in this thesis was financed by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia within the project III46012 and bilateral cooperation with Slovakia (registration number 680-00-140/2012- 09/14)
<p>Abstract: AB</p> <p>Proper ruminant nutrition is important for maintaining the health of animals, and it is also crucial for the efficient and economical production of milk and meat. In high-yielding ruminants, such as fattening cattle and dairy cows, energy needs are high in order to achieve rapid weight gain and high milk yield. Thermal treatments are used to improve nutritional, hygienic, physical and chemical characteristics of animal feed. The main objective of this research is the analysis of the influence of various thermal treatments on changes in the starch component and the digestibility of corn in ruminants. For this purpose pelleting, steam flashing, micronization and extrusion of maize samples and complete mixture for dairy cows were applied. Changes in the structure of starch granules were monitored by scanning electron microscopy and differential scanning calorimetry (DSC), while changes in the hydration and swelling of samples were determined by analyzing pasting properties, water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI) of samples. <i>In situ</i> technique was used to determine the changes in the rate of digestibility of starch and dry matter in rumen and the influence of various thermal treatments on the site of digestion of corn starch. Changes in the organic matter digestibility (OMD) through the entire digestive tract of the ruminants are determined by the <i>in vitro</i> multi-enzymatic method.</p> <p>Based on the results of DSC analysis of corn and complete feed samples, it has been found that steam flaking, micronization and pelleting are mild treatments, while the extrusion is more severe treatment that leads to a more complete starch gelatinization. In steam flaked corn interaction of degraded components (starch, proteins and lipids) at the molecular level resulted in the formation of compounds with higher molecular weight and reduced solubility. In two samples of extruded corn, due to the higher shear rate and longer retention time of the material in the extruder, there was partial gelatinization followed by dextrinisation of starch. In untreated complete feed, the lowest values of DM and starch disappearance in rumen were determined using <i>in situ</i> method, while all the applied thermal treatments led to a significant increase in the degradation of DM and starch. The smallest increase in degradation of starch in comparison to untreated mixture was observed in a mixture containing steam flaked corn, while in all extruded mixtures large amount of starch was degraded during the first 3 hours of incubation. Compared to the untreated mixture, all applied thermal treatments resulted in an increase in the degradation rate of starch to a lesser or greater extent</p>	

<p>depending on the type and intensity of the treatment. Significant differences in the degradation characteristics of the starch were observed after variation of the extrusion processing parameters, while the observed differences between the mixtures containing micronized corn were much less pronounced. Digestibility of starch in the intestine was determined with <i>mobile bag</i> method, which was 100% in untreated and all thermally treated mixtures. Statistical analysis of the results did not show a significant increase in OMD of maize and mixtures after the applied thermal treatments compared to the untreated samples.</p>	
Accepted on Senate on: AS	25.6.2015
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<p>dr Aleksandar Fišteš, associate professor, Faculty of Technology, Novi Sad, chairman</p> <p>dr Ljubica Dokić, full professor, Faculty of Technology, Novi Sad, menthor</p> <p>dr Jovanka Lević, research fellow, Scientific Institute of Food Technology, Novi Sad, menthor</p> <p>dr Dragana Šoronja Simović, assistant professor, Faculty of Technology, Novi Sad, member</p> <p>dr Denis Kučević, associate professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad, member</p>

Sadržaj

Poglavlje 1: Uvod	1
Poglavlje 2: Pregled literature	3
2.1. Kukuruz	3
2.1.1. Građa zrna kukuruza	4
2.1.2. Skrob	5
2.1.3. Organizacija skrobne granule	7
2.1.4. Želatinizacija skroba	7
2.2. Termički tretmani	11
2.2.1. Parno flekičenje	12
2.2.2. Mikronizacija	13
2.2.3. Peletiranje	14
2.2.4. Ekstrudiranje	16
2.3. Digestivni sistem preživara i proces varenja hrane	18
2.3.1. Varenje skroba i metabolizam glukoze u buragu i crevima	22
2.3.2. Ishrana bogata žitaricama	24
2.3.3. Uticaj termičkih tretmana na svarljivost kukuruza	27
2.4. Metode za procenu svarljivosti hrane	31
2.4.1. Hemijska analiza	32
2.4.2. <i>In vitro</i> tehnika	32
2.4.3. Enzimske metode	33
2.4.4. <i>In situ</i> tehnika	35
2.4.4.1. Metode za procenu svarljivosti nakon rumena	36
Poglavlje 3: Cilja rada	37
Poglavlje 4: Materijal i metode	39
4.1. Materijal	39
4.2. Tehnološki proces peletiranja	40
4.3. Tehnološki proces parnog flekičanja	43
4.4. Tehnološki proces mikronizacije	44
4.5. Tehnološki proces ekstrudiranja	45
4.6. Određivanje osnovnog hemijskog sastava	47

4.7. Određivanje stepena želatinizacije diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom	47
4.8. Određivanje indeksa apsorpcije vode (WAI) i indeksa rastvorljivosti u vodi (WSI)	48
4.9. Određivanje reoloških svojstva	49
4.10. Određivanje mikrostrukture	50
4.11. Određivanje razgradivosti suve materije i skroba u buragu	51
4.12. Određivanje svarljivosti skroba u crevima	52
4.13. Enzimsko određivanje sadržaja skroba	53
4.14. Određivanje svarljivosti organske materije	54
4.15. Statistička obrada podataka	56
Poglavlje 5: Rezultati i diskusija	58
5.1. Uticaj termičkih tretmana na stepen želatinizacije skroba kukuruza i smeše na bazi kukuruza	59
5.2. Uticaj termičkih tretmana na indeks apsorpcije vode (WAI) i indeks rastvorljivosti u vodi (WSI) kukuruza i smeše na bazi kukuruza	67
5.3. Uticaj termičkih tretmana na karakteristike pastiranja kukuruza i smeše na bazi kukuruza	72
5.4. Uticaj termičkih tretmana na mikrostrukturu kukuruza	80
5.5. Uticaj termičkih tretmana na svarljivost suve materije i skroba smeše na bazi kukuruza u buragu	82
5.5.1. Razgradnja SM smeše na bazi kukuruza	82
5.5.2. Razgradnja skroba smeše na bazi kukuruza	85
5.6. Uticaj termičkih tretmana na svarljivost skroba u crevima smeše na bazi kukuruza	95
5.7. Uticaj termičkih tretmana na svarljivost organske materije (SOM) kukuruza i smeše na bazi kukuruza	97
5.8. Analiza rezultata	99
5.8.1. Korelaciona analiza	99
5.8.2. Klusterska analiza	103
5.8.3. Analiza glavnih komponenata (PCA)	105
Poglavlje 6: Zaključak	108
Literatura	113

Poglavlje 1

Uvod

Ishrana životinja može da dostigne i do 60% troškova na farmama, pa je stoga nutritivna procena hrane za preživare i formulisanje dobro izbalansiranih obroka koji mogu da zadovolje potrebe životinja važan izazov u stočarstvu. Procena hrane za životinje se može definisati kao „*opis hrane kao sposobnost da održi različite vrste i nivoe performansi životinja*“. Sposobnost hrane da održava performanse životinja uglavnom zavisi od njene svarljivosti. Fizičke i hemijske karakteristike utiču na svarljivost obzirom da od ovih svojstva hrane zavisi sposobnost enzima za varenje da kolonizuju i svare čestice hrane. Iskorišćenje sastojaka obroka preživara zavisi od brzine razgradnje hranljivih materija u buragu i svarljivosti u crevima, koju je potrebno znati i kontrolisati kako bi se poboljšala svarljivost u buragu i celom digestivnom traktu, i optimizovala proizvodnja i sastav mleka i mesa.

Žitarice se međusobno značajno razlikuju po karakteristikama fermentacije u buragu preživara, što je u najvećoj meri posledica fizičkih i hemijskih osobina skroba žitarica. Skrob čini 45-75% SM žitarica (Offner i sar., 2003), a važan je u ishrani preživara kao izvor energije. Svarljivost skroba generalno zavisi od karakteristika granula kao što su veličina, stepen kristalnosti, stepen polimerizacije, neskrbnih komponenata i njihovih interakcija sa skrobom, i odnosa

amiloza:amilopektin. Takođe, vrsta i stepen prerade su dodatni faktori, a nastale fizičko-hemijske promene utiču na strukturne, molekularne i funkcionalne karakteristike. Stoga, ispitivanje navedenih karakteristika i povezanost sa svarljivošću je neophodno za razumevanje efekata termičkih tretmana na brzinu varenja.

Poglavlje 2

Pregled literature

2.1. KUKURUZ

Kukuruz je poreklom iz Amerike, a u Evropu je prenet krajem 15. i početkom 16. veka. Uzgaja se u celom svetu, područje uzgoja mu je vrlo veliko, što mu omogućuje različita dužina vegetacije, raznolika mogućnost upotrebe i sposobnost da uspeva na lošijim zemljištima i u lošijim klimatskim uslovima. Po zasejanim površinama kukuruz je treća svetska kultura, nakon pšenice i pirinča (Kos, 2014). Najveće površine zasejane kukuruzom imaju SAD, Kina, Brazil, Meksiko i drugi (Bekrić, 1997). Proizvodnja kukuruza u svetu je 2016-te godine iznosila preko 1 milijardu tona (USDA, 2017).

U Srbiji je oko 40% obradivog zemljišta namenjeno za proizvodnju kukuruza (Kos, 2014) i u poslednjih nekoliko godina Srbija se ubraja među vodeće proizvođače (7,3 miliona tona) i izvoznike (3 miliona tona) kukuruza u Evropi (RZS, 2017). Najveća količina (80-90%) kukuruza u Srbiji iskoristi se kao komponenta hrane za životinje, a ostatak za proizvodnju prehrambenih proizvoda i alkohola (Semenčenko, 2013). Filipović i sar. (2010) navode da je kukuruz najčešće korišćena žitarica u proizvodnji hrane za životinje u našoj zemlji zbog visokog sadržaja

skroba, relativno visokog sadržaja ulja i niskog sadržaja vlakana, što ga čini energetski vrednom hranom. Osim odlične svarljivosti, smatra se da kukuruz ima bolji ukus od ostalih žitarica.

2.1.1. GRAĐA ZRNA KUKURUZA

Zrelo zrno kukuruza sastavljeno je iz tri osnovna dela: perikarpa (omotača ploda), endosperma i klice. Na osnovu strukture zrna i sastava endosperma svi komercijalno gajeni hibridi kukuruza mogu se svrstati u jedan od pet osnovnih tipova: zubani, tvrdunci, brašnasti, kokičari i šećerci (Summers, 2001; Radosavljević i Milašinović, 2008). Hemijski sastav pojedinih delova zrna prikazan je u tabeli 1.

Tabela 1. Hemijski sastav delova zrna kukuruza (Dokić, 2013)

Strukturni delovi zrna	Udeo (%)	Hemijski sastav strukturnih delova zrna (%)				
		skrob	protein	ulje	šećer	pepeo
Klica	11,5	8,3	18,5	34,4	11,0	10,3
Endosperm	82,3	86,6	8,6	0,86	0,61	0,31
Perikarp	5,4	7,3	3,5	0,97	0,34	0,67
Kapica	0,8	5,3	9,7	3,8	1,5	1,7

Omotač ili perikarp prekriva klicu i endosperm, i ima zaštitnu ulogu zrna. Udeo perikarpa u celom zrnu varira zavisno od tipa hibrida. Njega čini više slojeva različitih vrsta membranskih ćelija, a debljina i propustljivost perikarpa utiču na brzinu sušenja i usvajanje vode. Sačinjavaju ga ugljeni hidrati, naročito vlakna. Ne propušta vodu i sprečava insekte da prodru u unutrašnjost zrna.

Endosperm zrna kukuruza je kod svih tipova zrna zastupljen u najvećem procentu, 70-85% ukupne težine zrna. U okviru endosperma je aleuronski sloj. Aleuronske ćelije ne sadrže granule skroba, ali sadrže autolitičke enzime, inhibitore amilaze i proteaze, vitamine rastvorljive u vodi, minerale i sferna tela koja sadrže proteine i lipide (Kotarski i sar., 1992). Endosperm se sastoji od staklastog (tvrdog) i brašnastog (mekog) dela pri čemu odnos ova dva dela može biti različit kod različitih tipova zrna, što je veoma važno za mnoga svojstva endosperma. Granule skroba u staklastom endospermu su čvrsto ugrađene u matriks bogat proteinima (Huntington, 1997). Brašnasti endosperm ima najveću koncentraciju granula skroba koje nisu čvrsto ugrađene u proteinski matriks (Deckardt i sar., 2013). Skrob u brašnastom endospermu je više podložan delovanju spoljnih faktora pri postupcima tokom prerade zrna i pri varenju.

Klica je jedini živi deo kukuruznog zrna. Ona sadrži bitne genetske informacije, enzime, vitamine i minerale za zrno da bi preraslo u biljku kukuruza.

2.1.2. SKROB

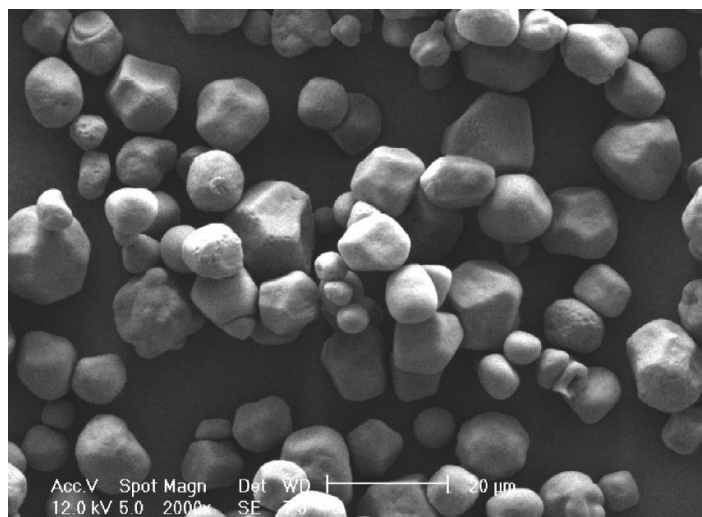
Skrob je heterogeni polisaharid sastavljen od dva polimera, amiloze i amilopektina. Odnos dva polisaharida varira u zavisnosti od botaničkog porekla skroba. „Voštani“ skrobovi sadrže manje od 15% amiloze, „normalni“ 20-35% i „visoko“ amilozni skrobovi više od oko 40% (Tester i sar., 2004; Sandhu i Singh, 2007).

Amiloza je linearni molekul sastavljen od 900 do 3000 D-glukopiranoznih ostataka povezanih α -1,4 vezama sa malim brojem grana (Parker i Ring, 2001; Liu, 2005). Amiloza ima strukturu heliksa gde unutrašnjost heliksa sadrži atome vodonika, dok hidroksilne grupe

ostaju spolja (Buléon i sar., 1998). Prisustvo atoma vodonika u unutrašnjosti heliksa čini amilozu hidrofobnom i omogućava formiranje kompleksa sa slobodnim masnim kiselinama, jodom i nekim alkoholima (Zavareze i Dias, 2011).

Amilopektin je veći, veoma razgranati polimer, koji u proseku sadrži 10^4 - 10^5 D-glukopiranoznih ostataka i sačinjen je od linearnih lanaca povezanih α -1,4 glukozidnim vezama koje sadrže 10-60 jedinica glukoze i bočnih lanaca sa 15-45 jedinica glukoze koji su spojeni α -1,6 vezama na mestu grananja (Kotarski i sar., 1992; Van der Maarel i sar., 2002).

Kukuruz („normalni“) sadrži 25-28% amiloze i njegove skrobne granule imaju oblik poliedra (slika 1) (Buléon i sar., 1998; Blazek i Gilbert, 2010). Prosečna veličina skrobne granule kukuruza iznosi od 2 do 30 μm (Buléon i sar., 1998; Van der Maarel i sar., 2002; Tester i sar., 2006).



Slika 1. SEM mikrograf nativne granule skroba kukuruza (preuzeto od Blazek i Gilbert (2010))

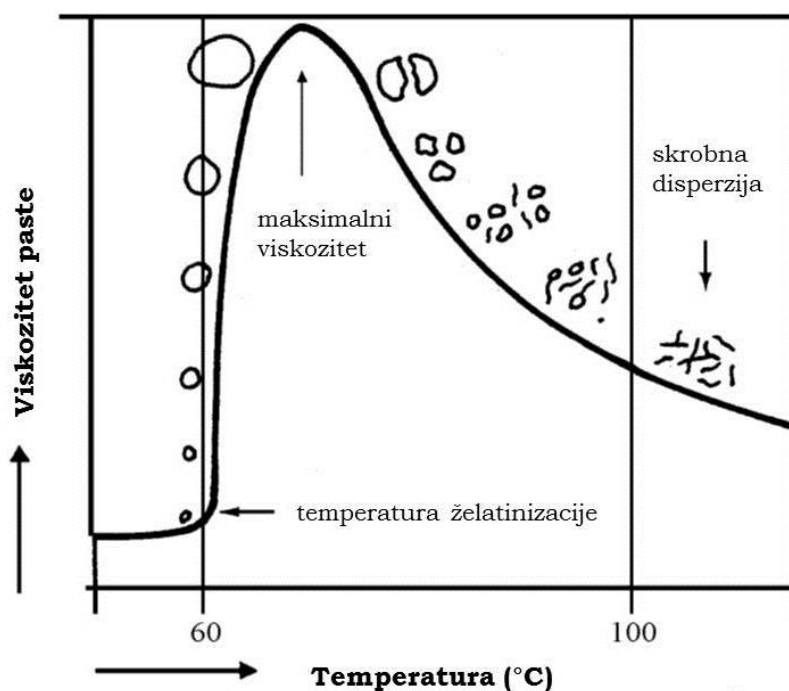
2.1.3. ORGANIZACIJA SKROBNE GRANULE

Funkcionalnost skroba je posledica odnosa amiloze i amilopektina, kao i fizičke organizacije strukture granule. U granuli skroba su prisutni kristalni i amorfni regioni. Kristalne regione formiraju razgranati lanci molekula amilopektina i smenjuju se sa amorfnim slojevima (Liu, 2005). Granule skroba imaju osobinu dvostrukog prelamanja svetlosti (dvozračnost) (Parker i Ring, 2001); međutim, ova osobina ne podrazumeva nužno kristalni oblik, već visok stepen molekularne organizacije granula (Zobel, 1988). Biliaderis (1991) navodi da kristalni deo održava strukturu granule, kontroliše ponašanje u prisustvu vode i čini granulu manje ili više otpornom na hemijska i enzimska delovanja. Amorfna zona skrobnih granula je najmanje gusta, podložnija je delovanju enzima i apsorbuje više vode na temperaturama ispod temperature želatinizacije. Granula skroba je minimalno hidratisana i stabilizovana inter- i intramolekularnim vodoničnim vezama. Osim ako granule nisu oštećene preradom zrna, otporne su na ulaz vode i ne hidrolizuju dejstvom svih amilaza (Kotarski i sar., 1992). Kada se posmatraju pod polarizacionim mikroskopom, granule nativnog skroba pokazuju taman krst („Malteški krst“) koji je karakterističan za kristalne supstance čiji indeks prelamanja varira u zavisnosti od pravca kojim svetlosni zrak putuje kroz supstancu (Rooney i Pflugfelder, 1986; Gallant i sar., 1997; Tester i sar., 2004).

2.1.4. ŽELATINIZACIJA SKROBA

Kada se skrob zagreva sa velikom količinom vode (skrobna suspenzija) on prolazi kroz tranziciju od uređenog do neuređenog stanja koje se zove želatinizacija (Hoseney, 1984; Baks i sar., 2007). Mehanizam želatinizacije skroba je prikazan na slici 2. Svihus i sar. (2005) opisuju želatinizaciju kao proces koji je posledica bubrenja. Bubrenje se javlja

duž amorfnih regiona (Rubens i Heremans, 2000), a pošto se kristalni regioni ne šire tokom bubrenja, naprezanje se povećava na dodirnoj površini između kristalnih i amorfnih regiona, gde postoje veze između amilopektina u kristalnim regionima i amiloze u amorfniim regionima. Na taj način u jednom trenutku procesa bubrenja kristalni regioni su brzo i nepovratno razgrađeni i želatinizacija je započeta. Sa sadržajem vode u višku, ovaj početak želatinizacije se obično javlja između 50 i 70°C (Ratnayake i Jackson, 2006; Svihus i Zimonja, 2011). Bubrenje uzrokuje da skoro sva amiloza u granuli skroba iscure u okolni medijum (Han i Hamaker, 2001). Viskozitet se povećava tokom želatinizacije, a uzrokuju ga nabubrele granule i gel koji se sastoji od rastvorene amiloze (slika 2) (Van der Maarel i sar., 2002; Aini i Purwiyatno, 2010). Gubitak kristalne strukture u okviru skrobne granule se manifestuje kao nepovratna promena u svojstvima, kao što je bubrenje granule, pastiranje, gubitak dvoznačnosti, topljenje kristala, odmotavanje i razdvajanje dvostrukih heliksa spirale, i rastvorljivost skroba (Singh i sar., 2003; Huber i sar., 2006; Wang i Copeland, 2013).



Slika 2. Bubrenje, pucanje i dispergovanje skrobne granule tokom želatinizacije

Kada je količina vode ili drugih rastvarača ograničena, potrebno je više toplote ili mehaničke energije da bi se želatinizacija dovršila, a koja se tada javlja u širem temperaturnom opsegu (Rooney i Pflugfelder, 1986; Svihus i sar., 2005). Pošto se većina postupaka prerade hrane za životinje odvija pod uslovima sa niskim sadržajem vode, znači da je potrebno mnogo toplote da bi skrob želatinizirao tokom proizvodnje hrane za životinje.

Zbog velikog značaja želatinizacije u prehrambenoj industriji razvijene su razne analitičke tehnike i metode za praćenje različitih aspekata procesa želatinizacije i za njeno karakterisanje: dvostruko prelamanje (dvoznačnost) (Baks i sar., 2007; Altan i sar., 2009), enzimski metoda (Di Paola i sar., 2003), viskozitet paste (Chaiwanichsiri i sar., 2001), diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC) (Xie i sar., 2006; Zarguili i sar., 2006; Sandhu i Singh, 2007), ultrazvučna spektroskopija (Lehmann i sar., 2004; Aparicio i sar., 2009), stvaranje kompleksa sa jodom (Chinma i Igyor, 2008; Voca i sar., 2009), difrakcija X zraka (WAXS i SAXS) (Waigh i sar., 2000; Kuang i sar., 2017), nuklearna magnetna rezonanca (NMR) (Warren i sar., 2016), električna provodljivost (Karapantsios i sar., 2000).

Mnogi autori navode da je DSC dominantna metoda za određivanje stepena želatinizacije (Svihus i sar., 2005; Aparicio i sar., 2009). DSC analizom se dobijaju endoterme želatinizacije koje odražavaju disocijaciju vodoničnih veza dvostrukih spirala heliksa granula skroba (Tester i sar., 2006). Coral i sar. (2009) navode da razlike u vrednostima entalpije želatinizacije (ΔH) ukazuju na različitu količinu kristala amilopektina koji se tope. Početna temperatura (T_0) koja se dobija upotrebom DSC-a odražava pokretanje procesa želatinizacije, koje je praćeno pikom (T_p) i završnom temperaturom (T_e) (Tester i Debon, 2000). Veoma važan je i temperaturni raspon želatinizacije ($\Delta T = T_e - T_0$) koji se javlja zbog nehomogenosti odnosno različitih veličina granula.

U procesu zagrevanja skrobne suspenzije ona se transformiše u disperziju nabubrelih granula, delimično raspalih granula, pa potom molekularno dispergovanih granula, usled čega se ponašanje protoka materijala značajno menja. Formirani proizvod se naziva skrobna pasta. Pastiranje se definiše kao stanje nakon želatinizacije skroba. Generalno, skrobna pasta se može opisati kao dvofazni sistem sastavljen od disperzne faze nabubrelih granula i kontinualne faze amiloze koja je prešla iz granule u okolni medijum. Reološke metode se zasnivaju na merenju promene viskoziteta tokom zagrevanja i smicanja skrobne suspenzije. Za tu svrhu koriste se različiti uređaji kao što je Brabender viskoamilograf, Rapid Visco Analyser (RVA) i rotacioni reometar (Pojić i sar., 2013). Prati se promena viskoziteta u funkciji vremena i temperature. Nativne granule skroba su generalno nerastvorljive u vodi ispod 50°C te je stoga viskozitet tada nizak. Kada se skrobne granule zagrevaju one apsorbuju veliku količinu vode i bubre nekoliko puta od svoje početne veličine, što dovodi do porasta viskoziteta. Temperatura u trenutku porasta viskoziteta usled početka bubrenja skrobnih granula je temperatura želatinizacije. Kada dovoljan broj granula nabubri dolazi do brzog porasta viskoziteta. Granule bubre u određenom rasponu temperature, što ukazuje na njihovu heterogenost u ponašanju. Maksimalni viskozitet se postiže kada se uspostavi ravnoteža između bubrenja i izlaska polimera iz granule u okolni medijum. Maksimalni viskozitet i temperatura ukazuju na kapacitet vezivanja vode skroba. Kako se temperatura dalje povećava i zadržava na visokoj temperaturi određeni period, granule pucaju i dolazi do linearnog usmeravanja polimera što smanjuje viskozitet paste. Ovo se označava kao „breakdown“ a viskozitet u ovoj fazi ukazuje na stabilnost paste. Prilikom hlađenja sistema dolazi do ponovnog povezivanja molekula skroba, posebno amiloze, u različitoj meri (Bello-Perez i Paredes-López, 2009). Tada obično dolazi do formiranja gela a viskozitet se povećava do konačne vrednosti. Finalni viskozitet ukazuje na stabilnost ohlađene i skuvane paste.

Kada se analiziraju izolovani skrobovi, na parametre viskoziteta tokom pastiranja zajednički utiču svojstva nabubrelih granula i rastvoreni materijal koji je iscureo iz granule (Sandhu i Singh, 2007). Karakteristike pastiranja takođe zavise i od krutosti granula skroba, što opet utiče na potencijal granula da bubre i na količinu amiloze koja iscure u rastvor. Međutim, Chesson i sar. (2002) navode da prilikom analize žitarica dobijene krive pastiranja nastaju kao posledica ponašanja skroba tokom zagrevanja i hlađenja suspenzije, ali da je mnogo tačnije posmatrati ih kao posledicu karakteristika celog endosperma. Naime, proteini i neskrobni polisaharidi koji su prisutni u endospermu skoro sigurno utiču na očitane vrednosti viskoziteta.

2.2. TERMIČKI TRETMANI

Mnoge sirovine u svom prirodnom obliku ne mogu da se upotrebljavaju kao hrana za životinje, a hranljiva vrednost pojedinih sirovina je često manja od očekivane vrednosti koja je određena na osnovu sadržaja pojedinih hranljivih materija. Najčešći razlog za to su hemijske i fizičke karakteristike koje smanjuju biološku vrednost i svarljivost jednog ili više sastojaka. Da bi se omogućilo maksimalno korišćenje hranljivih materija, primenjuju se tehnološki procesi u kojima se sirovine i smeše prevode u oblik sa većom biološkom iskoristljivošću. Među mnogim ispitivanim tehnološkim procesima za poboljšanje hranljive vrednosti hrane za životinje, termički tretmani su pronašli značajnu praktičnu primenu.

Termički tretmani se koriste za poboljšanje hranljivih, higijenskih, fizičkih i hemijskih karakteristika hrane za životinje. Međusobno se razlikuju u izvoru toplote, konstrukciji uređaja i primenjenim procesnim parametrima, a njihova efikasnost zavisi od niza faktora. Dva

nezaobilazna faktora svih termičkih tretmana su temperatura i vreme delovanja, premda se uticaj vlage, pritiska i sila smicanja ne može zanemariti. Kombinacija navedenih parametara je polazna osnova za razvoj svih vrsta termičkih tretmana i uređaja koji se koriste u industriji hrane za životinje. U osnovi, svi termički tretmani povećavaju temperaturu proizvoda. Ukoliko se u proces dodaje vlaga, onda govorimo o hidrotermičkom tretmanu. Dodatni efekat termičkom, može biti mehanički tretman pa su to tada termo-mehanički tretmani. Dakle, postoji mnogo mogućih kombinacija i vrsta termičkih tretmana u preradi hrane za životinje, a najčešće se primenjuju kuvanje, pečenje (prženje), kokičenje, parno flekičenje, tostiranje, kondicioniranje, peletiranje, mikronizacija, ekspaniranje i ekstrudiranje (Lević i Sredanović, 2010).

Obzirom da preživari imaju mogućnost da preživaju hranu koju konzumiraju, moglo bi se pretpostaviti da njihovu hranu nije neophodno tretirati (mehanički ili na neki drugi način). U prošlosti, uslovi su bili drugačiji, a goveda su preživljavala hraneći se na pašnjacima ili su hranjeni ubranom kabastom hranom i minimalnom količinom žitarica. Kako se tokom vremena uzgoj promenio u smeru povećanja performansi životinja, postalo je neophodno da se poveća hranljiva vrednost u ishrani uvodeći veću količinu koncentrovanih hraniva. Primena brojnih tehnoloških procesa, razvoj i uvođenje obrađenih žitarica sa svojim osobenim karakteristikama, kao što su oblik, veličina i tekstura, je doveo do povećanja performansi životinja i efikasnije proizvodnje mesa i mleka.

2.2.1. PARNO FLEKIČENJE

Parno flekičenje je postupak u kome se zrnasta hraniva izlažu dejstvu vodene pare u uslovima atmosferskog ili povišenog pritiska, a zatim valjaju sa ciljem dobijanja tankih listića – flekica. Tokom ovog postupka dolazi do prodiranja vode i toplote u zrno što izaziva bubrenje

skroba u određenoj meri. Valjanje toplog i vlažnog zrna kida deo nabubrelih granula, pa se formira pasta koja povezuje ostali materijal u jaku flekicu (Rooney i Pflugfelder, 1986). Debljina flekica se definiše podešavanjem razmaka između valjaka i kreće se u rasponu od 0,4 do oko 2,0 mm. Razlika između parnog valjanja i parnog flekičenja je u vremenu parenja zrna. Flekičenje zahteva duže vreme kondicioniranja, dovoljno za želatinizaciju dela skroba. Zrno se kondicionira najčešće pri atmosferskom pritisku u trajanju od 20 do 50 minuta (Armbruster, 2006), dostiže temperaturu oko 90°C i vlagu oko 17-18% (Fahrenholz, 1998). Parno flekičenje se koristi kao tretman za toplotnu obradu svih vrsta zrna i žitarica kao što su kukuruz, sirak, ječam, pšenica i mnoge druge (Armbruster, 2006). Analiza flekičanog zrna pre i posle valjaka je pokazala da do većine promena na skrobu dolazi nakon valjaka (Matsushima, 2006). Na efikasnost procesa utiču vlažnost zrna, debljina flekica, temperatura zrna i vreme trajanja procesa. Dobby (2013) navodi da prednost parnog flekičenja proizilazi iz želatinizacije skroba i pucanja skrobnih granula u endospermu zrna, što povećava dostupnost skroba životinji.

2.2.2. MIKRONIZACIJA

Mikronizacija je tehnološki proces koji se zasniva na dejstvu bliskih infracrvenih zraka talasne dužine od 1,8 do 3,4 mikrona koje emituju usijane keramičke pločice. Izvodi se kontinualnim provođenjem sloja zrna ispod specijalizovanih keramičkih radijatora sa perforiranim pločicama od specijalne keramike temperature od 750 do 900°C koji emituju infracrveno zračenje. Kada infracrveni zraci prodru u unutrašnjost zrna izazivaju vibracije molekula vode što dovodi do naglog povećanja unutrašnje temperature i povećanja napona vodene pare (Boychuk, 1997; Radosavljević i sar., 2002). Nastaje svojevrsna termička obrada sadržaja zrna u okviru njegovog omotača. Povećanje napona

vodene pare uzrokuje da zrno postane mekano i plastično, što dovodi do bubrenja i pucanja zrna (Sharma, 2009). U periodu od 40-50 sekundi od početka procesa, pre nego što se stvore uslovi kritične temperature koja bi izazvala destrukciju i prskanje, zrno se podvrgava pritisku valjaka, pa se dobija finalni proizvod u formi flekice i skrobom koji je želatinizirao. Tokom procesa mikronizacije zrno se zagreva do 150°C (Fahrenheit, 1998) što se podešava brzinom kretanja trake, a ceo proces prerade i dobijanja flekica traje 2-3 minuta (Žilić i sar., 2007). Transportna traka može da vibrira (osciluje) kako bi se zrno prevrtalo sa ciljem što boljeg izlaganja njegove površine efektima talasa. Najvažniji parametri ovog procesa su brzina transportne trake, debljina sloja zrna, udaljenost između zrna i izvora zračenja, i naravno postignuta temperatura. Mikronizacija može biti vlažan ili suv termički proces, u zavisnosti da li je potrebno dodati vlagu za postizanje željenog krajnjeg proizvoda (Thacker, 1999). Jedan od bitnih ciljeva mikronizacije je postizanje određenog stepena želatinizacije skroba pa je zbog toga poželjno da se zrno prethodno kondicionira (15-20%).

McAllister i Sultana (2011) navode da je postupak mikronizacije u širokoj upotrebi za preradu žitarica koje se koriste kako u ishrani životinja tako i u ishrani ljudi. Procesom mikronizacije dolazi do smanjenja sadržaja vlage, povećanja površine čestice i nasipne mase, poboljšanja svarljivosti skroba, redukovanja mikroflora sa površine zrna i smanjenja sadržaja antinutritivnih faktora posebno kod leguminoza (Radosavljević i sar., 2010).

2.2.3. PELETIRANJE

Peletiranje hrane za životinje se sastoji od niza operacija koje uključuju mlevenje, mešanje, kondicioniranje, dodatak toplote termičkog i mehaničkog porekla, peletiranje i naknadno hlađenje dobijenog

proizvoda (Aarseth i Prestløyken, 2003). Koch (2008) navodi da je peletiranje sabijanje materijala u praškastoj formi kroz otvore metalne matrice sa ciljem formiranja cilindričnih peleta radi koncentrisanja hranljivih materija, efikasnijeg transporta i rukovanja gotovim proizvodom, i povećanja svarljivost određenih hranljivih materija, naročito ugljenih hidrata i proteina.

Uobičajeno je da se pre peletiranja materijal kondicionira parom, pa se na taj način temperatura materijala povećava najčešće do 80°C, a vlaga do 17% pre ulaska u presu za peletiranje (Fahrenholz, 1998; Lević i sar., 2004). Dodatno zagrevanje se postiže tokom samog procesa mehaničkim delovanjem sile dva ili više valjaka koji, u zavisnosti od konstrukcije uređaja, rotiraju po horizontalnoj matrici ili u unutrašnjosti prstenaste (cilindrične) matrice. Valjci prelaze preko materijala i sabijaju ga. Pritisak kontinualno raste od tačke gde valjci dodiruju materijal i počinju da ga guraju u pravcu otvora na matrici do tačke gde je pritisak dovoljno velik da utisne mali disk materijala u otvor kanala matrice i ujedini ga sa peletom koja se već nalazi u njemu. Maksimalni pritisak se dostiže na mestu gde je razmak između valjaka i matrice najmanji, pa je deo formirane pelete istisnut na drugoj strani otvora matrice, gde se noževima vrši odsecanje peleta na željenu dužinu. Kada se valjak udaljava od otvora matrice pritisak opada. Pri svakom prelasku valjaka preko otvora matrice ovaj proces se ponavlja, a zbog velike brzine obrtanja pojedinačni koraci postaju kontinualan proces.

Nakon uvođenja, 1930-tih godina, peletiranje je postalo važan proces u industriji hrane za životinje. Behnke (1996) procenjuje da se godišnje peletira oko 60% proizvedene hrane za životinje. Dokazano je da peletiranje poboljšava svarljivost i konzumaciju hrane, a smanjuje konverziju hrane (Fahrenholz, 1998; Svihus i Zimonja, 2011). Ostale prednosti peletiranja su: smanjenje prašine, lako transportovanje i skladištenje, smanjenje selektivne ishrane životinja, sprečavanje

naknadne segregacije (raslojavanja), smanjenje gubitaka proizvoda, redukovanje broja mikroorganizama, a u nekim slučajevima i poboljšanje ukusa (Behnke, 1996; Čolović, 2013).

2.2.4. EKSTRUDIRANJE

Ekstrudiranje se može definisati kao proces kojim se materijal prisiljava da teče, uz jedan ili nekoliko tipova mešanja, zagrevanja ili smicanja, kroz matricu čiji je zadatak oblikovanje i sušenje proizvoda (Riaz, 2010). Materijal se sabija kako bi formirao polučvrstu masu pod različitim kontrolisanim uslovima i prisiljava se da prođe kroz ograničen otvor pri unapred određenoj brzini. Temperatura u ekstruderu može da dostigne i 200°C, a vreme zadržavanja je svega 15 do 20 sekundi (Riaz, 2010). Zbog toga je ekstrudiranje HTST (*engl. High Temperature Short Time*) proces kojim se dobija proizvod visokog kvaliteta. Funkcije ekstrudiranja su brojne i obuhvataju kuvanje, oblikovanje, dehidriranje, ekspaniranje, homogenizaciju, mešanje, sterilizaciju, zgušnjavanje i smicanje (Sherry i sar., 2005; Gonzalez-Valadez i sar., 2008).

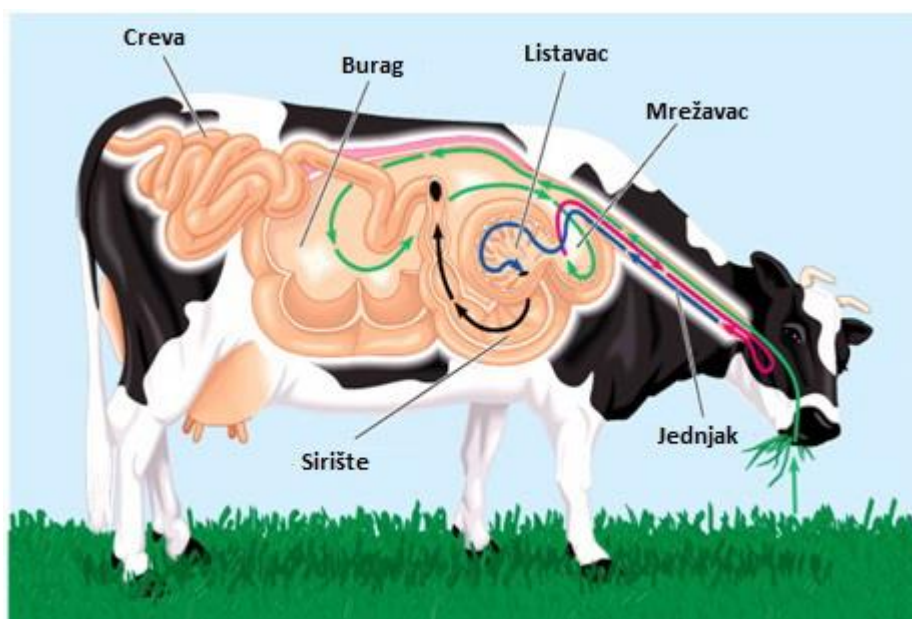
Ujednačeno i potpuno prodiranje vlage u sirovinu značajno poboljšava stabilnost ekstrudera i unapređuje konačni kvalitet proizvoda. Pored toga, plastifikacija čestica sirovine pre ekstrudiranja značajno umanjuje habanje uređaja izazvano abrazivnim česticama sirovine. U atmosferskim kondicionerima vlaga se ravnomerno nanosi u vidu vode i/ili pare kako bi se postigao sadržaj vlage od 10 do 25% (Rokey i sar., 2010). Ukoliko se dodaje samo para, povećanje vlage je moguće za samo 5 do 7%, dok se za veći sadržaj vlage dodaje voda (Rokey i sar., 2010). Temperatura materijala u kondicioneru najčešće iznosi od 70 do 90°C.

Kada materijal napusti kondicioner, ulazi u cev ekstrudera gde se odvijaju najznačajnije transformacije kondicioniranog materijala koje određuju karakteristike finalnog proizvoda. Početni deo cevi ekstrudera je dizajniran za doziranje, odnosno jednostavno prenošenje materijala dalje od ulazne zone cevi i u ekstruder. Materijal zatim ulazi u zonu za obradu gde se formira amorfnog testa. Temperatura vlažnog testa se ubrzano povećava u poslednjih nekoliko sekundi zadržavanja unutar cevi ekstrudera. Porast temperature u cevi ekstrudera potiče od transformacije mehaničke u toplotnu energiju usled rotiranja puža. Dodatno povećanje je moguće direktnim ubrizgavanjem pare ili iz eksternih termičkih izvora energije. Na kraju cevi ekstrudera se nalazi matrica koja ograničava protok materijala i na taj način uzrokuje stvaranje potrebnog pritiska. Razlika u pritisku između unutrašnjosti ekstrudera i spoljašnje sredine izaziva naglo isparavanje vode nakon prolaska materijala kroz matricu, a stoga i ekspanziju proizvoda. Matrica takođe služi za oblikovanje proizvoda koji napušta ekstruder, a odsecanje na željenu dužinu postiže se rotirajućim noževima.

Prilikom ekstrudiranja želatinizacija skroba se postiže kombinacijom vlage, toplote, mehaničke energije i razlike u pritisku (Fahrenholz, 1998). Hosney (1984) navodi da veliki deo efikasnosti ekstrudera proizilazi iz sila smicanja koje nastaju rotiranjem puža i zbog brze promene pritiska kada materijal izlazi iz cevi. Gubitak nutritivnih materija je sveden na minimum, a najpodložniji oštećenju su vitamini. Takođe dolazi do značajnog smanjenja antinutritivnih materija, posebno kod leguminoza (Alonso i sar., 2000).

2.3. DIGESTIVNI SISTEM PREŽIVARA I PROCES VARENJA HRANE

Preživari imaju jedinstven sistem za varenje koji im omogućava da u poređenju sa drugim biljojedima bolje koriste energiju iz vlaknastih biljnih materijala. Za razliku od monogastričnih životinja, preživari imaju digestivni sistem koji fermentiše hranu i obezbeđuje prekursore za energiju koje koristi životinja. Sistem organa za varenje krave sastoji se od sledećih osnovnih delova: usta, jezik, zubi, pljuvačne žlezde, ždrelo, jednjak, želudac sastavljen iz 4 dela (burag, mrežavac, listavac i sirište), pankreas, žučna kesa, tanko crevo (duodenum, jejunum i ileum), i debelo crevo (slepo crevo, kolon i rektum). Pravi želudac je sirište, a ostalo su predželuci. Slika 3 daje prikaz najvažnijih delova digestivnog trakta krave.



Slika 3. Digestivni trakt krave

Proces varenja hrane kod preživara sastoji se iz nekoliko faza: 1. žvakanje, 2. natapanje hrane pljuvačkom, 3. preživanje, 4. fermentativno razlaganje u predželucima, 5. varenje u sirištu i 6. varenje u crevima.

Nakon hidrolize ugljenih hidrata, proteina i masti do sastojaka koji su rastvorljivi u vodi, obavlja se resorpcija hranljivih materija. Resorpcija može da se obavlja iz svih delova želuca preživara, kao i u tankom i debelom crevu. Grubić i Adamović (2003) smatraju da u onome što se dalje događa sa hranljivim materijama u organizmu (intermedijarni metabolizam, ugradnja u tkiva organizma i proizvode) nema veće razlike između preživara i nepreživara.

Varenje započinje žvakanjem hrane i mešanjem sa pljuvačkom kako bi se formirao zalogaj (bolus). Lučenjem pljuvačke se obezbeđuju soli kalijuma i natrijuma koje imaju puferno dejstvo u buragu (neutralizuju kiseline koje nastaju u procesu fermentacije). Nastali bolus se tada kreće od usta do mrežavca kroz jednjak što omogućavaju mišićne kontrakcije i razlike u pritisku. Preživari jedu brzo gutajući većinu svoje hrane bez dovoljnog žvakanja. Njihov jednjak funkcioniše dvosmerno što im omogućava vraćanje sadržaja buraga u usnu duplju, nakon čega sledi odvajanje i gutanje tečnog dela sadržaja, ponovno žvakanje čvrstog dela sadržaja (ostataka hrane) uz dalje natapanje pljuvačkom i gutanje novostvorenog zalogaja. Ovaj fiziološki proces se naziva preživanje a toliko je karakterističan da je po njemu ova grupa životinja i dobila ime (*Ruminantia*). Na ovaj način se hrana veoma efikasno usitnjava čime se olakšava delovanje enzima koje stvaraju mikroorganizmi u buragu. Nakon mrežavca čvrsti deo se polako kreće ka buragu za fermentaciju, dok se većina tečnog dela brzo kreće do listavca a potom u sirište.

Mrežavac se nalazi ispod i ka prednjem delu buraga. Sadržaj slobodno teče između mrežavca i buraga. Njegova glavna funkcija je da sakupi manje čestice i prenese u listavac, dok veće čestice ostaju u buragu za dalje varenje. Mrežavac takođe zadržava teške predmete koje životinja pojede (npr. ekser, žica i sl.).

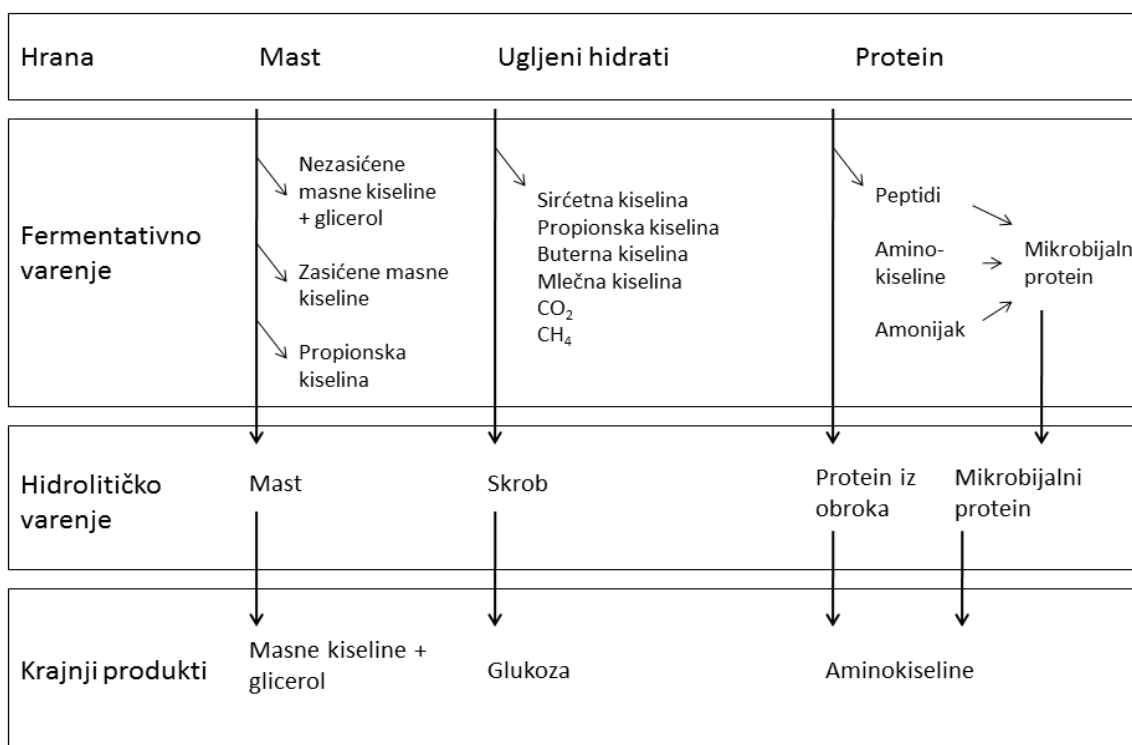
Burag je obložen papilama za apsorpciju hranljivih materija i čine ga dorzalna i ventralna slepa vreća. Njegova svrha je da skladišti velike količine hrane, da meša hranu (jakim kontrakcijama), kao i da obezbedi pogodnu sredinu za mikroorganizme koji u njemu žive. Mikroorganizmi buraga (prvenstveno bakterije) vare celulozu iz ćelijskih zidova biljaka, kompleksan skrob, sintetišu proteine iz neproteinskog azota, i sintetišu vitamin B i K za svog domaćina (preživara). pH buraga obično iznosi od 6,5 do 6,8, a okruženje je anaerobno. Gasovi koji se proizvedu su ugljen dioksid, metan i vodonik (Mills i sar., 1999). Gasna frakcija se penje na vrh buraga iznad tečnog dela.

Listavac je sfernog oblika i povezan je sa mrežavcem kratkim tunelom. Hrana prolazi u ovaj odeljak kada se veličina čestica hrane smanji žvakanjem i varenjem od strane bakterija i protozoa. Nabori na njegovoj površini utiču na povećanu apsorpciju hranljivih materija. Uloga listavca nije u potpunosti razjašnjena, ali je poznato da se voda, amonijak, isparljive masne kiseline (IMK) i neorganski elektroliti apsorbuju u listavcu i da se amonijak, i po svojoj prilici, neke IMK tamo proizvode (Lopez, 2005; Krehbiel, 2014).

Sirište je najslabije želucu nepreživara. Proizvodi hlorovodoničnu kiselinu i enzime za varenje, kao što su pepsin (razlaže proteine), i dobija digestivne enzime koji se luče iz pankreasa, kao što je pankreasna lipaza (razlaže masti). Ovo pomaže pripremi proteina za apsorpciju u crevima. pH u sirištu se generalno kreće od 3,5 do 4,0 i to je dobra sredina za funkcionisanje enzima. Glavne ćelije u sirištu luče sluz kako bi zaštitile njegov zid od oštećenja kiselinama.

Apsorpcija hranljivih materija se nastavlja u tankom i debelom crevu. Sadržaj koji ulazi u tanko crevo se meša sa sekretima iz pankreasa i jetre, što podiže pH od 2,5 do između 7 i 8. Ova viša pH vrednost je potrebna za pravilan rad enzima u tankim crevima. Žuč se

luči u prvom delu tankog creva, duodenumu, da pomogne u varenju masti. Do aktivne apsorpcije hranljivih materija dolazi tokom celog tankog creva, uključujući i apsorpciju proteina koji nisu razgrađeni u buragu. Zid creva sadrži brojne vile koje povećavaju crevnu površinu za bolju apsorpciju hranljivih materija. Mišićne kontrakcije pomažu u mešanju sadržaja i prelaska u sledeći deo. U debelom crevu dolazi do naknadne proizvodnje IMK i apsorpcije ali njegoa glavna uloga je apsorbcija vode iz materijala koji prolazi, koji se zatim izbacuje kao feces. Na slici 4 su prikazani osnovni tokovi fermentativnog i hidrolitičkog varenja kod preživara.



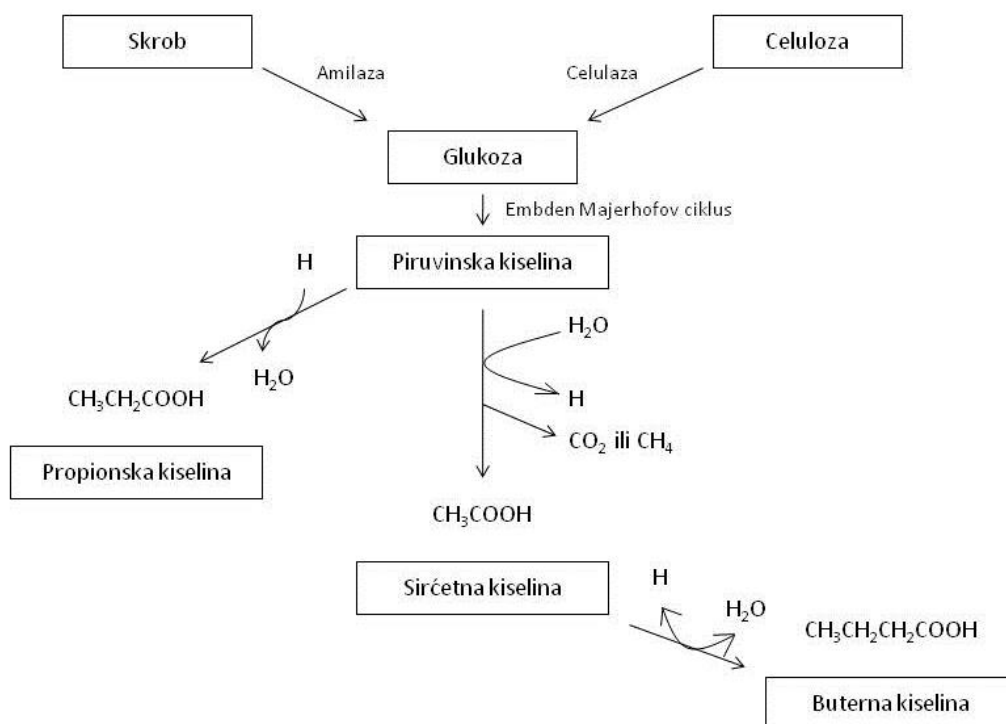
Slika 4. Prikaz fermentativnog i hidrolitičkog varenja kod preživara (preuzeto od Grubić i Adamović (2003))

2.3.1. VARENJE SKROBA I METABOLIZAM GLUKOZE U BURAGU I CREVIMA

U buragu i mrežavcu se nalaze mikroorganizmi koji obuhvataju bakterije, protozoe i gljivice (Mohamed i Chaudhry, 2008). Bakterije u buragu mogu da se podele na one koje razlažu vlakna (celulolitičke) i one koje razlažu skrob (amilolitičke). Velika većina bakterija koje koriste skrob ne mogu da razlažu vlakna i obrnuto.

Kod monogastričnih životinja varenje skroba se uglavnom odvija u tankom crevu. Kod preživara situacija se razlikuje zbog delovanja mikroorganizama u buragu. Alfa-amilazu luči pankreas, dok izomaltazu, maltazu-glukoamilazu, trehalazu i laktazu luči crevna mukoza (Harmon, 1993; Harmon i sar., 2004). Alfa-amilazu, beta-amilazu, R-enzim, pululanazu, izo-amilazu ili alfa-limit dekstrinazu proizvode mikroorganizmi buraga (Cerrilla i Martinez, 2003). Nekoliko vrsta bakterija u buragu su u stanju da svare skrob. Amilolitički organizmi se nalaze u većem procentu ukupne mikrobne populacije kada je ishrana životinje bogata skrobom.

Ugljeno hidratne komponente u ishrani preživara su uglavnom polimeri heksoze kao što su celuloza, skrob, fruktani i polimeri pentoze, uglavnom ksilan. Najvažniji put fermentacije heksoze u buragu je Embden Majerhofov ciklus (France i Dijkstra, 2005) koji je prikazan na slici 5 zajedno sa formiranjem IMK u buragu.



Slika 5. Formiranje isparljivih masnih kiselina u buragu

Kapacitet tankog creva preživara za varenje velike količine skroba je dovođen u pitanje (Owens i sar., 1986; Larsen i sar., 2009), kao posledica niskog nivoa pankreasne amilaze, crevne maltaze i izomaltaze (Huntington, 1997), kao i zbog niske apsorpcije glukoze (Ørskov, 1986; Harmon i sar., 2004; Huntington i sar., 2006). Međutim, takođe je sugerisano da skrob koji se vari postruminalno se efikasnije koristi nego kad se vari u buragu (Nocek i Tamminga, 1991). Skrob, kao izvor energije, kada se vari u tankom crevu obezbeđuje 42% više energije od skroba koji se vari u buragu (Owens i sar., 1986; Harmon i sar., 2004). Fermentacija skroba u buragu je praćena gubitkom u vidu toplote i metana (Ørskov, 1986; McLeod i sar., 2006) i iznosi 13-18% od bruto energije (Harmon i McLeod, 2001).

Preživari čija je ishrana bazirana na kabastim hranivima i niskom sadržaju skroba zavise od glukoze koju sintetise jetra da zadovolji njihove metaboličke zahteve. Glavni izvori ugljenika za sintezu glukoze

su organske kiseline iz fermentacije (uglavnom propionat i laktat), ugljenični skelet deaminovanih aminokiselina, i glicerol iz razlaganja triglicerida (Huntington, 1997).

Kao što je već objašnjeno, kod preživara ugljeni hidrati iz hrane se fermentišu u buragu u IMK kratkih lanaca, a često manje od 25% glukoze neophodne za telo se apsorbuje kao proizvod amilolitičkog varenja skroba u crevima (Huntington i sar., 2006). Dakle, glavni izvor glukoze za preživare proizilazi iz glukoneogeneze koja se odvija u jetri sa propionatom kao glavnim supstratom (Reynolds i sar., 2003). Količina propionata koji se apsorbuje iz buraga dobro hranjenih životinja je često dovoljna da ispuni zahteve životinja za sintezu glukoze. Promene u ishrani ili u fiziološkom stanju (brz rast životinje, steonost, laktacija) utiču na količinu i brzinu upotrebe glukoze. Najveći izazov za metabolizam glukoze kod preživara predstavlja laktacija. Glukoza je glavni prekursor laktoze u mleku a manje količine glukoze se takođe koriste za sintezu mlečnih citrata, neesencijalnih aminokiselina i glicerola.

Nedostatak apsorpcije glukoze prilikom ishrane kabastim hranivima ili mala količina koja se apsorbuje prilikom ishrane žitaricama, prisiljava da se metabolički zahtevi visoko produktivnih preživara zadovolje korišćenjem glukoneogeneze, što podrazumeva visoke energetske troškove i opasnost od metaboličkih poremećaja (Otchere i sar., 1974).

2.3.2. ISHRANA BOGATA ŽITARICAMA

Pravilna ishrana preživara je važna za održanje zdravstvenog stanja životinja, a takođe je i ključna za efikasnu i ekonomičnu proizvodnju mleka i mesa. Kod visokoproduktivnih preživara, kao što su

tozna junad i mlečne krave, energetske potrebe su velike kako bi se ostvario brz prirast telesne mase i visok prinos mleka. Stoga, menadžment intenzivne proizvodnje obično podstiče uključivanje velikih količina lako razgradivih ugljenih hidrata u ishranu kako bi se podržale visoke performanse i poboljšala efikasnost troškova. Pored toga što pružaju energiju za životinju, žitarice u ishrani takođe predstavljaju osnovni izvor energije za mikroorganizme buraga (Ishler i Varga, 2001), zato što je glukoza neophodna za bakterijski rast, a time i za mikrobnu sintezu proteina (Nocek i Tamminga, 1991). Međutim, iako je ova praksa u ishrani korisna za povećanje proizvodnje na isplativ način, ona nije u skladu sa digestivnom fiziologijom preživara. Kada su u ishrani zastupljene velike količine žitarica udeo strukturnih prehrambenih vlakana je smanjen, koja su inače potrebna za održavanje zdravlja buraga (Zebeli i sar., 2010).

Kada preživari konzumiraju mnogo kabastih hraniva oni je preživaju. To im omogućava da smanje veličinu čestica i poboljšaju svarljivost. Ako preživari pređu na ishranu koja uključuje više koncentrovanih hraniva (žitarice), tada preživaju manje. Unutar buraga i mrežavca kabasta hrana je izložena jedinstvenoj populaciji mikroba koji počinju da fermentišu i vare komponente ćelijskih zidova biljaka i da ih razlažu na ugljene hidrate i šećere. Mikrobi u buragu koriste ugljene hidrate zajedno sa amonijakom i aminokiselinama za svoj rast. Mikrobi fermentišu šećere i proizvode IMK (sirćetna, propionska, buterna), metan, vodonik sulfid i ugljenik dioksid. IMK se zatim apsorbuju preko zida buraga odakle odlaze u jetru. U jetri se prevode u glukozu putem glukoneogeneze. Pošto se ćelijski zidovi biljaka sporo vare, ova proizvodnja kiseline je veoma spora. Zajedno sa žvakanjem i preživanjem koji povećavaju protok pljuvačke, ovo čini sredinu sa prilično stabilnim pH (oko 6,0).

Kada se preživari hrane zrnastim ili koncentrovanim hranivima, proces varenja je sličan kao varenje kabastih hraniva, uz nekoliko izuzetaka. Uobičajeno je da prilikom ishrane zrnastim hranivima ima manje žvakanja i preživanja, što dovodi do slabije proizvodnje pljuvačke a samim tim i pufera (Ørskov, 1986). Pored toga, većina žitarica ima visoku koncentraciju lako svarljivih ugljenih hidrata, za razliku od više strukturnih ugljenih hidrata koji se nalaze u ćelijskim zidovima biljaka. Lako svarljivi ugljeni hidrati se naglo vare, što dovodi do porasta proizvodnje IMK (Huntington i sar., 2006). Relativne koncentracije IMK se takođe menjaju, pa se propionska proizvodi u najvećoj količini, a zatim sirćetna i buterna kiselina. Povećanje proizvodnje IMK dovodi do kiselije sredine (pH 5,5). To takođe izaziva promene u populaciji mikroba tako što se smanjuje populacija mikroba koji koriste kabasta hraniva što potencijalno dovodi do smanjenja svarljivosti kabaste hrane. Mlečna kiselina, koja je jaka kiselina, je nusprodukt fermentacije skroba. Produkcija mlečne kiseline, zajedno sa povećanom proizvodnjom IMK, može prevazići sposobnost preživara da puferuju i apsorbuju ove kiseline i dovesti do subakutne acidoze buraga (Deckardt i sar., 2013). Ako se pH buraga snizi do vrednosti oko pH 5, to na kraju rezultira akutnom acidozom buraga (Meissner i sar., 2010). Subakutna i akutna acidoza buraga su teški poremećaji metabolizma kod preživara koji se povezuju sa neodgovarajućim varenjem, nadutošću životinja, laminitisom, apscesima jetre i polioencefalomalacijom (Owens i sar., 1998; Ishler i Varga, 2001; Krehbiel, 2014). Osim toga, navedene bolesti su povezane sa smanjenim performansama životinja što ima značajan uticaj na profitabilnost govedarske i mlekarske industrije.

Huntington (1997) navodi da ne postoji očigledno ograničenje u kapacitetu buraga da svari skrob. Međutim, skoro svi problemi koji su povezani sa ishranom koja je bogata žitaricama su rezultat veoma brze fermentacije skroba u IMK. Iz toga sledi da je cilj primene većine aditiva, tretmana i tehnika u menadžmentu umanjeње nastalih problema, pa je

fokus postavljen na načine kojima se može usporiti brzina fermentacije ili neutralizacija proizvedenih kiselina. Slično tome, glavni cilj istraživanja tehnika za preradu žitarica je povećanje svarljivosti skroba, ali istovremeno i izbegavanje „previše dobre stvari“ time što će skrob postati previše dostupan za mikrobijalni napad. Na osnovu svega iznetog može se zaključiti da optimalna podela varenja skroba između predželudaca i creva nije utvrđena (Reynolds i sar., 2001).

2.3.3. UTICAJ TERMIČKIH TRETMANA NA SVARLJIVOST KUKURUZA

Herrera-Saldana i sar. (1990) su nakon analize 5 žitarica koje se najčešće koriste u ishrani preživara izvršili rangiranje na osnovu dobijenih vrednosti za dostupnost skroba u buragu: ovas, pšenica, ječam, kukuruz i sirak. Sporu razgradivost skroba kukuruza i sirka su objasnili kao posledicu veze proteinskog matriksa i granula skroba, vrste i udela proteinskih tela koje se nalaze u endospermu, i udela staklastog endosperma (Rooney i Pflugfelder, 1986). Stoga, Van der Poel i sar. (2005) navode da se kukuruz i sirak prerađuju kako bi se povećala svarljivost i razgradivost skroba u buragu, dok se ječam, pšenica i ovas, koji imaju brzo razgradiv skrob, mogu preraditi tako da dođe do smanjenja razgradivosti u buragu.

U preglednom radu Theurer (1986) navodi da se svarljivost skroba celog zrna kukuruza kroz ceo digestivni trakt goveda kreće u rasponu 77-94%. U buragu se svari 52-75% a u crevima 47-79% skroba koji dospe do creva. Kada se životinjama daje celo zrno, čak 30% celog zrna može da se pojavi u fecesu, stoga je prerada neophodna (Ørskov, 1986). Celo zrno sa netaknutim perikarpom je u velikoj meri otporno na varenje zbog nemogućnosti bakterija da se pričvrste na njegovu površinu (Huntington, 1997). U ishrani mlečnih krava zrno kukuruza se mora

preraditi kako bi ga krave maksimalno svarile, verovatno zato što ga neće dovoljno sažvakati (Owens i sar., 1986).

Žitarice se prerađuju primenom različitih kombinacija toplote, vlage, vremena i mehaničkih sila. Na taj način se pruža mogućnost bakterijama da se pričvrste na površinu granula skroba, pa se time povećava njegova svarljivost. Takođe, dolazi do razrušavanja strukture endosperma, narušavanja proteinskog matriksa koji okružuje granule skroba u endospermu i do želatinizacije skrobne granule (Kotarski i sar., 1992). Zbog svega navedenog skrob postaje dostupniji dejstvu enzima mikroorganizama koji se nalaze u buragu, a takođe i dejstvu enzima pankreasa (Hale, 1973; Theurer, 1986). Sumiranjem rezultata 49 ogleda McLeod i sar. (2006) su objavili da je svarljivost skroba kukuruza, kod mlečnih krava i tovnih junadi, bila povećana nakon tretmana vlagom, mehaničkim pritiskom, i/ili toplotom. Preradom se može uticati i na karakteristike razgradnje hranjivih materija u buragu, takođe i na mesto varenja, što je veoma korisno prilikom optimizacije obroka za preživare. Theurer (1986) navodi da je glavni efekat pravilne prerade žitarica pomeranje mesta varenja skroba iz creva u burag, koje je praćeno povećanjem svarljivosti na oba mesta. Preradom se najčešće povećava brzina fermentacije i svarljivost skroba u buragu, a žitarice koje kada su netretirane imaju nisku svarljivost u buragu, kao što su sirak i kukuruz, u najvećoj meri reaguju na primenjeni tretman (Knowlton, 2001; Zebeli i sar., 2010).

Pregledom literature utvrđeno je da su mlevenje, suvo valjanje, parno valjanje i parno flekičenje najčešće ispitivani tretmani kukuruza koji se koristi u ishrani preživara primenom *in vitro*, *in situ* i *in vivo* tehnike (Owens i sar., 1986; Theurer, 1986; Chen i sar., 1994; Huntington, 1997; Theurer i sar., 1999; Firkins i sar., 2001; Cooper i sar., 2002; Zinn i sar., 2002; Armbruster, 2006; Matsushima, 2006; Dombay, 2013). Huntington (1997) je objedinio rezultate 15 ogleda koji su

publikovani od 1986 do 1995 godine i objavio da je srednja vrednost svarljivosti skroba u buragu 49,5% za kukuruz koji je bio mleven, dok je za suvo valjan, parno valjan i parno flekičan svarljivost bila veća i iznosila je 76,2, 72,1 i 84,8%, respektivno. Dobijeni rezultati su u skladu sa vrednostima koje su objavili Cooper i sar. (2002) u *in vivo* ogledu sa tovnim junadima. U istom ogledu Cooper i sar. (2002) su primenili i *in situ* tehniku kako bi odredili vrednosti razgradivosti skroba u buragu. *In vivo* i *in situ* podaci su imali sličan trend, ali je *in situ* razgradivost skroba u buragu bila u proseku 22 procentnih jedinica niža nego u *in vivo* ogledu, što su autori objasnili različitom pripremom uzorka. Svarljivost skroba kroz ceo digestivni trakt je iznosila 96,1% za suvo valjan kukuruz i 99,8% za parno flekičan kukuruz u ogledu Cooper i sar. (2002). Na osnovu brojnih istraživanja dostupnih u literaturi može se zaključiti da se parnim flekičenjem povećava svarljivost kukuruza u buragu, crevima i celom digestivnom traktu (Theurer i sar., 1999), čime se povećava iskoristljivost kukuruza u ishrani u poređenju sa celim ili suvo valjanim zrnom (Zinn i sar., 2002).

Peletiranje, u kombinaciji sa ekspanzijom, povećava *in situ* razgradivost skroba dve kompletne smeše za krave (Van der Poel i sar., 2005). U poređenju sa netretiranom smešom, peletiranje i ekspanzija su doveli do smanjenja veličine čestica i do povećanja stepena želatinizacije. Van der Poel i sar. (2005) navode da na osnovu analiziranih 11 kompletnih smeša, srednja vrednost povećanja svarljivosti skroba u buragu nakon peletiranja iznosi 12,5%. Na osnovu ovih rezultata, vrednosti za skrob koji izbegne varenje u buragu u holandskim tablicama za ishranu se koriguju za 12,5% za efekat peletiranja (Goelema i sar., 1999).

Ekstrudiranje se najčešće koristi za termičku obradu hrane za monogastrične životinje i kućne ljubimce zato što dolazi do delimične želatinizacije skroba čime se postiže efikasnije korišćenje ugljenih

hidrata. U preglednom radu Offner i sar. (2003) utvrđeno je povećanje razgradivosti skroba u buragu u iznosu od oko 40% za ekstrudirani kukuruz u poređenju sa netretiranim, što je ujedno i najveći iznos povećanja koji je zabeležen u pomenutom radu u kome je analizirano 8 fizičkih, hemijskih i termičkih tretmana kukuruza. U istraživanju Solanas i sar. (2005) ekstrudiranje koncentrovanog dela obroka je dovelo do pozitivnih rezultata prilikom tova goveda, a posebno kada su životinje još mlade. Takođe, Reyes-Jáquez i sar. (2011) su ekstrudiranjem smeše koja je sadržala brašno pasulja iskoristili sporedni proizvod prehrambene industrije, a dobijeni proizvod je zadovoljavao zadate nutritivne kriterijume.

Pregledom dostupne literature ustanovljeno je da postoji još nekoliko termičkih tretmana koji se koriste za preradu kukuruza u ishrani preživara, a koji nisu predmet istraživanja ove disertacije, a to su ekspaniranje i tretman mikrotalasima. U radu Tothi i sar. (2003) ekspaniranje kukuruza je dovelo do povećanja *in situ* razgradivosti skroba u poređenju sa netretiranim kukuruzom (72 naspram 60%), i do povećanja brzine ragradnje. Tretman kukuruza mikrotalasima u trajanju od 3 i 5 minuta je doveo do povećanja, a u trajanju od 7 minuta do smanjenja *in situ* efektivne razgradivosti skroba u buragu (Sadeghi i Shawrang, 2006).

Pregledom dostupne literature nisu pronađeni radovi u kojima se analizira uticaj mikronizacije na svarljivost skroba kukuruza kod krava, bilo da se radi o *in vivo* ili *in situ* oglecima. U istraživanju McAllister i Sultana (2011) analiziran je uticaj mikronizacije na više sorti pšenice u *in situ* ogledu sa kastriranim volovima. U istom istraživanju ispitan je uticaj mikronizacije na jednom uzorku kukuruza, a dobijeni rezultati su ukazali na značajno smanjenje brzine razgradnje skroba kukuruza što je uticalo na smanjenje količine skroba koji se razgradi nakon 96h inkubacije u buragu kastriranih volova. U istraživanju Sadeghi i sar.

(2012) *in situ* analiza mikroniziranog kukuruza je rađena na infistuliranim ovnovima, kod kojih je primenjeni tretman takođe izazvao smanjenje brzine i efektivne razgradivosti skroba u buragu u poređenju sa netretiranim uzorkom. Grupa autora iz Kanade (Mustafa i sar., 2002; Gonthier i sar., 2004) ispitala je uticaj mikronizacije lanenog semena u ishrani goveda. U najvećem broju dostupne literature u kojoj se ispituje uticaj mikronizacije istraživanja se odnose na ishranu prasadi i svinja.

U oglecima sa mlečnim kravama prerada kukuruza i sirka je dovela do povećanja proizvodnje mleka i koncentracije proteina u mleku, zajedno sa poboljšanim korišćenjem hranjivih materija, kao posledica tretmana koji je povećao fermentaciju skroba u buragu (Firkins i sar., 2001; Knowlton, 2001). Poboljšanje je takođe zabeleženo i kod tovnih junadi (Huntington, 2000). U biološkom ogledu Stojanović i sar. (2008) mikronizirani kukuruz zajedno sa ekstrudiranom sojom je povećao nutritivnu vrednost koncentrata u ishrani odlučene teladi.

2.4. METODE ZA PROCENU SVARLJIVOSTI HRANE

Hrana za životinje se analizira kako bi se dobile informacije o njenoj vrednosti kao izvoru hranjivih materija. Kada postoji mogućnost izvode se *in vivo* merenja koja zahtevaju životinje, relativno veliku količinu ispitivane hrane i vreme. Pomenuta merenja su skupa, a osim toga potrebno je uložiti intenzivan rad što ih ne čini pogodnim za rutinsko izvođenje. Moguće rešenje ovog problema su brze i jeftine laboratorijske metode za rutinsko predviđanje *in vivo* svarljivosti organske materije (SOM) u ishrani preživara. Postoji nekoliko laboratorijskih postupaka koji se koriste za predviđanje SOM hrane za preživare, a zasnivaju se na hemijskoj analizi ili biološkim metodama koje simuliraju proces varenja. Getachew i sar. (1998) navodi tri tehnike svarljivosti (biološke metode) trenutno dostupne za određivanje hranjive

vrednosti hrane za preživare: 1) fermentacija mikroorganizmima iz buraga, 2) hidroliza enzimskim preparatima i 3) *in situ* inkubacija uzoraka u buragu.

2.4.1. HEMIJSKA ANALIZA

Sastav hrane u smislu njegovih osnovnih komponenti (vlaga, sirovi proteini, mast, pepeo, sirova celuloza i bezazotne ekstraktivne materije) se koristio kao početna tačka za vrednovanje hrane još od devetnaestog veka. Primer predviđanja svarljivosti iz hemijskog sastava su prikazali Sauvant i sar. (2004). Dobijeni prediktivni modeli su se zasnivali na parametrima ćelijskog zida (sirova celuloza, NDF, ADF) različitih hraniva koja se koriste u ishrani preživara. Hraniva su podeljena u šest grupa, stoga dobijeno je šest glavnih prediktivnih modela. Vrednosti R^2 u dobijenim jednačinama su se kretale od 0,74 do 0,98, a mnoge od dobijenih jednačina su imale sirovu celulozu kao glavni prediktor. Nasuprot ovome mnogi autori navode u svojim istraživanjima da hemijski sastav i pojedine frakcije ćelijskog zida imaju lošu sposobnost predviđanja *in vivo* svarljivosti smeša, koncentrovanih i kabastih hraniva (Aerts i sar., 1977; De Boever i sar., 1986; Andrighetto i sar., 1992; Iantcheva i sar., 1999; Kitessa i sar., 1999).

2.4.2. IN VITRO TEHNIKA

Druga mogućnost su *in vitro* tehnike koje se zasnivaju na inkubaciji mikrobnim inokulumom iz buraga koji se koristi kao medijum za varenje. Gosselink i sar. (2004) navode da su najprihvaćenije *in vitro* tehnika Tilley i Terry (1963) i tehnika produkcije gasa koju su razvili Menke i Steingass (1988). Nedostaci navedenih metoda proizilaze iz problema vezanih za korišćenje buražnog inokuluma. Tečnost iz buraga mora biti sveža što podrazumeva postojanje životinja sa fistulama (koje

nisu dostupne svim laboratorijama) zato što se čuvanjem tečnosti aktivnost mikroorganizama gubi ili menja. Na rezultate takođe utiče variranje kvaliteta tečnosti iz buraga do kog može doći zbog vrste i ishrane životinje iz koje se inokulum uzima, vremena prikupljanja i u kojoj meri se održavaju anaerobni uslovi, optimalan pH i temperatura (Jones i Theodorou, 2000; Adesogan, 2002; Lopez, 2005). Ovi nedostaci se mogu izbeći korišćenjem egzogenih enzima za inkubaciju hrane koji imaju za cilj da imitiraju digestivne procese u životinji.

2.4.3. ENZIMSKE METODE

Upotreba enzima kao alternativa buražnom inokulumu ima prednost prevazilaženja potrebe za životinjama sa fistulama i anaerobnim procedurama, pojednostavljenje analitičke metodologije i eliminisanje varijabilnost u aktivnosti inokuluma (Lopez, 2005).

Egzogeni enzimi mogu da razlože različite delove biljaka koji se mogu podeliti na one koji čine strukturu biljke (konstituenti ćelijskog zida) i one koji su sadržani unutar ćelija (ćelijski sadržaj) (Jones i Theodorou, 2000). Ćelijski sadržaj je suštinski potpuno svarljiv *in vivo* (ugljeni hidrati, skrob, proteini, organske kiseline, lipidi i rastvorljivi minerali), dok se sastojci ćelijskog zida (celuloza, hemiceluloza i lignin) razlikuju u svarljivost (Lopez, 2005). Razlike u svarljivosti proizilaze iz njihove polimerne konfiguracije, stepena kristalnosti i stepena lignifikacije (Jovanović i sar., 2009). Imajući u vidu da enzimi koji se koriste u analitičkim procedurama treba da odražavaju digestivne procese preživara, njihov zadatak je da uklone rastvorljive sastojke (ćelijski sadržaj) i da u značajnoj meri rastvore ćelijski zid kod kog nije došlo do lignifikacije ili je ona umerena (Van der Baan, 2008).

U početku, metode je činila samo jedna etapa koja se sastojala od inkubacije uzoraka hrane neko određeno vreme u rastvoru pufera koji je sadržao celulazu. Međutim, niske izmerene vrednosti nestanka supstrata su sugerisale da enzimi nisu mogli da uklone sve rastvorljive sastojke hrane. Stoga, predloženi su različiti tretmani uzoraka koji će prethoditi inkubaciji u celulazi, poput inkubacije u kiselom pepsinu (Lowerth i sar., 1975) ili u amilazi (Dowman i Collins, 1982), ekstrakcija u neutralnom deterdžentu (Roughan i Holland, 1977) ili tretman jakom kiselinom (De Boever i sar., 1988). Potencijal ovih tehnika u evaluaciji hrane zavisi od pouzdanosti jednačina predviđanja dobijenih za *in vivo* svarljivost. Rezultati prikazani u literaturi ukazuju da je enzimska rastvorljivost dobra za procenu svarljivosti (De Boever i sar., 1986; De Boever i sar., 1988; Jones i Theodorou, 2000; Palić i Muller, 2006; Palić i Leeuw, 2009).

Lopez (2005) navodi da na dobijene regresione jednačine utiče vrsta kabastog hraniva, tretmani koji prethode i poreklo enzima, ali da bez obzira na to, kada je cilj jednostavno relativno rangiranje po svarljivosti, enzimске metode su atraktivna mogućnost. U poređenju sa metodama koje koriste inokulum iz buraga one štede novac, rad i vreme, a takođe za njihovo izvođenje nisu potrebne životinje sa fistulama. Jednostavnije su za izvođenje i imaju bolju reproduktivnost (De Boever i sar., 1986) što ih čini izuzetno pogodnim za rutinsku upotrebu.

Weisberg i Hvelplund (1993) su razvili *in vitro* multi-enzimsku metodu za određivanje svarljivosti organske materije (SOM) koncentrovanih hraniva koja se koriste u ishrani preživara. Princip određivanja SOM se sastoji najpre u inkubiranju uzorka rastvorom kiselog pepsina tokom 24 sata u cilju razgradnje proteina. Smeša se potom zagreva do 80°C u cilju inaktivacije pepsina i stvaranja uslova za hidrolizu skroba. Nakon ispiranja vodom ispitivani uzorak se inkubira u smeši enzima tokom čega dolazi do razgradnje skroba i svarljivih

ugljenih hidrata iz ćelijskih zidova. Nesvarljivi ostaci se ispiraju toplom vodom, a zatim acetonom u cilju ekstrakcije masti. Za izračunavanje *in vitro* SOM potrebno je odrediti sadržaj suve materije i pepela u nesvarenom ostatku uzorka. Tokom godina potvrđena je upotreba pomenute metode i predviđanje *in vivo* SOM slame (Hvelplund i sar., 1999), hraniva (Palić i Muller, 2006) i kompletnih smeša (Palić i Leeuw, 2009), kao i za kalibraciju NIR uređaja (Pojić i sar., 2008). U navedenim radovima multi-enzimska metoda se pokazala podjednako pouzdana u predviđanju *in vivo* SOM kao i *in vitro* metoda Tilley i Terry (1963) za čije izvođenje je neophodan buražni sok odnosno infistulirane životinje. Takođe, navedena metoda je zvanična metoda u Danskoj za procenu *in vivo* SOM koncentrovanih hraniva i smeša (Akerlind i sar., 2011), primenom formule:

$$\text{In vivo svarljivost} = 5,38 + 0,867 \times (\text{in vitro enzimska svarljivost (\%)}) \quad (1)$$

2.4.4. IN SITU TEHNIKA

In situ tehnika (takođe poznata pod nazivom *in sacco* odnosno *nylon bag* tehnika) se koristi za procenu razgradnje hranljivih materija u buragu. Prednost ove tehnike u odnosu na ostale laboratorijske tehnike je ta što ona uključuje procese varenja koji se dešavaju u buragu živih životinja (Van der Baan, 2008). Nedostatak je taj što se u jednom trenutku može analizirati mali broj uzoraka i što je potrebno imati životinje sa fistulama. Direktna metoda merenja razgradnje hrane u buragu se sastoji od postavljanja male količine hrane u nerazgradivu poroznu kesu, suspendovanja kese u burag i merenja nestanka komponenti hrane nakon inkubacije (Ørskov i sar., 1980). Ova tehnika je veoma stara i prvi put je korišćena 1939 godine u ogledu sa ovcima. Međutim, u svim tadašnjim studijama nije bilo pokušaja da se opišu krive razgradnje regresijom. Tek 1980-ih je ova tehnika upotrebljena za

dobijanje procene brzine i stepena razgradnje u buragu. Mnoge *in situ* podatke pružaju brojne kinetičke studije nestanka azota koje su korišćene za razvijanje modernih sistema za procenu zahteva preživara za hranom i proteinima. Takođe, za opisivanje kinetike razgradnje ostalih komponenata hrane, kao što su skrob i strukturni ugljeni hidrati, sve češće se upotrebljava i ova tehnika (Kopčeková i sar., 2010; Chrenková i sar., 2012; Peyrat i sar., 2014; Hao i sar., 2016).

2.4.4.1. METODE ZA PROCENU SVARLJIVOSTI NAKON RUMENA

Druga, novija primena *in situ* tehnike, je *mobile bag* tehnika. Razvijena je za procenu dostupnosti proteina u crevima koji nisu razgrađeni u buragu (De Boer i sar., 1987). Uzorci se najpre inkubiraju u buragu nakon čega se odmeravaju u malu kesu i uvode preko duodenalne fistule u creva gde slobodno prolaze, pa se uzimaju na kraju tankog creva ili iz fecesa. Materijal koji kontaminira uzorke se uklanja pranjem a nesvareni ostatak se analizira. Faktori koji utiču na rezultate dobijene ovom tehnikom su poroznost kese, vreme inkubacije u buragu, vreme zadržavanja u crevima i mesto uzimanja kesa (ileum ili feces) (Lopez, 2005). Ova metoda se sa velikim uspehom koristi za procenu svarljivosti proteina i aminokiselina u crevima (Weisbjerg i sar., 1996), dok je broj radova koji analiziraju skrob veoma mali. Takođe, prema saznanju autora a na osnovu pregleda dostupne literature, postoji samo jedno istraživanje (Ghoorchi i sar., 2013) u kome se porede rezultati svarljivosti skroba dobijenih primenom *mobile bag* metode sa *in vivo* svarljivošću.

Poglavlje 3

Cilj rada

Na osnovu pregleda dosadašnjih istraživanja ustanovljeno je da se u velikom broju eksperimenata koji se izvode sa ciljem procene efikasnosti primene različitih vrsta tretmana na poboljšanje svarljivosti hrane kod preživara, najčešće analizira uticaj jednog ili dva tretmana i poredi sa mlevenjem. Takođe, u datim studijama veoma često se izostavlja opis samog tretmana i primenjenih parametara (npr. temperatura, vreme, vlaga), već se navodi samo ime tretmana. Za pravilno tumačenje dobijenih rezultata u biološkim ogledima sa životinjama neophodno je prethodno odrediti fizičko-hemijske karakteristike netretiranog skrobnog materijala i promene koje nastaju nakon primenjenog tretmana, što takođe veoma često nije slučaj u dostupnoj literaturi.

Imajući u vidu navedene činjenice, osnovni cilj istraživanja u okviru ove disertacije je analiza uticaja različitih termičkih tretmana na promene skrobne komponente i svarljivost kukuruza kod preživara. U tu svrhu primenjeni su tretmani peletiranja, parnog flekičenja, mikronizacije i ekstrudiranja na uzorcima kukuruza i potpune smeše za krave muzare. Fizičko-hemijske karakteristike netretiranog materijala i promene koje su nastale kao posledica termičkog tretmana, su analizirane primenom pouzdane metodologije koja se koristi u analizi

hrane. Promene u strukturi su praćene pomoću skening elektronske mikroskopije i diferencijalne skenirajuće kalorimetrije, dok su promene u hidrataciji i bubrenju uzoraka određene analizom krive pastiranja, indeksa apsorpcije vode (WAI) i indeksa rastvorljivosti u vodi (WSI). *In situ* tehnikom je praćena promena brzine svarljivosti skroba i suve materije u buragu preživara i uticaj različitih termičkih tretmana na mesto varenja skroba kukuruza. Promene u svarljivosti organske materije (SOM) kroz ceo digestivni trakt preživara su određene *in vitro* multi-enzimskom metodom. Takođe je razmatrana mogućnost primene pomenute metode za procenu uticaja termičkih tretmana na SOM kod preživara.

Poglavlje 4

Materijal i metode

4.1. MATERIJAL

Eksperimentalni deo doktorske disertacije je izveden u okviru eksperimenta 1 i eksperimenta 2. U eksperimentu 1 je tretiran i analiziran kukuruz sorte ZP 666 koji je uzgajan na teritoriji Srbije tokom 2012 godine. U eksperimentu 2 je tretirana i analizirana potpuna smeša na bazi kukuruza za krave muzare preko 20 l/dan mleka. Upotrebljena hraniva i receptura potpune smeše za krave muzare su prikazani u tabeli 2. Hraniva korišćena za istraživanja u okviru ove doktorske disertacije su dobijena od FSH „Komponenta“ iz Čuprije. U eksperimentu 1 i 2 upotrebljen je isti kukuruz.

Tabela 2. Potpuna smeša na bazi kukuruza za krave muzare

Hranivo	Udeo u smeši (%)
Kukuruz	59
Suncokretova sačma (33% proteina)	24
Sojina sačma (44% proteina)	13
Kreda	2
Monokalcijum fosfat	0,9
Stočna so	0,6
Premiks	0,5

U oba eksperimenta primenjena su 4 različita termička tretmana: 1) peletiranje 2) parno flekičenje 3) mikronizacija i 4) ekstrudiranje. Parametri u ispitivanim termičkim tretmanima su odabrani tako da budu bliski onima u industrijskoj praksi. U eksperimentu 2 peletiranje i ekstrudiranje su izvedeni na potpunoj smeši čiji je sastav prikazan u tabeli 2. U istom eksperimentu parno flekičenje i mikronizacija su izvedeni na zrnju kukuruza. Potpuna smeša je formirana tako što je pomešano parno flekičano odnosno mikronizirano zrno kukuruza i peleta. Peletu su činile sve komponente iz tabele 2 izuzev kukuruza, a u nastavku teksta ovu smešu ćemo označiti kao „peleta bez kukuruza“. U tabeli 3 je dat prikaz svih uzoraka iz eksperimenta 1 i 2, takođe i njihove oznake.

4.2. TEHNOLOŠKI PROCES PELETIRANJA

Tehnološki proces peletiranja kukuruza i potpune smeše za krave muzare sa i bez kukuruza je izveden u pilot postrojenju Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu. Za mlevenje kukuruza korišćen je mlin čekićar, Tip 11, „ABC Inženjering“, Pančevo, Srbija, na situ veličine otvora 4 mm. Ostale sirovine koje ulaze u sastav smeše su dobijene u obliku koji nije zahtevao naknadno mlevenje.

Za mešanje i kondicioniranje kukuruza, takođe i potpune smeše sa i bez kukuruza, korišćena je dvoosovinska lopatasta mešalica - kondicioner, model SLHSJ0.2, „Muyang“, Kina. Vreme mešanja je iznosilo 90 sekundi što je prethodnim analizama utvrđeno da je optimalno vreme mešanja za datu mešalicu. U materijal je dozirana para pritiska 2 bara do postizanja temperature od 80°C nakon čega je materijal ispušten u koš ispod mešalice - kondicionera.

Tabela 3. Oznake uzoraka u eksperimentu 1 i 2

Eksperiment 1	Oznaka uzorka	Eksperiment 2	Oznaka uzorka
Netretiran kukuruz	NK	Netretirana potpuna smeša za krave muzare	NS
Peletiran kukuruz (61°C)	PK	Peletirana potpuna smeša za krave muzare (75°C)	PS
Parno flekičan kukuruz (85°C)	FK	Parno flekičan kukuruz (FK) + peleta bez kukuruza	FS
Mikroniziran kukuruz bez dodatka pare (125°C)	MK1	Mikroniziran kukuruz (MK1) + peleta bez kukuruza	MS1
Mikroniziran kukuruz sa dodatkom pare (111°C)	MK2	Mikroniziran kukuruz (MK2) + peleta bez kukuruza	MS2
Mikroniziran kukuruz sa dodatkom pare (125°C)	MK3	Mikroniziran kukuruz (MK3) + peleta bez kukuruza	MS3
Ekstrudirani kukuruz (80°C)	EK1	Ekstrudirana potpuna smeša za krave muzare (80°C)	ES1
Ekstrudirani kukuruz (95°C)	EK2	Ekstrudirana potpuna smeša za krave muzare (95°C)	ES2
Ekstrudirani kukuruz (110°C)	EK3	Ekstrudirana potpuna smeša za krave muzare (110°C)	ES3
Ekstrudirani kukuruz (130°C)	EK4	/	/

Za peletiranje je korišćena pelet presa sa ravnom matricom 14-175, „Amandus Kahl”, Nemačka (slika 6). Kod ove vrste pelet prese matrica je fiksirana i nalazi se u horizontalnoj ravni. Materijal se raspoređuje po površini matrice i presuje kroz otvore matrice uz pomoć dva rotirajuća valjka. Sa donje strane matrice se nalaze rotirajući noževi koji odsecaju formirane pelete na dužinu od 15 mm. Prečnik otvora matrice iznosio je 6 mm a dužina otvora matrice 36 mm. U tabeli 4 su navedeni postignuti parametri peletiranja za svaki tretirani uzorak.



Slika 6. Pelet presa sa ravnom matricom

Tabela 4. Parametri peletiranja

Uzorak	Vlaga kondicioniranog materijala (%)	Protok materijala (kg/h)	Potrošnja energije (kW)	Temperatura peletiranja (°C)
PK	16,52	15,4	0,55	61
PS	17,12	16,2	0,91	75
Peleta bez kukuruza	16,13	15,3	1,03	80

PK - peletiran kukuruz; **PS** - peletirana smeša;

4.3. TEHNOLOŠKI PROCES PARNOG FLEKIČANJA

Tehnološki proces parnog flekičanja celog zrna kukuruza je izveden u FSH „Opulent“ u Čurugu na uređaju za parno flekičenje žitarica proizvođača Ottevanger, Holandija (slika 7). Zrno kukuruza je zadržano u usipnom košu iznad uređaja gde je materijal kondicioniran tokom 30 minuta dodatkom pare pritiska 10 bara. Vlaga zrna kukuruza nakon kondicioniranja, a pre prolaska kroz valjke, je iznosila 14,36% i dostignuta je temperatura od 85 °C. Finalni oblik tretiranog zrna tj. flekica dobijen je prolaskom materijala između nazubljenih valjaka.



Slika 7. Uređaj za parno flekičanje zrna kukuruza

4.4. TEHNOLOŠKI PROCES MIKRONIZACIJE

Tehnološki postupak mikronizacije celog zrna kukuruza je izveden u FSH „Komponenta“ u Čupriji (slika 8). Zrno kukuruza je zadržano u usipnom košu iznad uređaja gde je materijal kondicioniran tokom 15 minuta dodatkom pare pritiska 4 bara. Iz usipnog koša materijal je doziran u tankom sloju na vibro traku dimenzija 1,1 x 3,4 m. Protok materijala je iznosio 500 kg/h, a temperatura je merena na početku, sredini i kraju vibro trake. Finalni oblik tretiranog zrna tj. flekica dobijen je prolaskom materijala između nazubljenih valjaka. U tabeli 5 su navedeni postignuti parametri mikronizacije za 3 uzorka kukuruza.



Slika 8. Uređaj za mikronizaciju zrna kukuruza

Tabela 5. Parametri mikronizacije kukuruza

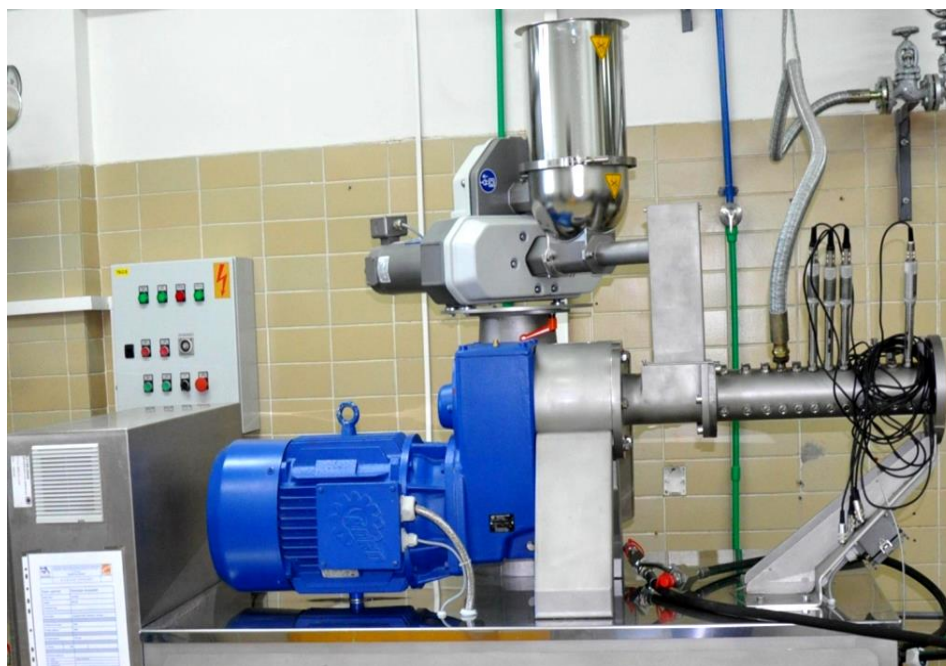
Uzorak	Vlaga zrna kukuruza nakon kondicioniranja (%)	Temperatura merena na različitim pozicijama na vibro traci (°C)		
		početak	sredina	kraj
MK1	/*	80	107	125
MK2	14,29	95	106	111
MK3	14,29	97	112	125

* zrno kukuruza nije kondicionirano; **MK1-MK3** - mikroniziran kukuruz

4.5. TEHNOLOŠKI PROCES EKSTRUDIRANJA

Tehnološki proces ekstrudiranja kukuruza, takođe i potpune smeše za krave muzare, je izveden u pilot postrojenju Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu. Pre ekstrudiranja materijal je samleven i kondicioniran na uređajima opisanim u odeljku 4.2. Vлага kondicioniranog kukuruza je iznosila 17,31%, a potpune smeše 17,50%.

Ekstrudiranje kukuruza i potpune smeše za krave muzare je izvedeno na jednopužnom ekstruderu OEE 8, AMANDUS KAHL GmbH & Co. KG, Nemačka (slika 9). Broj i prečnik otvora na matrici, brzina obrtanja puža ekstrudera, protok materijala, iskorišćenje i snaga motora, vлага kondicioniranog materijala i temperatura prilikom ekstrudiranja kukuruza i potpune smeše za krave muzare su prikazani u tabeli 6.



Slika 9. Jednopužni ekstruder

Tabela 6. Parametri ekstrudiranja

Uzorak	Broj otvora x prečnik otvora matrice	Brzina obrtnja puža (Hz)	Protok materijala (kg/h)	Iskorišćenje motora (%)	Snaga motora (kW)	Vlaga kondicioniranog materijala (%)	Temperatura (°C)
EK1	2 x 8 mm	50	39,6	20	5,5	17,31	80
EK2	2 x 8 mm	75	19,8	10	5	17,31	95
EK3	3 x 5 mm	50	19,8	10	5	17,31	110
EK4	3 x 5 mm	55	79,2	40	9,5	17,31	130
ES1	2 x 8 mm	33	47,8	25	5	17,50	80
ES2	2 x 8 mm	69	19,1	10	4	17,50	95
ES3	3 x 5 mm	25	76,6	40	7,5	17,50	110

EK1-EK4 - ekstrudiran kukuruz; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

4.6. ODREĐIVANJE OSNOVNOG HEMIJSKOG SASTAVA

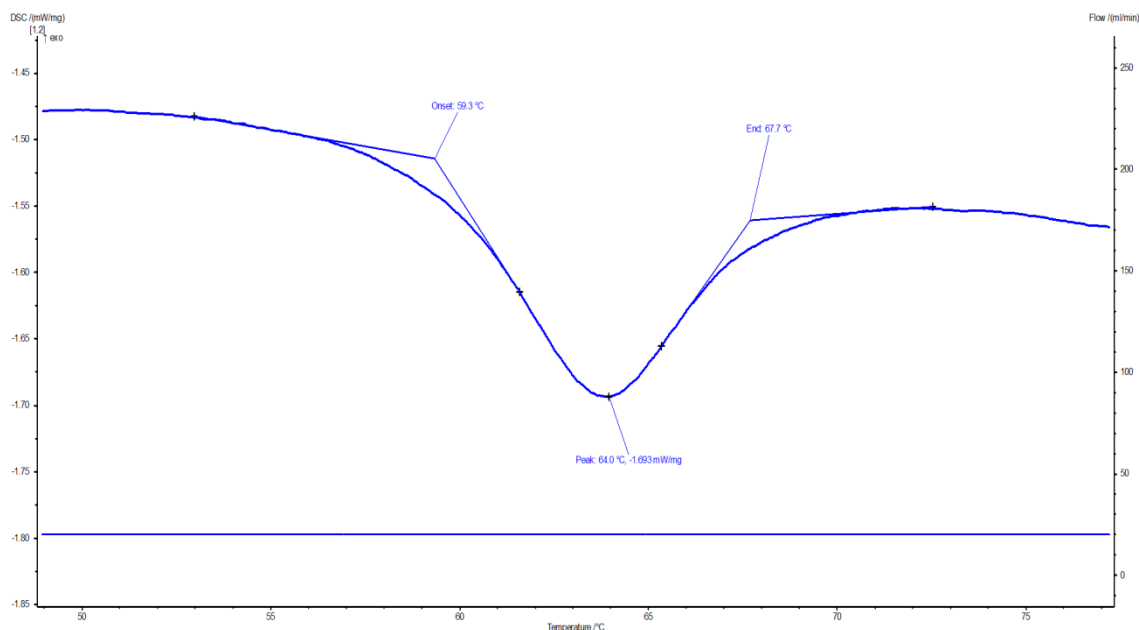
Sadržaj vlage, skroba, proteina, celuloze i pepela je određen prema Pravilniku o metodama uzimanja uzoraka i metodama fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane "Službeni list SFRJ" br. 15/87. Sadržaj vlage je određen prema metodi 6 navedenog pravilnika, sušenjem na 105°C do konstantne mase. Sadržaj skroba je određen polarimetrijski prema metodi 17. Sadržaj proteina je određen titrimetrijski po Kjeldahl-u (metoda 7), celuloza po Weender-u (metoda 16), a pepeo gravimetrijski (metoda 18).

4.7. ODREĐIVANJE STEPENA ŽELATINIZACIJE DIFERENCIJALNOM SKENIRAJUĆOM KALORIMETRIJOM

Promene u kristalnoj strukturi skroba tokom želatinizacije praćene su diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom pomoću uređaja DSC 204 F1 Phoenix®, Netzsch, Nemačka. Kalorimetar je kalibrisan uz pomoć standarda indijuma. Približno 4 mg uzorka je odmereno direktno u DSC posudu nakon čega je mikropipetom dodata voda tako da je odnos uzorak/voda bio 1:2. Posudice su hermetički zatvarane i ostavljene preko noći. Uzorci su zagrevani brzinom od 10°C/min u režimu porasta temperature od 20 do 95 °C. Prazna DSC posuda služila je kao referentna.

Kalorimetrijskom metodom izmerena je entalpija želatinizacije (ΔH) uzorka tj. energija koja je potrebna za postizanje potpune želatinizacije skroba. ΔH je određen iz površine pika na termogramu i izražen u J/g preračunato na suhu materiju uzorka. T_0 je temperatura na kojoj se tangenta pika (strana pika sa nižom temperaturom) ukršta sa baznom linijom; T_p je temperatura na vrhu pika, a T_e je temperatura na kojoj se

tangenta pika (strana pika sa višom temperaturom) ukršta sa baznom linijom (slika 10).



Slika 10. Primer DSC termograma

Stepen želatinizacije (SŽ) je izračunat poređenjem ΔH netretiranog uzorka sa termički tretiranim uzorkom (Holm i sar., 1988; Zarguili i sar., 2006):

$$S\check{Z} (\%) = (1 - \Delta H_{\text{termički tretiran}} / \Delta H_{\text{netretiran}}) \times 100 \quad (2)$$

4.8. ODREĐIVANJE INDEKSA APSORPCIJE VODE (WAI) I INDEKSA RASTVORLJIVOSTI U VODI (WSI)

Indeks apsorpcije vode (*engl. water absorption index - WAI*) i indeks rastvorljivosti u vodi (*engl. water solubility index - WSI*) su određeni prema metodi Anderson i sar. (1970) opisanoj u radu Lazou i Krokida (2010). U izmerenu epruvetu za centrifugu od 15 ml dodato je 5 ml destilovane vode i 0,2 g samlevenog uzorka koji je odmeren sa

preciznošću od 1 mg. Nakon mešanja uzorka na Vortex mikseru 2 min uzorak je centrifugiran 20 minuta na 2000 o/min. Supernatant je dekantovan u tariranu posudu za isparavanje. Istaloženi deo uzorka je izmeren i WAI (g/g) je izračunat kao:

$$WAI = \frac{\text{masa istaloženog uzorka (g)}}{\text{masa uzorka (g SM)}} \quad (3)$$

Indeks rastvorljivosti u vodi (WSI) je određen iz količine suve materije nakon uparavanja supernatanta (g/100 g):

$$WSI = \frac{\text{masa rastvorene čvrste materije u supernatantu (g)}}{\text{masa uzorka (g SM)}} \times 100 \quad (4)$$

Uzorci su analizirani u triplikatu.

4.9. ODREĐIVANJE REOLOŠKIH SVOJSTVA

Reološka svojstva uzorka ispitana su uz pomoć reometra HAAKE Mars, Thermo Scientific, Nemačka. Praćenje promene viskoziteta tokom želatinizacije izvedeno je uz pomoć sledećeg pribora: posude cilindra Z43S koja je nazubljena kako bi se sprečilo proklizavanje materijala u toku merenja i propelerskog rotora FL2B (slika 11) specijalno konstruisanog za skrobne suspenzije, sa prorezima koji poboljšavaju mešanje i sprečavaju taloženje na dnu posude.

Ovim testom ispitivane su 15% suspenzije (računato na masu osušenog uzorka) pri čemu je količina dodate destilovane vode bila 60 ml. Suspenzije su temperirane na 25°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 25°C brzinom od 1,5°C/min. Brzina smicanja propelera u

toku merenja je iznosila 10 s^{-1} . Kako bi se sprečilo isparavanje vode u toku merenja, korišćena je zaštita od isparavanja ("solvent trap" za Z40 geometriju). Merenja su izvođena u triplikatu.



Slika 11. Propelerski rotor FL2B

Dobijena je kriva promene viskoziteta u funkciji vremena i temperature sa koje su očitani sledeći parametri:

1. Početni viskozitet na 25°C koji označava viskozitet suspenzije na početku faze grejanja (PV)
2. Maksimalni viskozitet na 95°C tj. viskozitet suspenzije pri kojem je većina granula dostigla maksimum bubrenja (MV)
3. Finalni viskozitet na 25°C koji označava viskozitet hladne paste (FV)
4. Temperatura početka želatinizacije tj. temperatura u trenutku porasta viskoziteta usled početka bubrenja skrobnih granula (T_g)

4.10. ODREĐIVANJE MIKROSTRUKTURE

Samlevni uzorci su napareni zlatom na uređaju Sputter Coater SCD 005, BALTEC SCAN (WD=50mm, za 90s, struja 30mA) i posmatrani

skening elektronskim mikroskopom JMS SEM 6460 LV (JEOL Ltd., Japan), pri naponu ubrzanja od 25 KV. Uvećanje je prikazano na dnu svake slike.

4.11. ODREĐIVANJE RAZGRADIVOSTI SUVE MATERIJE I SKROBA U BURAGU

Efektivna razgradivost SM, skroba i parametri razgradivosti (a , b i c) su određeni *in situ* metodom (Harazim i Pavelek, 1999). Korišćene su tri zasušene krave (Black Pied rase prosečne težine 550 kg žive vage) koje imaju velike burazne fistule (\varnothing 10,5 cm). Životinje su hranjene dva puta dnevno a voda im je bila dostupna *ad libitum*. Obrok je bio sastavljen od 70% kabaste hrane i 30% koncentrata na bazi suve materije (seno lucerke, kukuruzna silaža, brašno žitarica (pšenica:ječam 1:1), mineralni i vitaminski dodatak). Oko 4,5 g uzorka hrane je samleveno na laboratorijskom mlinu čekićaru da prođe sito veličine otvora 3 mm i odmereno u kese (130 x 80 mm) napravljene od platna poliamida, Uhelon 120T, sa veličinom pora od 47 μ m i inkubirano 3, 9, 16, 24 i 48 h u buragu. Nakon inkubacije kese su isprane pod mlazom hladne česmenske vode da bi se uklonio višak buraznog sadržaja. Kese su oprane u mašini za pranje veša bez centrifuge (3 x 5 min) i zatim osušene na 60°C tokom 24 h. Nerazgrađeni uzorci nakon 16h inkubacije u buragu su osušeni u liofilizatoru i upotrebljeni za određivanje svarljivosti skroba u crevima. Ostaci uzorka koji se nisu razgradili su izmereni, a nakon toga su spojeni (za svako vreme inkubacije) i samleveni u jedan uzorak u kom je određen sadržaj SM i skroba. Procenat razgradivosti je izračunat po formuli:

$$\text{Razgradivost SM (\%)} = \frac{(SM1 - SM2)}{SM1} * 100 \quad (5)$$

SM1 – sadržaj suve materije uzorka pre inkubacije u buragu

SM2 – sadržaj suve materije ostatka uzorka nakon inkubacije u buragu

$$\text{Razgradivost skroba (\%)} = \frac{(SK1-SK2)}{SK1} * 100 \quad (6)$$

SK1 – sadržaj skroba u suvoj materiji uzorka pre inkubacije u buragu

SK2 – sadržaj skroba u suvoj materiji ostatka uzorka nakon inkubacije u buragu

Parametri razgradivosti SM i skroba su izračunati korišćenjem Neway programa (Rowett Research Institute, Aberdeen, Great Britain) na osnovu jednačina koje su opisali Ørskov i McDonald (1979).

$$EfRS \text{ ili } EfRSM = a + \frac{b*c}{c+k} \quad (7)$$

EfRS – efektivna razgradivost skroba

EfRSM – efektivna razgradivost SM

a – brzo razgradiva frakcija

b – potencijalno razgradiva frakcija

c – brzina razgradivosti frakcije b

k – brzina prolaza

Za proračun efektivne razgradivosti korišćena je brzina prolaza od $0,06 \text{ h}^{-1}$. Pretpostavljeno je da ne postoji nerazgradiva frakcija tako da je suma a i b bila 100% (Offner i sar., 2003).

4.12. ODREĐIVANJE SVARLJIVOSTI SKROBA U CREVIMA

Tri jedinke oglednih životinja (krava) sa stalnim T-kanulama u dvanaestopalačnom crevu iza pankreasa su korišćene za metodu *mobile bag* odnosno procenu svarljivosti skroba nakon buraga. Nerazgrađeni

ostaci uzorka nakon 16 h inkubacije u buragu koji su osušeni u liofilizatoru i nakon toga homogenizovani, su izmereni u kesice veličine 25 x 40 mm (napravljene od platna Uhelon 120T sa veličinom pora od 47 μm). Uzorci u kesicama su inkubirani tokom 1 h u 2% rastvoru pepsina u 0,1M HCl na 39°C. Nakon inkubacije kesice su ubačene u dvanaestopalačno crevo, prema postupku koji su opisali Straalen i Huisman (1991). Nakon 24 h kesice su uzete iz fecesa, oprane vodom i osušene na 60°C tokom 24 h. Nesvareni ostatak je izmeren nakon čega je sadržaj svih kesica istog uzorka pomešan i homogenizovan da bi se odredio sadržaj skroba.

4.13. ENZIMSKO ODREĐIVANJE SADRŽAJA SKROBA

Određivanje skroba u okviru *in situ* i *mobile bag* tehnike je sprovedeno po enzimskoj metodi koju su opisali Salomonsson i sar. (1984). Uzorak u duplikatu (0,125 g) je odmeren u 25 ml Pyrex epruvete debelih zidova koje se mogu čvrsto zatvoriti čepom koji je obložen teflonom. U epruvetu je dodato 9,8 ml acetatnog pufera (0,1 M) i 0,1 ml termostabilne α -amilaze (EC 3.2.1.1, Termamyl 120 L, Novo A/S, Bagsvaerd, Danska, 132 KNU/g). Epruvete su zatim stavljene u vodeno kupatilo na 100°C tokom 30 minuta. Nakon isteka vremena sadržaj u epruveti je promućkan i ponovo postavljen 30 minuta u ključalo vodeno kupatilo. Nakon uklanjanja iz vodenog kupatila, epruvete su ostavljene da se ohlade do oko 40°C nakon čega je dodato 0,1 ml amiloglukozidaze poreklom iz *Aspergillus niger* (EC 3.2.1.3, Sigma A-3514). Epruvete su potom postavljene na 60°C u vodeno kupatilo tokom narednih 16 h uz konstantno mešanje. Nakon dodatka 50 ml 0,1 M acetatnog pufera, sadržaj iz epruvete je prebačen u plastičnu posudu sa čepom i centrifugiran na 3000 o/min na 5°C tokom 10 min. 20 μl supernatanta je zatim odmereno u kivetu u 3 paralele. Dodato je 2 ml glucose liquid 1000 (Biolatest, Lachema) i nakon 40 min na sobnoj temperaturi

apsorbanca je očitana na 546 nm. Uzorci su analizirani u triplikatu uključujući i slepu probu.

4.14. ODREĐIVANJE SVARLJIVOSTI ORGANSKE MATERIJE

Svarljivost organske materije (SOM) je određena *in vitro* multi-enzimskom metodom koju su razvili Weisberg i Hvelplund (1993), a koju je 2005 godine modifikovao Hansen-Moller. Metoda je morala da se modifikuje zato što su dva enzima koja su prvobitno korišćena (Gamanase i Novozym 188) prestala da se proizvode. Komercijalni enzim odabran kao zamena je bio Novozym 51054 (Novozym, Danska). S obzirom da se Novozym 51054 takođe više ne proizvodi bilo je neophodno da se zameni alternativnim enzimom. U istraživanju Kokić i sar. (2013) izvršena je modifikacija postojeće metode, odnosno zamena enzima Novozym 51054 sa mananazom komercijalnog imena FFE-2010-00167. Prethodnom analizom određena je optimalna količina novog enzima od 8,5 ml za pripremu jednog litra enzimsko-acetatnog pufera. Da bi se potvrdila podobnost novog enzima mananaze za procenu SOM analizirano je 10 različitih uzoraka koji se koriste u ishrani preživara u 10 ponavljanja sa starim i novim enzimom. Analizirani su ječam, suncokretova sačma, slama, kukuruz, pšenične mekinje, sirak, sojina sačma, uljana repica, rezanac šećerne repe i kompletna smeša za preživare. Statističkom analizom dobijenih vrednosti SOM primenom starog i novog enzima nije utvrđena statistički značajna razlika u rezultatima što je omogućilo upotrebu novog enzima mananaze u budućim istraživanjima.

Postupak analize SOM termički tretiranih uzoraka iz oglada 1 i 2 izveden je po postupku opisanom u radu Kokić i sar. (2013). Odmereno je 0,25 g uzorka sa preciznošću od 1 mg u 30-ml filter guč poroznosti 1 i

dodato je 15 ml pepsin-hlorovodoničnog rastvora (2 g pepsina (Orthana, 1:10000 N.F.), 100 ml 1N hlorovodonične kiseline, dopunjeno do 1000 ml destilovanom vodom). Nakon zatvaranja gučeva uzorci su inkubirani 24 h na $40\pm 1^\circ\text{C}$. Po isteku ovog perioda uzorci su inkubirani na $80\pm 2^\circ\text{C}$ tokom 45 min, a zatim je sadržaj guča filtriran i ispran sa cca 2 x 100 ml ključale destilovane vode. Nakon dodatka 15 ml enzimsko-acetatnog pufera (8,16 g $\text{CH}_3\text{COONa} \times 3 \text{H}_2\text{O}$, 7,5 ml 30% w/w sirćetne kiseline u 1000 ml destilovane vode; 20 ml Celluclast 1,5 L (Novozymes, aktivnost 798 EGU g^{-1}), 10 ml Viscozym L (Novozymes, aktivnost 120 FBG ml^{-1}), 2,135 g amiloglukozidaze (Megazyme, aktivnost 3260 U ml^{-1}), 8,5 ml Mannanase (Novozymes, FFE-2010-00167), 0,1 g hloramfenikola u 1000 ml acetatnog pufera) uzorci su najpre inkubirani 24 sata na $40\pm 1^\circ\text{C}$, a zatim 19 sati na $60\pm 2^\circ\text{C}$. Po isteku ovog vremena sadržaj guča je filtriran i ispran sa cca 2 x 100 ml ključale destilovane vode i 2 x 20 ml acetona. Gučeve sa zaostalim sadržajem su osušeni na 103°C do konstantne mase. Nakon hlađenja, gučevi su izmereni sa preciznošću od 1 mg, a zatim žareni na $475\text{-}500^\circ\text{C}$ do konstantne mase. U postupak je uključena slepa proba. Za izračunavanje SOM je određen sadržaj sirovog pepela uzorka žarenjem na 500°C .

Sadržaj organske materije (OM%) je izračunat na osnovu formule:

$$OM = 100 - \text{sirovi pepeo} (\%) \quad (8)$$

Nesvarljivi deo organske materije (%) je izračunat na osnovu formule:

$$\text{Nesvarljiva OM} = \frac{b-c}{a} \times 100 \quad (9)$$

a – masa uzorka odmerenog za analizu;

b – gubitak u masi nakon žarenja guča sa ostacima ispitivanog uzorka

c – gubitak u masi nakon žarenja guča sa ostacima slepe probe

Svarljivost organske materije je izračunata na osnovu formule:

$$\text{svarljivost OM} = \frac{\text{OM} - \text{nesvarljiva OM}}{\text{OM}} \times 100 \quad (10)$$

4.15. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Korišćenjem deskriptivne statistike, rezultati eksperimentalnih merenja prikazani su srednjim vrednostima i standardnim devijacijama (SD) za svaki posmatrani tretman. Statistička značajnost srednjih vrednosti određivana je korišćenjem post hoc Tukey-evog HSD (*engl. "honestly significant differences"*) testa.

U ovom istraživanju, primenjena je klasterska analiza (CA, *engl. cluster analysis*) da bi se razdvojili uzorci po grupama, na osnovu razlika u fizičko-hemijskim karakteristikama i svarljivosti. Eksperimentalni podaci za svaki od uzoraka su poslužili kao koordinatne vrednosti za svaki od uzoraka u faktorskom prostoru, a na osnovu njihovog položaja i geometrijskih odnosa nacrtana su dva dendograma. U okviru eksperimenta 1, za uzorke NK, PK, FK, MK1, MK2, MK3, EK1, EK2, EK3 i EK4 i za promenljive T_o , T_p , T_e , SŽ, WAI, WSI, T_g , PV, MV, FV i SOM nacrtan je prvi dendogram. U okviru eksperimenta 2, za uzorke NS, PS, FS, MS1, MS2, MS3, ES1, ES2 i ES3 i za promenljive T_o , T_p , T_e , SŽ, WAI, WSI, T_g , PV, MV, FV, a_{SM} , c_{SM} , EfRSM, a_{SK} , c_{SK} , EfRSK i SOM nacrtan je drugi dendogram. U ovim istraživanjima su računata ukupne povezanosti tačaka (*engl. complete linkage*), a rastojanja su merena korišćenjem City-block (Manhattan) algoritma.

PCA analiza (*engl. Principal Component Analysis*) je primenjena da se klasifikuju i odvoje različiti uzorci u faktorskoj ravni (na osnovu merenih vrednosti). Primenjena je tehnika prepoznavanja sličnosti na

osnovu eksperimentalnih vrednosti da bi se izvršilo odvajanje posmatranih uzoraka.

Izračunavanje CA i PCA analiza izvršeno je korišćenjem softverskog paketa Statistica version 12 (StatSoft Inc. 2012, USA)®.

Poglavlje 5

Rezultati i diskusija

Primenjenim termičkim tretmanima prethodilo je ispitivanje hemijskog sastava kukuruza i potpune smeše za krave muzare na bazi kukuruza (tabela 7).

Tabela 7. Hemijski sastav kukuruza i potpune smeše na bazi kukuruza za krave muzare

	Kukuruz	Potpuna smeša za krave muzare preko 20 L/dan mleka
Vlaga (%)	10,96	9,94
Skrob (% SM)	75,63	49,15
Protein (% SM)	8,84	18,08
Celuloza (% SM)	3,04	4,03
Pepeo (% SM)	1,12	6,10

Kukuruz je žitarica važna u ishrani životinja zbog visokog sadržaja skroba koji je u ovom ogledu iznosio 75,63%. Dobijene vrednosti sadržaja proteina, celuloze i pepela u kukuruzu su u skladu sa rezultatima drugih autora (Herrera-Saldana i sar., 1990; Bekrić, 1997; Anguita i sar., 2006; Žilić i sar., 2007; Radosavljević i Milašinović, 2008; Radosavljević i sar., 2009; Čolović, 2013; Dokić, 2013; Kljak i sar., 2015;

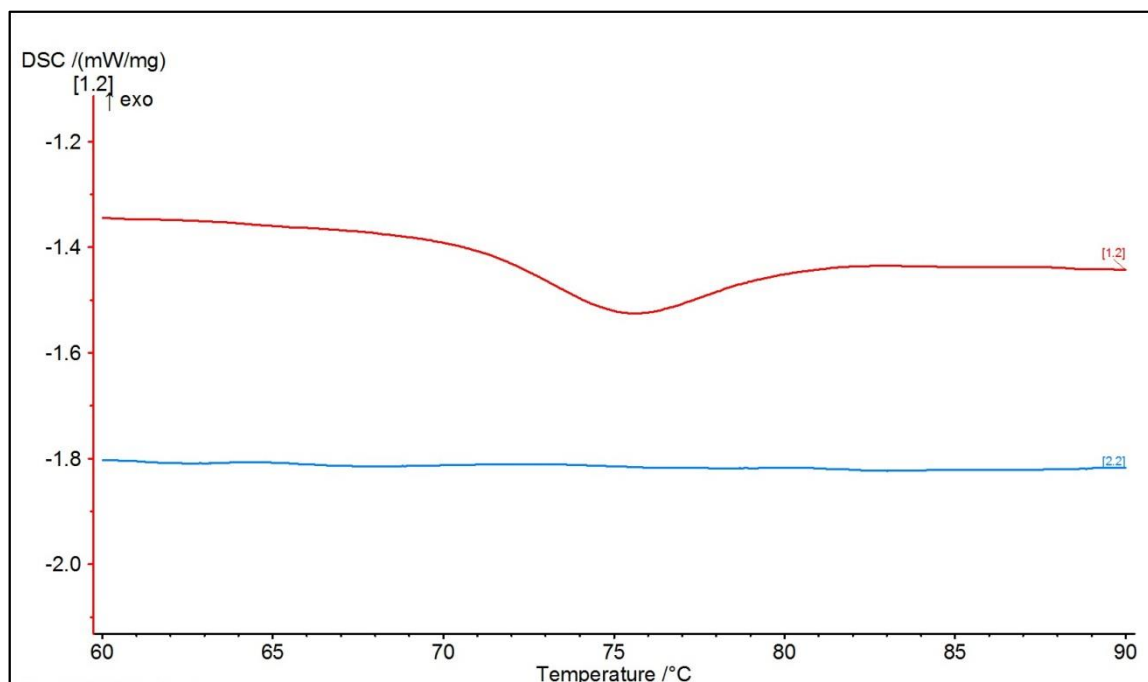
Hao i sar., 2016). U okviru studije Huntington (1997) utvrđeno je da sadržaj skroba u kukuruзу iznosi u proseku 72%, a koeficijent varijacije je najmanji u poređenju sa ostalim žitaricama i iznosi 2,4%. Sadržaj skroba datog zrna, kao i koncentracije drugih hranljivih materija, varira u zavisnosti od sorte, uslova gajenja i agronomske prakse (Philippeau i Michalet-Doreau, 1997; Voća i sar., 2007).

Potpuna smeša za krave muzare preko 20L/dan mleka je napravljena po recepturi prikazanoj u poglavlju 4 (tabela 2). Pored kukuruza, koji je bio zastupljen u najvećem procentu, u sastav smeše su ušle i suncokretova sačma, sojina sačma, kreda, monokalcijum fosfat, stočna so i premiks. Dobijene vrednosti sadržaja vlage, proteina, celuloze i pepela (tabela 7) su u skladu sa članom 52 i 105 Pravilnika o kvalitetu hrane za životinje („Sl. Glasnik RS“, br. 4/2010, 113/2012, 27/2014, 25/2015 i 39/2016). Vrednost sadržaja skroba nije propisana pomenutim pravilnikom, a u analiziranoj smeši skrob je bio zastupljen sa 49,15%. U kompletnoj smeši ispitivanoj u eksperimentu 2 ove disertacije kukuruz je bio zastupljen u najvećem procentu, a obzirom da suncokretova i sojina sačma ne sadrže skrob (Sauvant i sar., 2004), možemo smatrati da sav skrob u smeši potiče od kukuruza.

5.1. UTICAJ TERMIČKIH TRETMANA NA STEPEN ŽELATINIZACIJE SKROBA KUKURUZA I SMEŠE NA BAZI KUKURUZA

Obzirom da je želatinizacija skroba endotermni proces, diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC), koja meri temperaturu i entalpiju želatinizacije, se veoma često koristi za praćenje ovog procesa. Na slici 12 su prikazani DSC termogrami samlevenog netretiranog i termički tretiranog kukuruza, a u tabeli 8 su prikazane očitane vrednosti sa dobijenih termograma. Endotermni pik prikazuje želatinizaciju

skroba. Površina između osnovne linije i termograma predstavlja entalpiju želatinizacije koja je ukupna mera kristalnosti (kvaliteta i kvantiteta) i pokazatelj je gubitka molekulske uređenosti unutar granule (Singh i sar., 2003).



Slika 12. DSC termogram netretiranog uzorka NK (crvena linija) i ekstrudirano uzorka EK2 (plava linija) kukuruza

Najveća entalpija želatinizacije (ΔH) je određena za netretirani uzorak kukuruza, i najmanji temperaturni raspon (ΔT) koji je iznosio $8,4^{\circ}\text{C}$. Dobijena vrednost ΔH kukuruza je u skladu sa rezultatima Bello-Perez i Paredes-López (2009). Nakon primenjenih termičkih tretmana došlo je do želatinizacije dela skroba, zbog čega je u svim uzorcima kukuruza zabeleženo smanjenje ΔH u odnosu na netretirani uzorak, što potvrđuje gubitak molekulske uređenosti skrobne granule. Takođe, u pojedinim uzorcima je zabeležena potpuna želatinizacija skroba i to na osnovu odsustva endoterme želatinizacije (plava linija prikazana na slici 12).

Tabela 8. Karakteristike želatinizacije netretiranog i termički tretiranog kukuruza

	T_0 (°C)	T_p (°C)	T_e (°C)	ΔH (J/g)	SŽ (%)
NK	71,0	75,6	79,4	4,30	0
PK	67,1	75,0	79,4	2,77	35,64
FK	66,9	73,4	78,8	2,47	42,51
MK1	68,2	75,8	79,1	3,17	26,20
MK2	68,7	75,7	80,3	2,08	51,74
MK3	69,9	76,1	80,1	1,53	64,32
EK1	70,7	75,7	81,5	1,35	68,62
EK2	/†	/	/	/	100
EK3	/	/	/	/	100
EK4	70,2	76,1	81,2	0,90	79,11

NK - netretiran kukuruz; **PK** - peletiran kukuruz; **FK** - parno flekičan kukuruz; **MK1-MK3** - mikroniziran kukuruz; **EK1-EK4** - ekstrudiran kukuruz

T_0 – početna temperatura, T_p – temperatura pika, T_e – završna temperatura, ΔH – entalpija želatinizacije, SŽ – stepen želatinizacije

† - odsustvo krive zbog potpune želatinizacije skroba

Analizom rezultata DSC analize prikazanim u tabeli 8 utvrđeno je da su svi primenjeni termički tretmani u manjoj meri uticali na promenu T_p i T_e , dok je uticaj na T_0 i ΔH bio znatno izraženiji. Najveća vrednost T_0 je određena u uzorku NK. Altay i Gunasekaran (2006) navode da je T_0 mera kristaličnosti u svim prisutnim skrobnim granulama. Stoga, niže vrednosti T_0 određene u uzorcima kukuruza koji su bili termički tretirani ukazuju na narušavanje kristalne strukture granula skroba. Takođe, smanjenje T_0 je dovelo do povećanja ΔT pri kome dolazi do želatinizacije preostalih granula skroba. Povećanje ΔT ukazuje na veću nehomogenost skrobnih granula, do koje dolazi zato što su u termički tretiranim uzorcima pojedine granule potpuno želatinizirale, neke samo delimično,

dok je jedan deo granula ostao nepromenjen. Dobijene vrednosti za T_p su u skladu sa rezultatima Moritz i sar. (2005).

Stepen želatinizacije termički tretiranih uzoraka određen je na osnovu promene vrednosti ΔH u odnosu na netretirani uzorak (tabela 8). Nakon termičkih tretmana kukuruza došlo je do delimične i potpune želatinizacije skroba i to u rasponu od 26,20 do 100%. Dobijeni rezultati za SŽ termički tretiranog kukuruza su u skladu sa dostupnim literaturnim podacima (Medel i sar., 1999; Medel i sar., 2004; Moritz i sar., 2005; Qiao i sar., 2015). U istraživanju Moritz i sar. (2005) SŽ peletiranog i ekstrudiranog kukuruza je iznosio 29 i 92%, respektivno. Visok SŽ skroba kukuruza nakon ekstrudiranja u iznosu od 76% su takođe zabeležili Medel i sar. (1999). U istom istraživanju zrno kukuruza je natapano tokom 24h do postizanja vlage od 17,5% da bi nakon toga bilo mikronizirano. Maksimalna temperatura od 70,7°C je izmerena u poslednjem delu mikronizera, a određen je SŽ u iznosu od 27%. Medel i sar. (2004) su utvrdili da je 50% skroba želatiniziralo u zrnu kukuruza koje je kondicionirano tokom 50 minuta na 99°C a nakon toga flekičano prolaskom između valjaka. Ovakav nalaz je potvrđen i u istraživanju Qiao i sar. (2015).

Želatinizacija zavisi od prisustva vode. Svihus i sar. (2004) navode da kada je sadržaj vode u višku većina skrobova će želatinizirati na temperaturi između 50 i 70°C, ali sa ograničenim sadržajem vode (ispod približno 40%) temperatura želatinizacije će se povećati i biti obrnuto srazmerna sadržaju vode. Jedini uzorak koji nije bio kondicioniran pre termičkog tretmana je uzorak MK1 pa je u njemu očekivano određen najmanji SŽ (26,20%), uprkos visokoj temperaturi od 125°C koja je izmerena u poslednjem segmentu mikronizera. Kondicioniranje zrna je uticalo na značajno povećanje SŽ uzoraka MK2 i MK3 koji su mikronizirani pri temperaturi od 111 i 125°C, respektivno, kod kojih je određen SŽ u iznosu od 51,74 i 64,32%, respektivno. U istraživanju

Medel i sar. (1999) zabeležena je niska temperatura u poslednjem segmentu mikronizera (70,7°C) što je uticalo na znatno niži SŽ skroba kukuruza u iznosu od 27% u poređenju sa rezultatima iz ove teze.

Tokom tretmana parnog flekičenja zrno kukuruza je kondicionirano 30 minuta, a dostignuta je temperatura od 85°C. Pri datim uslovima parnog flekičenja u uzorku FK je određen neznatno niži SŽ u odnosu na istraživanja sprovedena od strane Medel i sar. (2004) (42,51 naspram 50%) što je najverovatnije posledica kraćeg vremena kondicioniranja zrna, a samim tim i niže dostignute temperature. Umeren SŽ u iznosu od 35,64% je zabeležen u uzorku PK pri temperaturi peletiranja od 61°C. Svihus i Zimonja (2011) su objavili da je nizak SŽ, koji najčešće varira u rasponu od 5 do 30%, posledica ograničenog sadržaja vlage i umerene temperature tokom peletiranja.

Tretman ekstrudiranja se pokazao kao najefikasniji u narušavanju strukture skrobne granule, pa je jedino nakon ovog tretmana, pri određenim parametrima procesa, postignuta potpuna želatinizacija skroba. Tokom ekstrudiranja SŽ u velikoj meri zavisi od zadatih uslova, pa tako Svihus i sar. (2005) navode da je podešavanjem uslova moguće postići želatinizaciju svega 40% skroba. U uzorcima EK1 i EK4 želatiniziralo je 68,62 i 79,11% skroba što je u skladu sa literaturnim podacima (Medel i sar., 1999; Moritz i sar., 2005). Potpuna želatinizacija je određena u uzorcima EK2 i EK3 i posledica je većih sila smicanja i dužeg vremena zadržavanja materijala unutar cevi ekstrudera pri zadatim uslovima ekstrudiranja (Hajnal i sar., 2016).

Karakteristike želatinizacije netretirane i termički tretirane smeše na bazi kukuruza su prikazane u Tabeli 9. Najveća ΔH je određena za netretirani uzorak smeše i najmanji ΔT u iznosu od 9,7°C. Do smanjenja ΔH smeše u poređenju sa ΔH kukuruza je došlo zbog smanjenja udela skroba u analiziranom uzorku (sadržaj skroba u smeši je bio za oko 25%

manji nego u kukuružu). Kao i u slučaju dobijenih rezultata za uzorke kukuruža, tako je i nakon termičkih tretmana smeša iznos smanjenja ΔH zavisio od izbora tretmana i zadatih uslova.

Tabela 9. Karakteristike želatinizacije netretirane i termički tretirane smeše na bazi kukuruža

	T_0 (°C)	T_p (°C)	T_e (°C)	ΔH (J/g)	SŽ (%)
NS	71,7	77,1	81,4	3,28	0
PS	69,7	76,8	81,9	1,62	50,42
FS	69,8	76,3	82,8	1,85	43,67
MS1	68,9	77,5	81,5	2,14	34,65
MS2	71,1	78,1	84,4	1,85	43,50
MS3	70,8	78,5	81,9	1,50	54,12
ES1	71,5	76,9	82,7	1,43	56,50
ES2	/†	/	/	/	100
ES3	71,0	78,1	83,5	1,13	65,48

NS - netretirana smeša; **PS** - peletirana smeša; **FS** - parno flekičan kukuruz + peleta bez kukuruža; **MS1-MS3** - mikroniziran kukuruz + peleta bez kukuruža; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

T_0 – početna temperatura, T_p – temperatura pika, T_e – završna temperatura, ΔH – entalpija želatinizacije, SŽ – stepen želatinizacije

† - odsustvo krive zbog potpune želatinizacije skroba

Peletiranje smeše na 75°C je dovelo do želatinizacije oko 15% više skroba u poređenju sa uzorkom PK, što se može objasniti višom temperaturom peletiranja smeše. U uzorcima ekstrudiranih smeša SŽ skroba je, kao i kod uzoraka kukuruža, zavisio od uslova ekstrudiranja. Kraće vreme zadržavanja materijala u cevi ekstrudera i manje sile smicanja su dovele do želatinizacije 56,50% skroba u uzorku ES1 i 65,48% u uzorku ES3, dok je u uzorku ES2 sav skrob želatinizirao pri datim uslovima ekstrudiranja. Dobijene vrednosti SŽ peletirane i

ekstrudiranih smeša su u skladu sa literaturnim podacima. Gidley i sar. (2010) su sprovedli studiju u okviru koje su peletirali 32 smeše na bazi različitih žitarica i sorti. Najmanji SŽ od 14% je imala smeša na bazi tritikalea, dok je najveći SŽ u iznosu od 68% zabeležen za smešu na bazi sirka. Nasuprot tome, u istraživanjima Svihus i sar. (2004) u peletiranoj smeši za brojlere (u kojoj je pšenica bila zastupljena sa 57,32% a vlaga kondicionirane smeše 14,4%), određen je SŽ od samo 1% pa do maksimalno 19%, pri temperaturi od oko 80°C. Autori su zaključili da je nizak sadržaj vlage glavni uzrok niskog SŽ u peletiranoj hrani. U peletiranoj i ekstrudiranoj smeši za brojlere (na bazi ovsa) zabeležen je SŽ u iznosu od 29 i 91%, respektivno (Zimonja i Svihus, 2009). Solanas i sar. (2005) su odredili SŽ u iznosu od 52 i 66% u ekstrudiranim smešama za ishranu teladi i goveda koje su sadržale kukuruz i ječam.

Uzorci FS, MS1, MS2 i MS3 su formirani tako što je parno flekičan odnosno mikroniziran kukuruz pomešan sa peletiranim ostatkom smeše koji nije sadržao kukuruz. Stoga, SŽ navedenih smeša bi trebao da bude na istom nivou kao u uzorcima FK, MK1, MK2 i MK3, respektivno. DSC analizom određen je isti SŽ za uzorke FK i FS, dok su se rezultati za mikronizirani kukuruz i smeše u čijem sastavu se on nalazio razlikovali. Dobijene razlike se mogu objasniti veoma malom odvagom uzorka koja je korišćena za DSC analizu (svega 4 mg), zbog koje postoji mogućnost greške, pogotovo kada se analiziraju uzorci koji su nehomogeni, kao što su smeše hrane za životinje. Pregledom dostupne literature ustanovljeno je da se DSC analiza najčešće koristi u analizi izolovanih skrobova i pojedinačnih žitarica (Holm i sar., 1988; Lai i Kokini, 1991; Moritz i sar., 2005; Ozcan i Jackson, 2005; Altay i Gunasekaran, 2006; Loisel i sar., 2006; Ratnayake i Jackson, 2006; Zarguili i sar., 2006; Hristov i sar., 2007; White i sar., 2008b; Aparicio i sar., 2009; Herceg i sar., 2010; Mahasukhonthachat i sar., 2010; Menegassi i sar., 2011; Zeng i sar., 2011). U istraživanjima u kojima se izvode *in vivo* ogledi na monogastričnim životinjama ili preživarima, prethodno se analizira

žitarica koja se koristi za pravljenje kompletnih smeša, koje se potom upotrebljavaju u ishrani životinja a pritom se dodatno ne analiziraju. Navedeni postupak je moguć samo kod tretmana kao što su mikronizacija i parno flekičenje gde se tretira zrno a ne kompletna smeša. U slučaju peletiranja i ekstrudiranja analizu je neophodno izvesti na kompletnoj smeši, pa se tako za procenu SŽ i u ovom slučaju koristi DSC analiza (Zimonja i Svihus, 2009), u kombinaciji sa RVA (Svihus i sar., 2004) ili enzimska metoda (Solanas i sar., 2005). Pregledom dostupne literature nije pronađena nijedna studija u kojoj se porede rezultati SŽ skroba pojedinačne žitarice i smeše na bazi analizirane žitarice kako bi se utvrdile potencijalne greške primenjene metode i mogući razlozi pojave istih. Takođe, važno je naglasiti da je u DSC analizi Svihus i sar. (2004) i Zimonja i Svihus (2009) odvaga analizirane smeše bila čak 30 puta veća od odvage koja je upotrebljena u ovom istraživanju, i iznosila je između 120 i 130 mg što je verovatno bilo omogućeno drugim proizvođačem DSC uređaja i posudica za analizu. Na osnovu svega iznesenog, može se zaključiti da bi u budućim istraživanjima trebalo utvrditi koja od brojnih metoda za procenu SŽ skroba je najpogodnija za analizu smeša hrane za životinje, kako bi pouzdanost dobijenih rezultata bila što veća.

Sumiranjem rezultata DSC analize uzoraka kukuruza i smeša utvrđeno je da termički tretmani dovode do narušavanja kristalne strukture granula skroba odnosno do želatinizacije. U kojoj meri će doći do želatinizacije skroba zavisi od izbora tretmana i od uslova odnosno od intenziteta tretmana. Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da su parno flekičenje, mikronizacija i peletiranje blagi tretmani, dok je ekstrudiranje oštriji tretman koji dovodi do potpunije želatinizacije skroba.

5.2. UTICAJ TERMIČKIH TRETMANA NA INDEKS APSORPCIJE VODE (WAI) I INDEKS RASTVORLJIVOSTI U VODI (WSI) KUKURUZA I SMEŠE NA BAZI KUKURUZA

Indeks apsorpcije vode (WAI) je fizičko-hemijski parametar koji ukazuje na hidrolitičku razgradnju skroba i na karakteristike bubrenja skrobne komponente (Al-Rabadi i sar., 2011). Prisustvo neskrobnih komponenata (kao što su vlakna) takođe mogu da utiču na WAI. Dogan i Karwe (2003) navode da WAI zavisi od dostupnosti hidrofilnih grupa i od kapaciteta makromolekula da formiraju gel. Pokazatelj je oštećenja skroba, denaturacije proteina i formiranja novih makromolekularnih kompleksa. Fernández-Gutiérrez i sar. (2004) navode da tokom termičkog tretmana do smanjenja rastvorljivosti proteina dolazi zbog procesa denaturacije što dovodi do strukturnih promena koje omogućavaju hidrofilnim grupama kao što su -OH, -NH₂, -COOH i -SH da se povežu sa skrobom.

U tabeli 10 prikazan je WAI i WSI uzoraka netretiranog i termički tretiranog kukuruza. Dobijene vrednosti za netretirani kukuruz su u skladu sa rezultatima White i sar. (2008a). Analizom dobijenih vrednosti za WAI uočene su statistički značajne razlike između uzoraka ($p < 0,05$). Najmanji WAI je određen u uzorku NK u kojem se skrob nalazio u nativnim obliku. Hosney (1984) navodi da kristalnost skroba ograničava njegovo bubrenje pa samim tim i količinu vode koju može da apsorbuje. Prilikom želatinizacije dolazi do gubitka kristalnosti, zbog čega granule mogu slobodno da bubre i da apsorbuju mnogo više vode, što je i potvrđeno povećanjem WAI svih termički tretiranih uzoraka. Peletiranje, parno flekičenje i mikronizacija kukuruza su doveli do umerenog povećanja WAI i to u približnoj istoj meri. Nakon ekstrudiranja zabeležene su najveće vrednosti WAI što ukazuje na veći stepen oštećenja granula skroba.

Tabela 10. WAI i WSI netretiranog i termički tretiranog kukuruza

	WAI (g/g)	WSI (g/100g)
NK	2,77±0,11 ^{d*}	6,20±0,19 ^{ab}
PK	3,35±0,08 ^a	6,11±0,30 ^{ab}
FK	3,55±0,09 ^{ab}	3,37±0,42 ^e
MK1	3,30±0,12 ^a	5,35±0,73 ^a
MK2	3,86±0,10 ^b	5,91±0,12 ^a
MK3	3,90±0,05 ^b	5,80±0,34 ^a
EK1	6,59±0,24 ^c	9,22±1,02 ^c
EK2	6,59±0,20 ^c	20,89±0,91 ^d
EK3	5,50±0,21 ^e	21,26±0,93 ^d
EK4	7,34±0,16 ^f	7,74±0,27 ^{bc}

NK - netretiran kukuruz; **PK** - peletiran kukuruz; **FK** - parno flekičan kukuruz; **MK1-MK3** - mikroniziran kukuruz; **EK1-EK4** - ekstrudiran kukuruz

Prikazani rezultati su srednja vrednost 3 ponavljanja ± SD

*Različite slovne oznake označavaju statistički značajne razlike, $p < 0,05$

Analizom dobijenih rezultata za WSI uočene su statistički značajne razlike između uzoraka ($p < 0,05$). Peletiranje, parno flekičenje i mikronizacija kukuruza su doveli do smanjenja WSI, međutim jedino je smanjenje izazvano parnim flekičenjem bilo statistički značajno ($p < 0,05$). Povećanje WSI je zabeleženo u svim uzorcima koji su bili ekstrudirani. WSI predstavlja količinu rastvorljivih materija koje se oslobađaju iz granula skroba u vodenu fazu (White i sar., 2008b). Takođe, Dogan i Karwe (2003) navode da WSI obuhvata suprotne efekte odnosno dekstrinizaciju skroba i interakciju između degradiranih komponenti na molekularnom nivou. Osim toga, prema modelu za degradaciju skroba tokom ekstrudiranja koji su predložili Gomez i Aguilera (1984), tri stanja skroba postoje zajedno a to su nativni, želatinizirani i dekstrinizovani. Prema istom modelu, može se smatrati da se dekstrinizacija odvija

zajedno sa ili odmah nakon adekvatne želatinizacije. Mahasukhonthachat i sar. (2010) navode da se očekuje da molekularne i strukturne promene koje prate želatinizaciju skroba povećaju sposobnost vezivanja vode i količinu rastvorljivih materija. Međutim, ukoliko tokom želatinizacije dođe do dekstrinizacije skroba u jedinjenja malih molekulskih masa, WSI će se povećati dok će se WAI smanjiti. Suprotno tome, u odsustvu dekstrinizacije dolazi do povećanja WAI i WSI sa želatinizacijom. Stoga, zbog velikog povećanja vrednosti WSI u uzorcima EK2 i EK3 (više od 3 puta u odnosu na uzorak NK, i više od 2 puta u odnosu na uzorke EK1 i EK4), i zbog povećanja WAI u poređenju sa uzorkom NK a smanjenja u poređenju sa uzorcima EK1 i EK4, može se zaključiti da je u uzorcima EK2 i EK3 pri navedenim uslovima ekstrudiranja došlo do potpune želatinizacije skroba (što je potvrđeno DSC analizom) koja je bila praćena dekstrinizacijom. Takođe, na osnovu rezultata DSC analize i malog povećanja WSI uzoraka EK1 i EK4, može se zaključiti da su uslovi tokom ekstrudiranja pomenutih uzoraka bili dovoljni za značajnu želatinizaciju skroba ali nedovoljni da dovedu do dekstrinizacije. Do želatinizacije i dekstrinizacije skroba u uzorcima EK2 i EK3 je došlo zbog većih sila smicanja i dužeg vremena zadržavanja materijala unutar cevi ekstrudera pri zadatim uslovima ekstrudiranja.

Najniža vrednost WSI je određena u uzorku parno flekičanog kukuruza koja je bila skoro 2 puta niža nego u netretiranom uzorku. DSC analizom je utvrđen stepen želatinizacije u iznosu od čak 42,51% za uzorak FK, a smanjenje WSI ukazuje na moguću interakciju degradiranih komponenti (skroba, proteina i lipida) na molekularnom nivou i nastanak jedinjenja sa većom molekulskom masom i smanjenom rastvorljivošću (Altan i sar., 2009). Vrednost WSI u uzorcima koji su bili peletirani i mikronizirani je takođe bila niža u poređenju sa WSI uzorka NK ali bez statističke značajnosti. Na osnovu toga može se pretpostaviti da je u peletiranim i mikroniziranim uzorcima takođe došlo do

interakcije na molekularnom nivou ali u manjoj meri nego tokom parnog flekičenja.

U tabeli 11 prikazan je WAI i WSI netretirane i termički tretirane smeše na bazi kukuruza. Analizom netretirane smeše dobijene vrednosti za WAI i WSI su bile veće u poređenju sa uzorkom netretiranog kukuruza (3,13 naspram 2,77 g/g i 8,89 naspram 6,20 g/100g, respektivno) što je najverovatnije uzrokovano drugim komponentama smeše, koje kao i kukuruz mogu da apsorbuju vodu odnosno da se rastvaraju u njoj. Najniža vrednost WAI smeša, kao i kod analiziranog kukuruza, je određena za netretirani uzorak, dok su svi primenjeni termički tretmani doveli do značajnog povećanja WAI ($p < 0,05$). Umereno povećanje je zabeleženo u uzorcima PS, FS, MS1, MS2 i MS3, dok je nakon ekstrudiranja vrednost WAI bila najveća i to za uzorak u kome je DSC analizom određena potpuna želatinizacija. Al-Rabadi i sar. (2011) navode da promene tokom termičkog tretmana, kao što su denaturacija proteina, bubrenje skroba, bubrenje sirovih vlakana, mogu da doprinesu povećanju WAI. Kao i u slučaju rezultata za kukuruz, tako je i u smešama PS, FS, MS1, MS2 i MS3 došlo do smanjenja WSI u odnosu na netretirani uzorak, ali je iznos smanjenja bio mali i bez statističkog značaja. Nakon ekstrudiranja zabeležen je porast WSI i to najviše u uzorku ES2 u kome je DSC analizom određena želatinizacija skroba u iznosu od 100%.

Poređenjem dobijenih rezultata za kukuruz i smešu prikazanih u tabeli 10 i 11 može se primetiti da vrednosti WAI i WSI smeša generalno prate trend povećanja i smanjenja koji je zabeležen kod uzoraka kukuruza, međutim ne u istoj meri. Moguće objašnjenje je smanjenje udela skroba u analiziranoj smeši (za oko 25% manje nego u kukuruzu), a takođe je moguće da je došlo do dodatnih interakcija u kojima su učestvovalе ostale komponente smeše i na taj način uticale na povećanje odnosno smanjenje WAI i WSI.

Tabela 11. WAI i WSI netretirane i termički tretirane smeše na bazi kukuruza

	WAI (g/g)	WSI (g/100g)
NS	3,13±0,07 ^{d*}	8,89±0,31 ^{abc}
PS	4,41±0,02 ^a	8,58±0,54 ^{abc}
FS	4,16±0,06 ^{bc}	8,04±0,25 ^a
MS1	4,03±0,11 ^b	7,98±0,23 ^a
MS2	4,39±0,07 ^a	7,85±0,21 ^a
MS3	4,25±0,01 ^{ac}	8,49±0,25 ^{ab}
ES1	5,23±0,06 ^e	9,98±0,82 ^{bc}
ES2	6,49±0,08 ^g	13,94±0,88 ^d
ES3	5,60±0,10 ^f	10,10±0,68 ^c

NS - netretirana smeša; **PS** - peletirana smeša; **FS** - parno flekičan kukuruz + peleta bez kukuruza; **MS1-MS3** - mikroniziran kukuruz + peleta bez kukuruza; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

Prikazani rezultati su srednja vrednost 3 ponavljanja ± SD

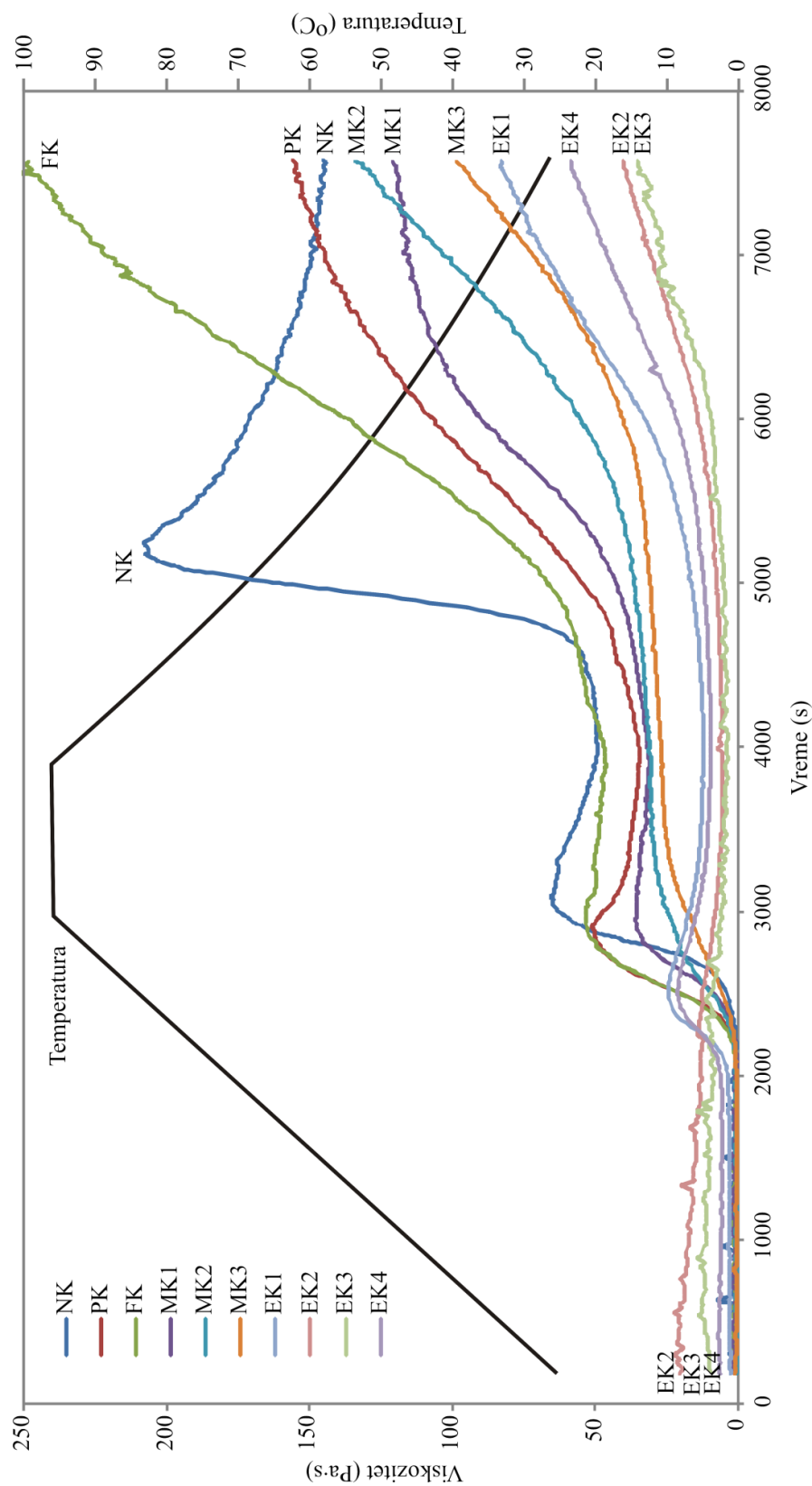
*Različite slovne oznake označavaju statistički značajne razlike, $p < 0,05$

U dostupnoj literaturi WAI i WSI se primenjuju za procenu fizičko-hemijskih promena koje nastaju nakon termičkih tretmana i to najčešće nakon ekstrudiranja, pa je tako povećanje WAI i WSI zabeleženo za uzorke ekstrudiranog kukuruza (Lazou i Krokida, 2010; Zeng i sar., 2011), sirka (Mahasukhonthachat i sar., 2010), ječma (Al-Rabadi i sar., 2011), amarantusa (Menegassi i sar., 2011), kinoe (Dogan i Karwe, 2003) i izolovanih skrobova (kukuruzni, krompirov i skrob tapioke) (Ozcan i Jackson, 2005; Butrim i sar., 2009). U istraživanju White i sar. (2008b) u uzorcima mikronizirane pšenice nije zabeležena promena WAI i WSI u odnosu na netretiranu pšenicu na osnovu čega su autori zaključili da pri relativno niskoj temperaturi mikronizacije i niskoj početnoj vlazi nije došlo do oštećenja granula skroba. Pregledom dostupne literature pronađena je samo jedna studija u kojoj su određeni WAI i WSI različitih

žitarica i smeša u kojima je data žitarica bila zastupljena sa 58,6%. U pomenutoj studiji White i sar. (2008a) su zabeležili smanjenje WAI smeše na bazi kukuruza u poređenju sa uzorkom čistog kukuruza što se može objasniti sastavom smeše koja nije sadržala komponente koje bi mogle da bubre (npr. suncokretova sačma) i na taj način povećaju WAI. Nasuprot tome, smešu su činile komponente rastvorljive u vodi pa je zabeleženo mnogo veće povećanje WSI u poređenju sa rezultatima dobijenim u eksperimentalnom delu ove disertacije. Na osnovu iznetog možemo zaključiti da WAI i WSI smeša u velikoj meri zavise od pojedinačnih komponenata smeše i njihovih osobina odnosno mogućnosti bubrenja i rastvaranja u vodi.

5.3. UTICAJ TERMIČKIH TRETMANA NA KARAKTERISTIKE PASTIRANJA KUKURUZA I SMEŠE NA BAZI KUKURUZA

Krive pastiranja netretiranog i termički tretiranih uzoraka kukuruza su prikazane na slici 13, a u tabeli 12 su prikazane očitane vrednosti sa dobijenih kriva. Termički tretmani su uticali na pojavu značajnih razlika u karakteristikama pastiranja analiziranog kukuruza. Kod svih uzoraka je zabeleženo postepeno povećanje viskoziteta sa povećanjem temperature, osim kod uzoraka EK2 i EK3. Liu (2005) navodi da viskozitet paste ne mogu dati delovi granula ili rastvorene skrobne supstance, već samo netaknute nabubrela granule. Na osnovu toga, odsustvo karakterističnog pika kod uzoraka EK2 i EK3 potvrđuje potpunu želatinizaciju skroba.



NK - netretiran kukuruž; **PK** - peletiran kukuruž; **FK** - parno flekičan kukuruž;
MK1-MK3 - mikroniziran kukuruž; **EK1-EK4** - ekstrudiran kukuruž

Slika 13. Krive pastiranja kukuruža pre i posle termičkih tretmana

Tabela 12. Karakteristike pastiranja netretiranog i termički tretiranog kukuruza

	Početni viskozitet (Pa·s)	Maksimalni viskozitet (Pa·s) na 95°C	Finalni viskozitet (Pa·s)	Temperatura želatinizacije (°C)
NK	1,07 ^a	68,06 ^h	149,80 ^g	77,72 ^h
PK	0,42 ^a	50,03 ^f	157,29 ^h	72,83 ^f
FK	0,77 ^a	53,46 ^g	248,60 ⁱ	73,57 ^b
MK1	0,80 ^a	35,03 ^e	119,02 ^e	75,09 ^g
MK2	0,49 ^a	30,41 ^d	130,55 ^f	72,14 ^e
MK3	0,43 ^a	25,76 ^b	97,57 ^d	73,58 ^b
EK1	2,71 ^b	24,17 ^b	82,95 ^c	65,14 ^c
EK2	19,90 ^e	/†	39,61 ^a	/
EK3	12,16 ^d	/	34,50 ^a	/
EK4	5,71 ^c	20,83 ^c	58,28 ^b	71,28 ^d

NK - netretiran kukuruz; **PK** - peletiran kukuruz; **FK** - parno flekičan kukuruz; **MK1-MK3** - mikroniziran kukuruz; **EK1-EK4** - ekstrudiran kukuruz

† - odsustvo pika zbog potpune želatinizacije skroba

*Različite slovne oznake označavaju statistički značajne razlike, $p < 0,05$

Takođe, svi uzorci kukuruza koji su bili ekstrudirani su imali značajno veći početni viskozitet u poređenju sa netretiranim kukuruzom ($p < 0,05$), a sa povećanjem stepena želatinizacije nakon ekstrudiranja došlo je i do povećanja početnog viskoziteta. Zabeleženo povećanje početnog viskoziteta pri niskoj temperaturi je posledica veće količine prisutnih rastvorljivih materija nastalih termičkom razgradnjom skroba, kao što su dekstrinski fragmenti, što je u skladu sa dobijenim rezultatima za WSI. Dobijeni rezultati za tretman ekstrudiranja su potvrđeni za kukuruz (Souza i sar., 2011; Zeng i sar., 2011), kukuruzni skrob (Ozcan i Jackson, 2005), amarantus (Menegassi i sar., 2011) i sirak (Mahasukhonthachat i sar., 2010). Osim za ekstrudirane uzorke,

kod ostalih termički tretiranih uzoraka dobijeni rezultati za početni viskozitet su takođe u skladu sa WSI, pa je tako kod uzoraka PK, FK, MK1, MK2 i MK3 u kojima je zabeleženo smanjenje WSI došlo do smanjenja i početnog viskoziteta. Izuzev uzoraka EK2 i EK3, kod svih ostalih uzoraka je došlo do povećanja viskoziteta sa zagrevanjem suspenzije što potvrđuje da je u tim uzorcima deo skroba ostao neželatiniziran nakon termičkog tretmana.

Za uzorak netretiranog kukuruza je zabeležena najveća vrednost maksimalnog viskoziteta, takođe i temperatura želatinizacije. Pad viskoziteta tokom održavanja uzorka na visokoj temperaturi (u ovom slučaju na 95°C) je posledica pucanja skrobnih granula nakon čega dolazi do linearnog usmeravanja polimera što smanjuje viskozitet paste, a navedeno je zabeleženo za uzorak netretiranog kukuruza (NK), takođe za uzorak kukuruza koji je bio peletiran (PK) i za dva ekstrudirana uzorka (EK1 i EK4). Nasuprot tome, u uzorcima koji su bili parno flekičani i mikronizirani utvrđen je porast viskoziteta kada se uzorak održava na visokoj temperaturi za koje *Gidley i sar. (2010)* i *Mahasukhonthachat i sar. (2010)* navode da je povezano sa ograničenim i nepotpunim bubrenjem skroba tokom faze zagrevanja zbog veza koje postoje između skroba i proteina. Dobijeni rezultati podržavaju pretpostavke zasnovane na analizi WSI, odnosno da je nakon parnog flekičenja i mikronizacije došlo do interakcije degradiranih komponenti i to skroba i proteina. Takođe, *White i sar. (2008b)* navode da tokom mikronizacije postoji mogućnost pokretljivosti lanaca amilopektina što dovodi do veće krutosti amorfnih regiona, a što bi moglo da utiče na karakteristike bubrenja skrobnih granula pa samim tim i na krivu pastiranja.

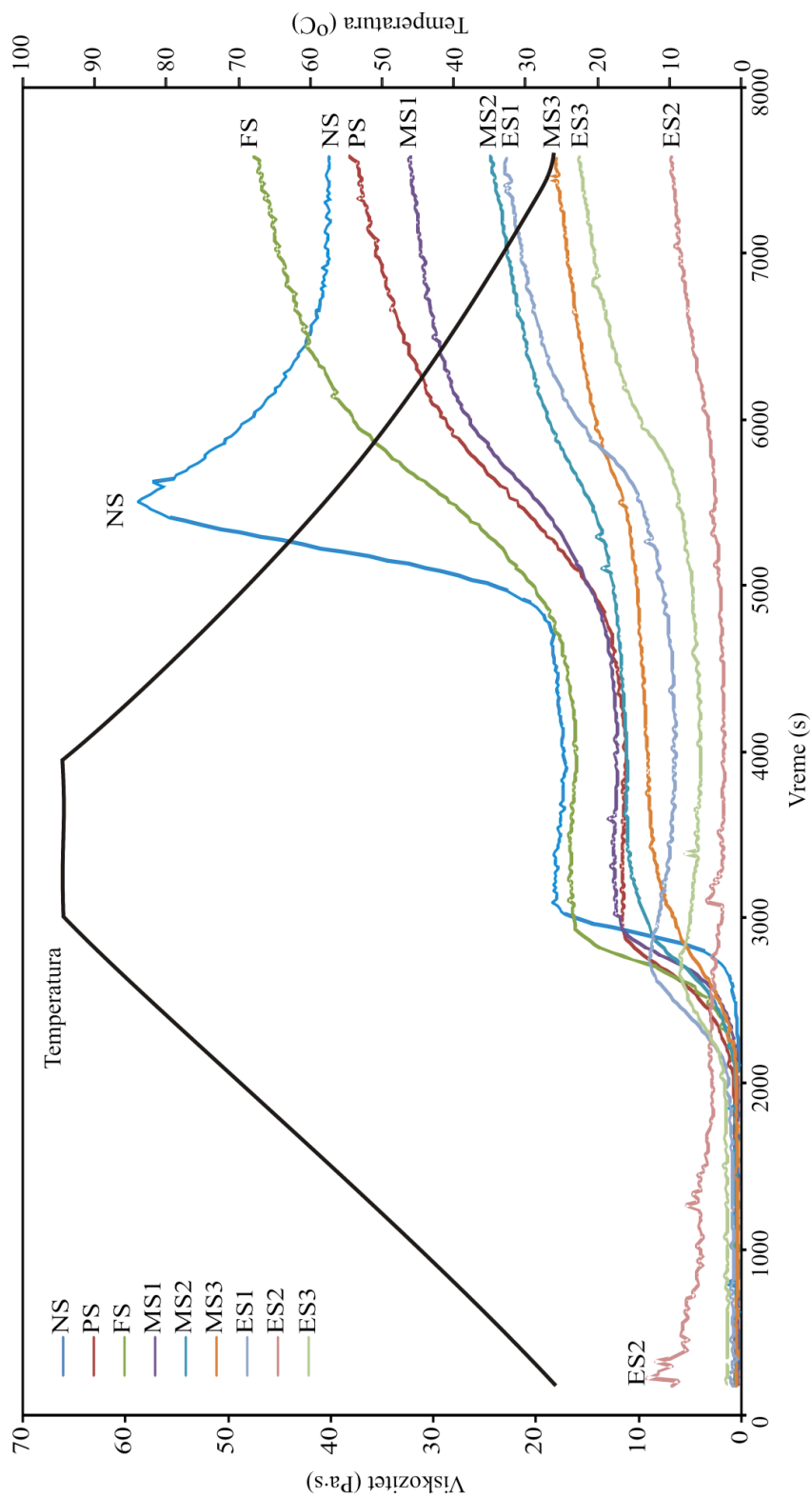
Nakon primenjenih termičkih tretmana došlo je do smanjenja vrednosti maksimalnog viskoziteta (na 95°C) kod svih analiziranih uzoraka u poređenju sa netretiranim uzorkom, što je posledica delimične

želatinizacije skroba tokom termičkog tretmana odnosno smanjenja broja granula čijim bubrenjem dolazi do povećanja viskoziteta paste. Smanjenje maksimalnog viskoziteta 8 sorti parno flekičanog sirka u poređenju sa netretiranim je zabeleženo u istraživanju Smith (1995) primenom RVA. Isti nalaz je zabeležen primenom Brabender amilografa u istraživanju McNeill i sar. (1975) za parno flekičani i mikronizirani sirak. Takođe, nakon termičkog tretmana i oštećenja granula skroba, one su postale manje otporne prema bubrenju što je ustanovljeno na osnovu smanjenja temperature želatinizacije (Sandhu i Singh, 2007). U uzorcima EK1 i EK4 je određena najmanja vrednost maksimalnog viskoziteta i temperature želatinizacije pa je na taj način potvrđena efikasnost ekstrudiranja u poređenju sa ostalim termičkim tretmanima. Analizom dobijenih kriva pastiranja, osim smanjenja temperature želatinizacije, može se zapaziti i smanjenje nagiba krive od trenutka povećanja viskoziteta pa do postizanja maksimalnog viskoziteta. Uočeno smanjenje nagiba kod svih termički tretiranih uzoraka je posledica nehomogenosti odnosno različitog stepena oštećenja pojedinačnih granula nakon primenjenog tretmana. Kod uzorka NK do povećanja viskoziteta je došlo u najkraćem vremenskom intervalu i na najvišoj temperaturi zbog nativnih granula skroba koje su neoštećene i otpornije prema bubrenju.

U svim analiziranim uzorcima došlo je do povećanja finalnog viskoziteta tokom faze hlađenja za koje Singh i sar. (2003) navode da pokazuje tendenciju različitih konstituenata koji su prisutni u vrućoj pasti (nabubrele granule, delovi nabubrelih granula, koloidno i molekularno dispergovani molekuli skroba) da se međusobno povezuju kada se temperatura paste smanjuje, što predstavlja proces retrogradacije. Kriva pastiranja uzorka netretiranog kukuruza je u skladu sa literaturnim podacima gde se navodi da je kod kukuruznog skroba slabo izraženo pucanje granula tokom kuvanja paste i izrazita tendencija povećanja viskoziteta tokom hlađenja paste, što je posledica veoma izražene retrogradacije njegove linearne frakcije (Boškov, 1979).

U ekstrudiranim uzorcima EK2 i EK3, u kojima je na osnovu WAI i WSI analize utvrđeno da je pored želatinizacije došlo i do dekstrinizacije skroba, je zabeležena najmanja vrednost finalnog viskoziteta što je posledica prisustva dekstrina koji inače imaju nizak viskozitet (Dokić, 2013). Al-Rabadi i sar. (2011) navode da od količine neželatiniziranog tj. nativnog skroba koji je prisutan u uzorku zavisi finalna konzistencija paste nakon faze hlađenja. Prethodna tvrdnja je potvrđena za sve analizirane uzorke obzirom da je sa povećanjem vrednosti maksimalnog viskoziteta (tj. količinom nativnog skroba) došlo do povećanja vrednosti i finalnog viskoziteta.

Krive pastiranja netretirane i termički tretiranih smeša na bazi kukuruza su prikazane na slici 14, a u tabeli 13 su prikazane očitane vrednosti sa dobijenih kriva. Poređenjem krive za netretirani kukuruz sa krivom koja opisuje pastiranje netretirane smeše na bazi kukuruza može se zapaziti veliki uticaj smanjenja udela skroba u analiziranom uzorku i značajno smanjenje dobijenih vrednosti naročito za maksimalni i finalni viskozitet, što je posledica manje nativnih granula skroba u uzorku NS. Osim navedenog, takođe se može primetiti i uticaj ostalih komponenata smeše. U uzorku NS je zabeležena najveća temperatura želatinizacije, što je posledica prisustva drugih komponenata u smeši koje mogu da apsorbuju vodu (suncokretova i sojina sačma) i na taj način smanje količinu vode dostupnu za bubrenje skroba, ili fizički zaštite granule i otežaju prodiranje vode pa samim tim i bubrenje. Pad viskoziteta kada se uzorak održava na visokoj temperaturi, koji je zabeležen za netretirani uzorak kukuruza, nije bio toliko izražen kada se analizirani kukuruz našao u sastavu smeše, za šta se takođe može pretpostaviti da je posledica interakcije drugih komponenata smeše sa granulama skroba tokom faze zagrevanja. Uzorak ES2, zbog potpune želatinizacije skroba, nije formirao karakterističnu krivu pastiranja.



NS - netretirana smeša; **PS** - peletirana smeša; **FS** - parno flekčan kukuruz + peleta bez kukuruza; **MS1-MS3** - mikroniziran kukuruz + peleta bez kukuruza; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

Slika 14. Krive pastiranja potpune smeše na bazi kukuruza pre i posle termičkih tretmana

Tabela 13. Karakteristike pastiranja netretirane i termički tretirane smeše na bazi kukuruza

	Početni viskozitet (Pa·s)	Maksimalni viskozitet (Pa·s) na 95°C	Finalni viskozitet (Pa·s)	Temperatura želatinizacije (°C)
NS	0,43 ^a	17,85 ^g	38,04 ^c	84,43 ^e
PS	0,60 ^a	11,68 ^{bc}	38,11 ^c	71,56 ^{bc}
FS	0,45 ^a	16,25 ^f	47,03 ^f	74,23 ^a
MS1	0,43 ^a	12,20 ^c	32,45 ^e	74,80 ^a
MS2	0,46 ^a	11,32 ^b	24,45 ^b	74,50 ^a
MS3	0,45 ^a	8,97 ^a	18,03 ^a	74,22 ^a
ES1	0,95 ^{ab}	8,95 ^a	22,97 ^b	70,99 ^b
ES2	5,37 ^c	/†	6,93 ^d	/
ES3	1,44 ^b	5,97 ^e	15,80 ^a	72,39 ^c

NS - netretirana smeša; **PS** - peletirana smeša; **FS** - parno flekičan kukuruz + peleta bez kukuruza; **MS1-MS3** - mikroniziran kukuruz + peleta bez kukuruza; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

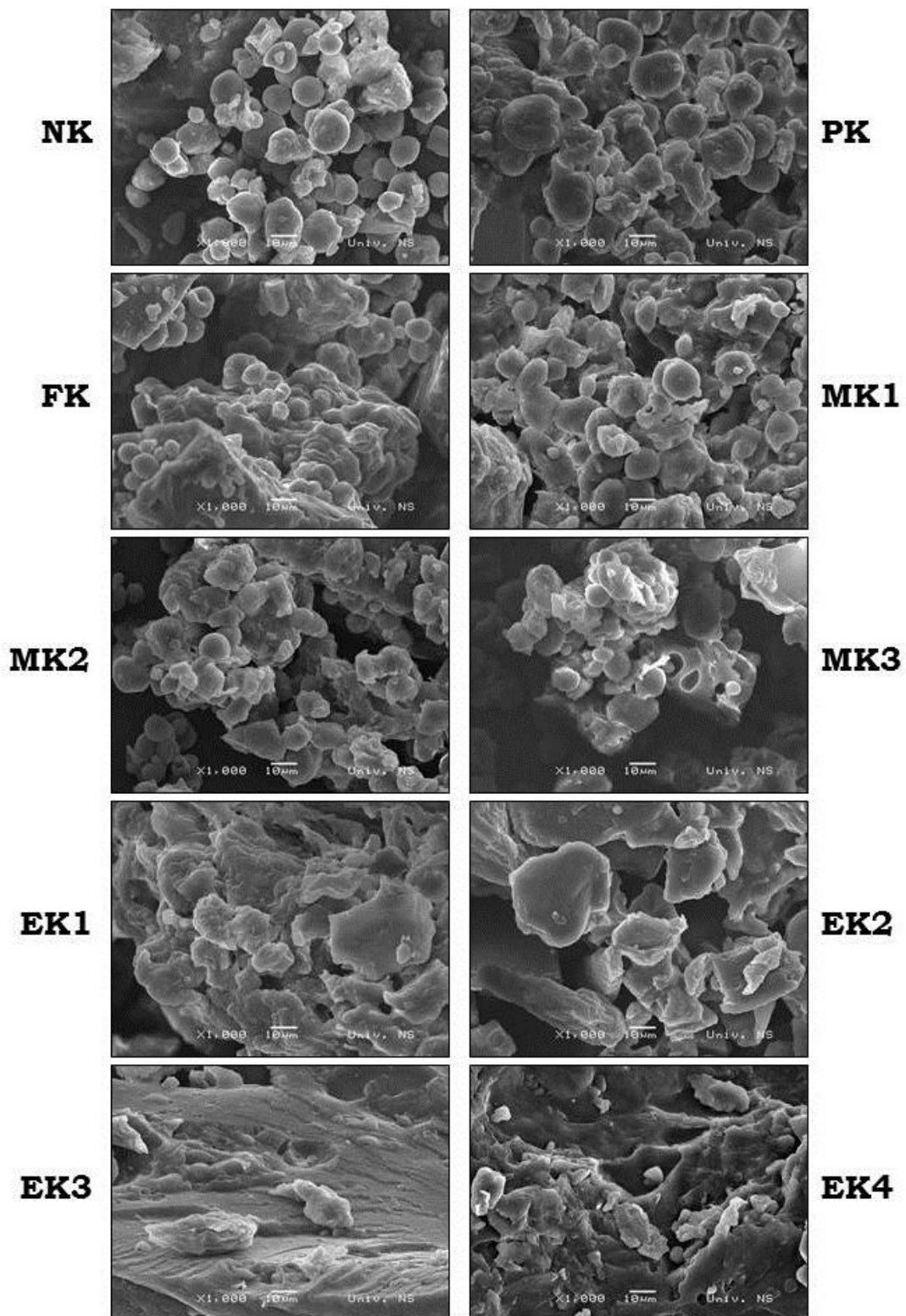
† - odsustvo pika zbog potpune želatinizacije skroba

*Različite slovne oznake označavaju statistički značajne razlike, $p < 0,05$

Važno je napomenuti da se analizom kriva pastiranja smeša može doći do istih zaključaka kao i analizom čistog kukuruza. Kao i u slučaju WAI i WSI, pregledom dostupne literature pronađeno je svega nekoliko istraživanja u kojima je analizirana žitarica i smeša na bazi izabrane žitarice. Gidley i sar. (2010) su na primeru sirka uočili smanjenje maksimalnog viskoziteta analizom smeše u kojoj je sirak bio zastupljen sa 75%, što je u skladu sa rezultatima ove disertacije.

5.4. UTICAJ TERMIČKIH TRETMANA NA MIKROSTRUKTURU KUKURUZA

Na slici 15 dat je vizuelni prikaz mikrostrukture samlevenog zrna kukuruza pre i nakon termičkih tretmana. Nativne granule skroba u uzorku NK koji nije bio tretiran imaju karakterističnu morfologiju odnosno oblik i veličinu koji odgovaraju granulama skroba kukuruza (Butrim i sar., 2009). Termički tretmani su doveli do narušavanja strukture kukuruza u različitoj meri, a u zavisnosti od izbora i intenziteta tretmana. Najveću promenu u morfologiji granula skroba je izazvao tretman ekstrudiranja. Poređenjem slika netretiranog i ekstrudiranih uzoraka može se uočiti kompletna dezintegracija granula skroba izazvana ekstrudiranjem, praćena formiranjem velikih konglomerata koji su različitih oblika sa relativno glatkom i mestimično hrapavom površinom. Nakon peletiranja, parnog flekićenja i mikronizacije deo skrobnih granula je ostao netaknut, odnosno nativna struktura nije bila oštećena tokom navedenih tretmana, dok su preostale granule želatinizirale pa je došlo do formiranja grumena različitih veličina. Uočene promene u strukturi su u skladu sa rezultatima Harbers (1975) koji je primenom SEM zabeležio pucanje granula skroba sirka i formiranje bezoblične mase nakon parnog flekićenja. Wang i Copeland (2013) navode da, u zavisnosti od uslova prerade, uzorci skroba koji nisu 100% želatinizirali mogu sadržati granule koje su najbližnje nativnom stanju (nula želatinizacije), granule u različitim fazama delimične želatinizacije, kao i potpuno želatinizirane granule. Bdour i sar. (2014) su na osnovu SEM slika potvrdili da nakon peletiranja ječma i sirka granule skroba zadržavaju svoj integritet, što nije slučaj nakon ekstrudiranja.



NK - netretiran kukuruz; **PK** - peletiran kukuruz; **FK** - parno flekičan kukuruz;
MK1-MK3 - mikroniziran kukuruz; **EK1-EK4** - ekstrudiran kukuruz

Slika 15. Mikrograf mlevenog kukuruza pre i posle termičkog tretmana
(uvećanje 1000x, bar=10µm)

5.5. UTICAJ TERMIČKIH TRETMANA NA SVARLJIVOST SUVE MATERIJE I SKROBA SMEŠE NA BAZI KUKURUZA U BURAGU

U tabeli 14 i 16 prikazano je nestajanje SM i skroba netretirane i termički tretiranih smeša hrane za krave određeno *in situ* metodom. Primenom jednačine 7 izračunate su vrednosti za brzo razgradivu frakciju a , brzinu c koja označava brzinu razgradnje potencijalno razgradive frakcije, i efektivnu razgradivost u buragu za SM i skrob pri brzini prolaza od $0,06\text{h}^{-1}$ (tabela 15 i 17).

5.5.1. RAZGRADNJA SM SMEŠE NA BAZI KUKURUZA

Analizom dobijenih rezultata nestajanja SM koji su prikazani u tabeli 14 uočene su statistički značajne razlike između uzoraka ($p < 0,05$). Najniže vrednosti nestajanja SM su određene za netretirani uzorak, dok su svi primenjeni termički tretmani doveli do značajnog povećanja razgradnje SM u buragu ($p < 0,05$). Inkubacijom u trajanju do 24h je razlika između netretiranog uzorka i termički tretiranih uzoraka bila značajna ($p < 0,05$), da bi se nakon 48h inkubacije pomenuta razlika smanjila na nivo koji statistički nije značajan.

Analizom rezultata nestajanja SM termički tretiranih uzoraka moguće je izvršiti njihovu podelu u dve grupe. Prvu grupu čine smeše u čijem sastavu se nalazi kukuruz u formi flekice, koje su dobijene parnim flekičenjem ili mikronizacijom, dok je ostatak smeše peletiran. Pomenutu grupu čine uzorci FS, MS1, MS2 i MS3 za koje se nestajanje SM statistički značajno ne razlikuje i iznosi oko 46, 60, 70 i 82% nakon 3, 9, 16 i 24h inkubacije u buragu.

Tabela 14. *In situ* razgradivost SM netretirane i termički tretiranih smeša hrane za krave

	3h	9h	16h	24h	48h
NS	37,55 ^c	49,18 ^e	63,82 ^g	75,95 ^d	91,18 ^{ab}
PS	57,86 ^b	63,45 ^{ad}	77,91 ^{ef}	85,28 ^c	92,67 ^a
FS	44,79 ^a	58,26 ^{bc}	71,38 ^{ab}	82,03 ^{ab}	91,87 ^a
MS1	45,06 ^a	57,56 ^b	68,43 ^a	81,65 ^a	91,85 ^a
MS2	47,70 ^a	61,72 ^a	72,72 ^{bc}	83,44 ^{abc}	89,97 ^b
MS3	46,68 ^a	61,34 ^{ac}	69,17 ^a	80,53 ^a	89,84 ^b
ES1	60,21 ^d	65,71 ^d	74,80 ^{cd}	82,06 ^a	92,64 ^a
ES2	69,23 ^e	75,08 ^g	79,55 ^f	84,97 ^{bc}	91,39 ^{ab}
ES3	55,22 ^b	70,76 ^f	76,20 ^{de}	82,54 ^{abc}	92,84 ^a

NS - netretirana smeša; **PS** - peletirana smeša; **FS** - parno flekičan kukuruz + peletiran ostatak smeše; **MS1-MS3** - mikroniziran kukuruz + peletiran ostatak smeše; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

*Različite slovne oznake označavaju statistički značajne razlike, $p < 0,05$

Tabela 15. Parametri razgradivosti SM netretirane i termički tretiranih smeša hrane za krave određeni *in situ* tehnikom

	a_{SM} (%)	c_{SM} (h ⁻¹)	EfRSM (%)
NS	27,9	0,0420	58,33
PS	49,2	0,0525	67,84
FS	34,4	0,0577	65,41
MS1	35,7	0,0498	62,51
MS2	37,2	0,0669	68,94
MS3	38,4	0,0557	64,15
ES1	54,8	0,0338	54,52
ES2	65,7	0,0408	63,15
ES3	55,7	0,0432	62,28

NS - netretirana smeša; **PS** - peletirana smeša; **FS** - parno flekičan kukuruz + peleta bez kukuruza; **MS1-MS3** - mikroniziran kukuruz + peleta bez kukuruza; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

Uzorci koji su dobijeni peletiranjem i ekstrudiranjem (PS, ES1 i ES3) čine drugu grupu a ono što je zajedničko za ove uzorke je da je nakon 3h inkubacije u buragu stepen razgradnje SM ovih uzoraka na približno istom nivou, a dobijene vrednosti se kreću u intervalu 55,22-60,21%. Produžavanjem vremena inkubacije razlike između uzoraka druge grupe su postale statistički značajne ($p < 0,05$). Najveći stepen nestajanja SM zabeležen je za uzorak ES2 u kome je nakon 3h inkubacije čak 69,23% SM nestalo. Najduže vreme inkubacije u trajanju od 48h je dovelo do približno istog stepena razgradnje SM za sve analizirane uzorke koje je iznosilo oko 91%, što je u skladu sa literaturnim podacima (Tagliapietra i sar., 2012).

U uzorku NS izračunata vrednost frakcije a_{SM} je iznosila 27,9%, dok je brzina c_{SM} bila $0,0420h^{-1}$. EfRSM netretirane smeše je iznosila 58,33% i bila je manja u poređenju sa svim termički tretiranim uzorcima, sa izuzetkom ekstrudiranog uzorka ES1. Niža vrednost EfRSM uzorka ES1 (54,52%) je posledica smanjene brzine c_{SM} ($0,0338h^{-1}$).

Ispitivani termički tretmani su doveli do značajnog povećanja vrednosti frakcije a_{SM} što je rezultiralo i povećanjem EfRSM. Do povećanja frakcije a može doći ako kao posledica termičkog tretmana dođe do smanjenja veličine čestica, pa zbog toga dolazi do povećanja gubitka nerastvorljivih i rastvorljivih čestica kroz pore vreća (Cerneau i Michalet-Doreau, 1991). U uzorcima FS, MS1, MS2 i MS3 vrednost frakcije a_{SM} je bila povećana u odnosu na netretirani uzorak i kretala se u malom opsegu (34,4-38,4%). Na osnovu vrednosti frakcije a_{SM} uzoraka koji su parno flekičani i mikronizirani možemo zaključiti da su navedeni tretmani uticali u istoj meri na smanjenje veličine čestica. U uzorcima PS, ES1, ES2 i ES3 vrednost frakcije a_{SM} je bila skoro dva puta veća nego u netretiranom uzorku i kretala se u rasponu 49,2-65,7%. Na osnovu toga možemo zaključiti da je nakon peletiranja i ekstrudiranja

veličina čestica bila manja u poređenju sa parnim flekičenjem i mikronizacijom.

Povećanje brzine c_{SM} je zabeleženo za sve uzorke koji su bili peletirani, parno flekičani i mikronizirani. Povećanje a_{SM} i c_{SM} pomenutih uzoraka je uticalo na povećanje EfRSM u iznosu od 7-18% u poređenju sa netretiranim uzorkom. Nasuprot tome, c_{SM} ekstrudiranih uzoraka je bila na približno istom nivou kao u netretiranom uzorku, što je uticalo na mali iznos povećanja EfRSM uprkos izuzetno visokim vrednostima a_{SM} . U radu Keyserlingk i sar. (1998) je određena EfRSM smeše koja je peletirana (odgovara uzorku PS iz ove teze) i smeše u kojoj je peletiran deo koji ne čine žitarice, a koji je pomešan sa parno flekičanim ječmom i kukuruzom (odgovara uzorku FS iz ove teze) koji su autori nazvali teksturirani koncentrat. Autori su zabeležili povećanje od 8% za EfRSM peletirane smeše u poređenju sa teksturiranim koncentratom, što je neznatno više od povećanja koje je određeno u ovoj tezi, a koje je iznosilo 4%.

5.5.2. RAZGRADNJA SKROBA SMEŠE NA BAZI KUKURUZA

Analizom dobijenih rezultata nestajanja skroba koji su prikazani u tabeli 16 uočene su statistički značajne razlike između uzoraka ($p < 0,05$). Najniže vrednosti nestajanja skroba su određene za netretirani uzorak, dok su svi primenjeni termički tretmani doveli do značajnog povećanja razgradnje skroba u buragu ($p < 0,05$). Najmanje povećanje je zabeleženo kod uzorka FS gde je do 9h inkubacije stepen razgradnje skroba bio isti, a nakon 9h veći u poređenju sa netretiranim uzorkom. Stoga, brzina ragradnje skroba tokom prvih 9h inkubacije u buragu je bila ista nakon primene tretmana parnog flekičenja u poređenju sa smešom koja nije termički tretirana, a nakon isteka tog vremena je došlo do povećanja brzine.

Tabela 16. *In situ* razgradivost skroba netretirane i termički tretiranih smeša hrane za krave

	3h	9h	16h	24h	48h
NS	42,74 ^b	58,17 ^a	67,44 ^c	81,98 ^d	98,88 ^f
PS	53,90 ^a	58,36 ^a	86,52 ^e	94,43 ^c	99,59 ^{ac}
FS	39,94 ^b	57,78 ^a	77,02 ^d	88,20 ^a	99,16 ^b
MS1	53,40 ^a	65,60 ^c	80,88 ^b	90,36 ^a	99,48 ^a
MS2	50,84 ^a	71,90 ^b	83,89 ^a	93,15 ^{bc}	99,50 ^a
MS3	59,51 ^e	72,16 ^b	81,41 ^b	92,05 ^b	99,24 ^b
ES1	65,53 ^c	73,21 ^b	83,91 ^a	92,51 ^b	99,66 ^{cd}
ES2	79,12 ^d	88,45 ^e	93,73 ^f	96,36 ^e	99,75 ^{de}
ES3	63,99 ^c	77,79 ^d	83,83 ^a	89,82 ^a	99,81 ^e

NS - netretirana smeša; **PS** - peletirana smeša; **FS** - parno flekičan kukuruz + peleta bez kukuruza; **MS1-MS3** - mikroniziran kukuruz + peleta bez kukuruza; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

*Različite slovne oznake označavaju statistički značajne razlike, $p < 0,05$

Tabela 17. Parametri razgradivosti skroba netretirane i termički tretiranih smeša hrane za krave određeni *in situ* tehnikom

	a_{SK} (%)	c_{SK} (h ⁻¹)	EfRSK (%)
NS	34,7	0,0379	57,89
PS	38,2	0,0664	72,10
FS	24,9	0,0666	67,16
MS1	42,3	0,0604	71,52
MS2	36,0	0,0882	74,92
MS3	50,6	0,0601	74,40
ES1	57,9	0,0522	71,49
ES2	67,9	0,0936	83,92
ES3	57,9	0,0570	75,15

NS - netretirana smeša; **PS** - peletirana smeša; **FS** - parno flekičan kukuruz + peleta bez kukuruza; **MS1-MS3** - mikroniziran kukuruz + peleta bez kukuruza; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

Najveće dobijene vrednosti nestajanja skroba za svako vreme inkubacije su zabeležene za uzorak ES2. U svim uzorcima koji su dobijeni tretmanom ekstrudiranja došlo je do razgradnje velike količine skroba (65,53-79,12%) već tokom prva 3h inkubacije, dok se približno 89% skroba uzorka ES2 razgradilo već nakon 9h inkubacije u buragu. Nakon najdužeg vremena inkubacije u trajanju od 48h došlo je do razgradnje 98,88% skroba netretirane smeše, dok je za sve termički tretirane uzorke ova vrednost prelazila 99%, što potvrđuje navode Huntington (1997) i Mills i sar. (1999) da ne postoji ograničenje u kapacitetu buraga za varenje skroba.

Vrednost frakcije a_{SK} uzorka NS koji nije termički tretiran je iznosila 34,7%, dok je brzina razgradnje skroba bila $0,0379h^{-1}$. U buragu krave se razgradilo 57,89% odnosno oko 40% skroba je izbeglo varenje u buragu i prešlo u creva. Dobijeni rezultati su u skladu sa vrednostima koje su objavili Nocek i Tamminga (1991) za netretirani kukuruz (tabela 18). U dostupnoj literaturi vrednosti frakcije a_{SK} kukuruza se najčešće kreću u rasponu 20-30%, dok su vrednosti brzine razgradnje skroba u opsegu $0,045-0,065h^{-1}$ (tabela 18). U studiji izvedenoj od strane Philippeau i sar. (1999) analizirano je 8 hibrida kukuruza tipa zuban koji su se razlikovali u fizičkim karakteristikama odnosno strukturi endosperma. U pomenutoj studiji frakcija a_{SK} se kretala u rasponu 19,4-36,3%, dok je brzina c_{SK} varirala od $0,048$ do $0,111h^{-1}$. Na osnovu rezultata dobijenih u okviru ove disertacije može se zaključiti da je frakcija a skroba kukuruza koji je upotrebljen za pravljenje smeše hrane za krave bila neznatno veća, dok je brzina razgradnje c bila niža u odnosu na objavljene vrednosti iz drugih studija. Nasuprot vrednostima objavljenim u većini dostupne literature, u istraživanju Cooper i sar. (2002) zabeležena je veoma niska vrednost c_{SK} u iznosu od svega $0,0297h^{-1}$ za suvo valjani kukuruz, dok je u istraživanju McAllister i Sultana (2011) vrednost frakcije a_{SK} kukuruza bila svega 5,6%.

Tabela 18. Karakteristike razgradnje skroba kukuruza u buragu primenom *in situ* tehnike (brzina prolaza je $0,06\text{h}^{-1}$ gde drugačije nije naznačeno)

	a_{SK} (%)	c_{SK} (h^{-1})	EfRSK (%)	Referenca
Netretiran	32	0,036	57,3	(Nocek i Tamminga, 1991)
Netretiran	21,0	0,064	61,9	(Herrera-Saldana i sar., 1990)
Netretiran	30,5	0,055	61,0	(Cerneau i Michalet-Doreau, 1991)
Netretiran	26,6 (19,4-36,3)	0,059 (0,048-0,111)	61,9 (55,1-77,6)	(Philippeau i sar., 1999)
Netretiran	23,6	0,059	59,7	(Offner i sar., 2003)
Parno flekičan	12,7	0,216	80,3	
Ekstrudiran	52,2	0,087	82,8	
Peletiran	38,7	0,059	68,5	
Netretiran	20,1	0,065	64,6†	Sadeghi i Shawrang (2006)
Netretiran	23	0,05	60†	Tothi i sar. (2003)
Ekspandiran i peletiran	40	0,07	72†	
Parno flekičan	18,1	0,172	64,1	(Hristov i sar., 2007)
Parno flekičan	24,2	0,123	64,7	
Suvo valjan	/	0,0297	52,0‡	(Cooper i sar., 2002)
Parno flekičan	/	0,0439	67,7‡	
Netretiran	5,6	0,057	/	(McAllister i Sultana, 2011)
Mikroniziran	3,8	0,019	/	

†brzina prolaza $0,05\text{h}^{-1}$

‡brzina prolaza $0,0344\text{h}^{-1}$

Offner i Sauvant (2004) su poredili rezultate efektivne razgradnje skroba dobijene *in situ* tehnikom sa *in vivo* svarljivošću skroba. Rezultati su pokazali da *in situ* tehnika tačno predviđa svarljivost skroba. Ipak,

ova tehnika je nedovoljno standardizovana i jedno od njenih ograničenja je niska ponovljivost i nedostatak reproduktivnosti (Cattani, 2011). Izvori varijacija su mnogobrojni: materijal koji se koristi za izradu kesa, poroznost materijala, veličina čestica hrane nakon mlevenja, odnos mase uzorka prema površini kese (izražen kao mg/cm^2), položaj kesa u buragu, ispiranje kesa nakon inkubacije (Herrera-Saldana i sar., 1990; Cerneau i Michalet-Doreau, 1991; Philippeau i sar., 1999; Nozière i Michalet-Doreau, 2000; Adesogan, 2002; Mohamed i Chaudhry, 2008; Cattani, 2011). Madsen i Hvelplund (1994) su obradom rezultata međulaboratorijskog poređenja razgradnje proteina u kome je učestvovalo 23 laboratorije došli do zaključka da je variranje dobijenih vrednosti između laboratorija bilo značajno. Nasuprot tome, rangiranje ispitivanih uzoraka je bilo veoma dosledno između laboratorija. Stoga, moguće je sumnjati u pouzdanost apsolutnih vrednosti koji se dobijaju ovom metodom, ali relativne vrednosti iz jedne laboratorije čine se pouzdanim (Wood i Badve, 2001).

U najvećem broju istraživanja vrednost EfRSK kukuruza određena *in situ* iznosi oko 60% uz mala odstupanja (tabela 18). U istraživanjima u kojima je brzo razgradiva frakcija niža brzina razgradnje je veća i obrnuto. Offner i sar. (2003) su objedinili rezultate brojnih *in situ* ogleda i prikazali srednje vrednosti kinetičkih parametara razgradnje kukuruza pre i nakon termičkih tretmana. U pomenutoj studiji autori su na osnovu podataka iz 29 ogleda odredili srednju vrednost EfRSK netretiranog kukuruza u iznosu od 59,7% pri brzini prolaza od $0,06\text{h}^{-1}$, što je u skladu sa rezultatima Nocek i Tamminga (1991). Nasuprot tome, u istraživanju Cooper i sar. (2002) određena je malo niža EfRSK u iznosu od 52% za netretiran kukuruz, što je verovatno posledica manje brzine prolaza ($0,0344\text{h}^{-1}$) koja je korišćena prilikom proračuna. U istom ogledu svarljivost skroba u buragu određena *in vivo* je bila značajno veća i iznosila je 76,2% što su autori objasnili različitom pripremom uzorka za *in situ* i *in vivo* metodu. Mogući razlozi razlika u vrednostima između

pomenutih metoda su: izlazak malih granula skroba iz kese bez razgradnje, odsustvo smanjenja veličine čestica u kesama, i razlike u aktivnosti mikroorganizama unutar i izvan kesa (Sveinbjörnsson i sar., 2007). U preglednom radu Theurer (1986) je objavio da se u proseku 70% skroba termički netretiranog kukuruza svari u buragu kada se primenjuje *in vivo* metoda, što je potvrđeno u istraživanjima drugih autora (Nocek i Tamminga, 1991; Huntington, 1997; Larsen i sar., 2009). Nasuprot tome, Moharrery i sar. (2014) su primenom metaanalize na 75 vrednosti dobijenih u *in vivo* ogledima sa kravama u laktaciji objavili da je svarljivost skroba kukuruza u buragu 57,4%.

Termički tretmani generalno povećavaju brzinu i stepen razgradnje skroba (Offner i sar., 2003; Sveinbjörnsson i sar., 2007). Najčešće korišćena metoda za procenu brzine varenja skroba je *in situ* tehnika (Huhtanen i Sveinbjörnsson, 2006). U dostupnoj literaturi ne postoji puno podataka o uticaju termičkih tretmana na karakteristike razgradnje skroba kukuruza u buragu. U preglednom radu Offner i sar. (2003) su objedinjeni i statistički obrađeni rezultati *in situ* oglada. U pomenutom radu vrednosti kinetičkih parametara za netretirani kukuruz su dobijeni obradom rezultata 28 oglada dok su za parno flekičan, peletiran ili ekstrudiran kukuruz korišćeni podaci iz samo 2 ili 3 oglada. Pregledom dostupne literature nisu pronađeni podaci o razgradnji skroba mikroniziranog kukuruza u buragu krava.

Od svih primenjenih termičkih tretmana jedino je parno flekičenje dovelo do smanjenja brzo razgradive frakcije skroba koja je u uzorku FS iznosila 24,9%. U istom uzorku povećanje c_{SK} na $0,0666h^{-1}$ je uticalo na vrednost $EfRSK$ koja je iznosila 67,16%, odnosno na povećanje količine skroba koji se razgradi u buragu u iznosu od oko 16% u poređenju sa netretiranim uzorkom. Dobijene vrednosti su u skladu sa rezultatima Hristov i sar. (2007) koji su objavili da je frakcija a_{SK} parno flekičanog kukuruza iznosila 24,2%, dok je $EfRSK$ bila 64,7%. U preglednom radu

Offner i sar. (2003) parno flekičenje je takođe jedini tretman koji je doveo do smanjenja frakcije a_{SK} koja je iznosila $12,7 \pm 10,7\%$. U pomenutom istraživanju izračunata je srednja vrednost $EfRSK$ u iznosu od $80,3 \pm 3,2\%$ na šta je u velikoj meri uticala veoma brza razgradnja skroba od $0,216h^{-1}$, što je ujedno i najveća zabeležena vrednost za c_{SK} termički tretiranog kukuruza u pomenutoj studiji. Za izračunavanje srednjih vrednosti kinetičkih parametara parno flekičanog kukuruza Offner i sar. (2003) su koristili rezultate samo dva oglada, što je verovatno imalo uticaja na objavljene vrednosti, koje su značajno veće u odnosu na rezultate iz ove teze. Povećanje svarljivosti skroba parno flekičanog kukuruza u buragu je zabeleženo primenom i *in vivo* metode u iznosu od 5 do 30% (Theurer, 1986) u poređenju sa termički netretiranim kukuruzom, što je potvrđeno i od strane drugih autora (Owens i sar., 1986; Huntington, 1997; Cooper i sar., 2002).

U poređenju sa netretiranim uzorkom, peletiranje je uticalo na povećanje a_{SK} (38,2 naspram 34,7%), c_{SK} (0,0664 naspram $0,0379h^{-1}$) i $EfRSK$ (72,10 naspram 57,89%). Dobijene vrednosti su u skladu sa srednjim vrednostima koje su Offner i sar. (2003) dobili sumirajući rezultate 3 oglada u kojima je kukuruz bio peletiran (tabela 18). Povećanje vrednosti a_{SK} , c_{SK} i $EfRSK$ u odnosu na netretirani uzorak su zabeležili i Tothi i sar. (2003) kada je kukuruz prvo ekspaniran pa peletiran (tabela 18). Izračunata vrednost povećanja $EfRSK$ smeše u buragu od 25% za peletirani u odnosu na netretirani uzorak je veća od objavljenih vrednosti u drugim istraživanjima. Goelema i sar. (1996) su zabeležili povećanje od 11 i 14% analizirajući dve smeše hrane za krave, dok je povećanje za ekspanirani pa peletirani kukuruz u ogledu Tothi i sar. (2003) iznosilo 20%. U pomenutim istraživanjima nisu analizirane fizičko-hemijske promene nastale na skrobnoj komponenti kao posledica termičkog tretmana tako da se samo može pretpostaviti da je do razlika u dobijenim vrednostima došlo zbog različitog intenziteta primenjenog tretmana peletiranja, odnosno većeg stepena želatinizacije skroba.

Promena parametara tokom mikronizacije je uticala na vrednosti a_{SK} , c_{SK} i $EfRSK$, pa je za uzorke MS1, MS2 i MS3 utvrđeno povećanje ovih parametara u odnosu na netretirani uzorak, ali u različitoj meri. Za uzorak MS2 u čijem sastavu je kukuruz koji je kondicioniran (14,29% vlage) i za koji je postignuta temperatura mikronizacije od 111°C, određena je najmanja vrednost a_{SK} u iznosu od 36,0% dok je c_{SK} bila najveća (0,0882h⁻¹) u poređenju sa ostalim mikroniziranim uzorcima. Temperatura mikronizacije kukuruza koji je ušao u sastav smeše MS1 i MS3 je bila 125°C i u tim uzorcima je određena ista vrednost c_{SK} (0,06h⁻¹). Kukuruz iz uzorka MS1 nije kondicioniran a vrednost a_{SK} je bila niža nego u uzorku MS3 gde je kukuruz prethodno kondicioniran (42,3 naspram 50,6%). Promena uslova tokom procesa mikronizacije kukuruza je uticalo na vrednost $EfRSK$ smeša ali u maloj meri obzirom da se $EfRSK$ kretala u relativno malom rasponu (71,52-74,92%). Mikronizacijom kukuruza došlo je do povećanja $EfRSK$ smeše u buragu za oko 24-29% u poređenju sa netretiranim uzorkom. Pregledom dostupne literature nisu pronađeni podaci o karakteristikama razgradnje skroba mikroniziranog kukuruza u buragu krava. U istraživanju McAllister i Sultana (2011) u *in situ* ogledu sa volovima, mikronizacija kukuruza je dovela do smanjenja a_{SM} i a_{SK} , dok je c_{SM} bila povećana a c_{SK} smanjena u poređenju sa netretiranim kukuruzom. U pomenutom istraživanju vrednost a_{SK} netretiranog kukuruza (5,6%) je bila značajno niža od dostupnih literaturnih podataka. Takođe, autori nisu računali $EfRSK$ nego su odredili stepen razgradnje skroba u buragu nakon inkubacije u trajanju od 96h, koja je za netretirani kukuruz iznosila svega 46,1%. Dobijeni rezultati se značajno razlikuju od dostupnih literaturnih podataka i rezultata iz ove teze, obzirom da je u ogledu sa kravama nakon 48h inkubacije preko 99% skroba iz smeše bilo razgrađeno u buragu krava. Takođe, u pomenutom istraživanju McAllister i Sultana (2011) nisu navedeni uslovi mikronizacije kukuruza, kao ni stepen želatinizacije skroba.

Najveće vrednosti frakcije a_{SK} (57,9-67,9%) su zabeležene u uzorcima koji su ekstrudirani. Ekstrudiranjem smeša ES1 i ES3 došlo je do povećanja c_{SK} u poređenju sa netretiranim uzorkom, ali u manjoj meri nego nakon peletiranja, parnog flekičenja i mikronizacije. Najveća određena vrednost a_{SK} i c_{SK} je bila u uzorku ES2 u kome je želatinizacija skroba bila potpuna. Uprkos visokim vrednostima a_{SK} uzoraka ES1 i ES3, EfRSK se kretala u rasponu 71,49-75,15% i bila je na nivou peletiranih i mikroniziranih smeša. Najveće povećanje EfRSK je određeno za uzorak ES2 u iznosu od 45% za šta se može pretpostaviti da je posledica potpune želatinizacije skroba. Dobijeni rezultati su u skladu sa izračunatim srednjim vrednostima Offner i sar. (2003) koji su koristili podatke iz 4 ogleda (tabela 18). U istraživanju Shabi i sar. (1999) ekstrudiranje kukuruza je uticalo na povećanje efektivne razgradivosti nestrukturnih ugljenih hidrata u buragu u iznosu od 29%, dok je brzina razgradnje bila povećana za više od 5 puta. U pomenutom istraživanju vlaga kukuruz je iznosila 20%, a temperatura ekstrudiranja 200°C. Step en želatinizacije skroba nije bio određen, kao ni bilo koji drugi parametar koji bi mogao da ukaže na promene koje je ekstrudiranje izazvalo na skrobnoj komponenti.

Sumiranjem rezultata utvrđeno je da su svi primenjeni termički tretmani doveli do povećanja brzine razgradnje skroba c_{SK} u manjoj ili većoj meri a u zavisnosti od vrste i intenziteta tretmana. Povećanje frakcije a_{SK} , koja sadrži rastvorljive šećere (glukozu, fruktozu, saharozu i fruktane) i rastvorljive neskrobne polisaharide (arabinozu, ksilozu, manozu, galaktozu i uronsku kiselinu) (Sadeghi i Shawrang, 2006), je zabeleženo za sve analizirane smeše izuzev smeše koja je sadržala parno flekičan kukuruz. Dobijeni nalaz je u skladu sa rezultatima WSI analize koja je ukazala na moguću interakciju degradiranih komponenti (skroba, proteina i lipida) na molekularnom nivou i nastanak jedinjenja sa većom molekulskom masom i smanjenom rastvorljivošću u uzorku parno flekičanog kukuruza. Takođe, u uzorku ES2 za koji je određena najveća

vrednost frakcije a_{SK} je zabeležena i najveća vrednost WSI. Značajne razlike u karakteristikama razgradnje skroba su zabeležene nakon variranja procesnih parametara ekstrudiranja, dok su uočene razlike između mikroniziranih uzoraka bile mnogo manje izražene. Veoma je interesantno primetiti da je najmanje i najveće povećanje brzine c_{SK} usledilo nakon ekstrudiranja, što potvrđuje navode Nocek i Tamminga (1991) da su vrsta i stepen prerade ključni u promeni svarljivosti i korišćenju hranljivih materija od strane životinje.

Obzirom na neprestani napredak iz oblasti genetike mlečnih krava neophodno je da se ishrana poboljšava kako bi se zadovoljila povećana potreba krava za energijom i proteinima. Napredak u shvatanju varenja skroba omogućava optimizaciju zaliha proteina i energije, a potrebno je i za identifikaciju tehnika u menadžmentu za maksimalnu iskoristivost ishrane bogate žitaricama. Sniffen i sar. (2009) navode da je za efikasan rast mikroorganizama u buragu neophodno da dostupnost ugljenih hidrata i proteina bude sinhronizovana i to na nivou svakog sata. Prinos proteina mikrobnog porekla je bio najveći kada su životinje hranjene brzo svarljivim izvorom proteina zajedno sa brzo svarljivim izvorom skroba. Suprotno tome, najmanji prinos je zabeležen kada su sporo svarljivi izvori proteina kombinovani sa brzo svarljivim izvorima skroba (Aldrich i sar., 1993). Dobijeni *in situ* rezultati brzine i stepena razgradnje skroba u buragu mogu da se iskoriste u kompjuterskim programima koji služe za pravljenje receptura za obroke životinja. Prilikom formulisanja obroka veoma je važno sinhronizovati dostupnost fermentabilnih ugljenih hidrata i izvora azota u buragu. Huntington (2000) navodi da prednosti povećanja fermentacije sirka u buragu mlečnih krava potvrđuju da sinhronizacija buražne fermentacije skroba i izvora azota (proteina) povećavaju prolazak bakterijskog proteina iz buraga u creva. Povećano snabdevanje energijom od fermentacije skroba u buragu zajedno sa povećanim snabdevanjem aminokiselinama iz varenja dodatnog bakterijskog proteina u crevima, se koriste za povećanje svarljivosti azota

ili proizvodnje mlečnog proteina, najčešće bez znatnih štetnih efekata na prinos mlečne masti.

5.6. UTICAJ TERMIČKIH TRETMANA NA SVARLJIVOST SKROBA U CREVIMA SMEŠE NA BAZI KUKURUZA

Svarljivost skroba u crevima netretirane i termički tretiranih smeša određena je metodom *mobile bag*. Priprema uzoraka se sastojala u inkubiranju uzoraka u buragu u trajanju od 16h, potom u rastvoru kiselog pepsina u trajanju od 1h (simuliranje varenja u sirištu), da bi se nakon toga uzorci ubacili u dvanaestopalačno crevo životinja, a sakupili iz fecesa. Ghoorchi i sar. (2013) navode da se inkubacijom u buragu omogućava varenje proteinskog matriksa i izlaganje granula skroba enzimatskom varenju u tankom crevu.

Nakon 16h inkubacije u buragu došlo je do razgradnje dela skroba i to najmanje u uzorku NS (67,44%), a najviše u uzorku ES2 (93,73%) (tabela 16). Prema tome, količina skroba koja je dospela u creva se kretala u rasponu 6,27-32,56%. Norberg i sar. (2007) su primenili 12h inkubaciju u buragu što je rezultiralo malom količinom originalnog skroba (u nekim uzorcima samo 0,5%, a maksimalno 21,9%), dok je u istraživanju Ghoorchi i sar. (2013) nakon 4h inkubacije u buragu ostalo od 32,8% do 99,0% originalnog skroba. Analizirani uzorci u istraživanju Norberg i sar. (2007) su bili na bazi ječma i ovsa pa je velika razgradnja skroba u buragu koja je prethodila *mobile bag* metodi bila očekivana. Nasuprot tome, mala razgradnja skroba nakon 4h inkubacije u buragu u istraživanju Ghoorchi i sar. (2013) je zabeležena za uzorke različitih leguminoza. Pregledom dostupne literature ustanovljeno je da se u istraživanjima primenjuju različita vremena inkubacije u buragu kao priprema uzoraka za procenu svarljivosti u crevima. Inkubacija u trajanju od 16h je primenjena u istraživanjima autora Chrenková i sar.

(2012) i Formelová i sar. (2012) za analizu proteina žitarica, dok su Keyserlingk i sar. (1998) analizirali koncentrovane smeše, a Goelema i sar. (1999) smešu leguminoza kojima je prethodila inkubacija u buragu u trajanju od 12h.

Nakon opisane pripreme uzoraka i prolaska kroz crevo životinja određen je sadržaj skroba koji je u svim uzorcima iznosio 0% odnosno svarljivost skroba u crevima je bila 100% u uzorku netretirane smeše (NS) i svim termički tretiranim smešama (PS, FS, MS1, MS2, MS3, ES1, ES2, ES3).

U radu Cooper i sar. (2002) svarljivost skroba kroz ceo digestivni trakt suvo valjanog kukuruza određena *in vivo* je iznosila 96,1%, što je potvrđeno u *in vivo* ogledu Larsen i sar. (2009) koji su objavili vrednost od 95,2% za samleveni kukuruz. Ghoorchi i sar. (2013) su za uzorak kukuruza iz ogleda Larsen i sar. (2009) primenili *mobile bag* metodu i odredili nižu svarljivost skroba u iznosu od 91,2%, što bi moglo da ukaže na nedovoljno vreme inkubacije u buragu od samo 4h. Nasuprot tome, potpuna svarljivost skroba određena za uzorak NS primenom *mobile bag* metode bi mogla da bude posledica veoma dugog vremena inkubacije koje je iznosilo 16h. Takođe, drugi faktori (kao što su poroznost kese i vreme zadržavanja u crevima) su mogli da utiču da dobijeni rezultat. Zbog svega navedenog bi u narednim istraživanjima trebalo porediti vrednosti dobijene *in vivo* i *mobile bag* metodom i izvršiti standardizaciju metode što će uticati na pouzdanost dobijenih rezultata.

U radu Cooper i sar. (2002) zabeleženo je značajno povećanje *in vivo* svarljivosti skroba za svaki deo digestivnog trakta za parno flekičan u poređenju sa suvo valjanim kukuruzom. Svarljivost nakon buraga je bila 98,3% skroba koji napusti burag, dok je svarljivost kroz ceo digestivni trakt bila 99,8%. Na osnovu toga možemo zaključiti da se termičkim tretmanima omogućava praktično potpuno varenje skroba

kukuruzna kroz ceo digestivni trakt goveda, što je i potvrđeno rezultatima u ovoj disertaciji. Theurer (1986) je u preglednom radu takođe objavio da je svarljivost skroba parno flekičanog kukuruza 99%, što je potvrđeno i od strane Huntington (1997) (98,9%) i Owens i sar. (1986) (97,8%).

5.7. UTICAJ TERMIČKIH TRETMANA NA SVARLJIVOST ORGANSKE MATERIJE (SOM) KUKURUZA I SMEŠE NA BAZI KUKURUZA

U tabeli 19 su prikazani rezultati SOM netretiranog i termički tretiranih uzoraka kukuruza i smeše na bazi kukuruza određeni *in vitro* multi-enzimskom metodom i analizirana je mogućnost primene upotrebljene metode za procenu uticaja termičkih tretmana na SOM preživara.

U uzorku netretiranog kukuruza određena je SOM od 91,69% što je u skladu sa literaturnim podacima (Aufreere i Michalet-Doreau, 1988; Bailoni i sar., 2006; Kokić i sar., 2013). U netretiranoj smeši određena je nešto viša vrednost u iznosu od 93,18%, što je bilo i očekivano obzirom da je u sastav smeše ušla i sojina sačma koja ima veću SOM od kukuruza (oko 97,5%) (Aufreere i Michalet-Doreau, 1988; Kokić i sar., 2013). Statističkom obradom rezultata nije utvrđeno značajno povećanje SOM kukuruza i smeše na bazi kukuruza nakon termičkih tretmana u poređenju sa netretiranim uzorcima; izuzev uzorka EK2 u kome je 100% skroba želatiniziralo nakon ekstrudiranja, a SOM je iznosila 93,65%. Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima drugih autora koji su analizirali uticaj termičkih tretmana na SOM kukuruza primenom drugih *in vitro* metoda (Bailoni i sar., 2006; Qiao i sar., 2015).

Tabela 19. Svarljivost organske materije netretiranih i termički tretiranih uzoraka kukuruza i smeša na bazi kukuruza određena *in vitro* multi-enzimskom metodom

	SOM (%)		SOM (%)
NK	91,69±0,23 ^{a*}	NS	93,18±0,85 ^{ab}
PK	92,53±0,76 ^{ab}	PS	93,02±0,51 ^{ab}
FK	92,08±0,05 ^a	FS	92,89±0,62 ^{ab}
MK1	91,54±0,83 ^a	MS1	93,22±0,52 ^{ab}
MK2	91,64±0,55 ^a	MS2	93,09±0,23 ^{ab}
MK3	91,93±0,44 ^a	MS3	92,03±0,29 ^b
EK1	92,76±0,28 ^{ab}	ES1	93,41±0,69 ^a
EK2	93,65±0,27 ^b	ES2	93,61±0,52 ^a
EK3	92,89±0,23 ^{ab}	ES3	93,66±0,47 ^a
EK4	91,98±0,76 ^a		

NK - netretiran kukuruz; **PK** - peletiran kukuruz; **FK** - parno flekičan kukuruz; **MK1-MK3** - mikroniziran kukuruz; **EK1-EK4** - ekstrudiran kukuruz

NS - netretirana smeša; **PS** - peletirana smeša; **FS** - parno flekičan kukuruz + peleta bez kukuruza; **MS1-MS3** - mikroniziran kukuruz + peleta bez kukuruza; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

Prikazani rezultati su srednja vrednost 3 ponavljanja ± SD

*Različite slovne oznake označavaju statistički značajne razlike, $p < 0,05$

U radu Qiao i sar. (2015) tretman parnog flekičenja nije doveo do statistički značajnog povećanja SOM kukuruza i pšenice (određeno tehnikom produkcije gasa), dok je kod pirinča, koji inače ima nižu SOM od kukuruza i pšenice, povećanje SOM bilo značajno ($p < 0,05$). Bailoni i sar. (2006) takođe navode da tretmani parnog flekičenja i ekstrudiranja nisu uticali na promenu *in vitro* SOM kukuruza (određeno pepsin-celulaza tehnikom), dok je povećanje zabeleženo za ječam i ovas. U studiji izvedenoj od strane Solanas i sar. (2005) ekstrudiranje potpune smeše za telad nije dovelo do povećanja *in vivo* SOM. U radu Cooper i sar. (2002) SOM suvo valjanog kukuruza određena *in vivo* je iznosila

84,6%, dok je nakon parnog flekičenja povećana na 88,1%. Primenom formule (1) za preračunavanje *in vitro* u *in vivo* SOM koja se koristi u Danskoj dobija se vrednost od 84,88% *in vivo* SOM za uzorak NK što je u skladu sa rezultatima Cooper i sar. (2002) za suvo valjan kukuruz. Povećanje *in vivo* SOM termički tretiranog kukuruza koje je objavljeno u radu Cooper i sar. (2002) je verovatno bilo moguće zabeležiti zbog primene *in vivo* metode koja je referentna metoda za SOM. Pregledom dostupne literature ustanovljeno je da različite *in vitro* metode nisu u mogućnosti da zabeleže promenu SOM kukuruza nakon termičkih tretmana što se može objasniti velikom svarljivošću samog kukuruza koja prelazi 90%. U budućim istraživanjima trebalo bi analizirati uzorke sa nižom SOM kao što su sirak, ovas, ječam i pšenica i utvrditi da li upotrebljena *in vitro* multi-enzimska metoda može da se koristi za procenu uticaja termičkih tretmana na SOM kod preživara.

5.8. ANALIZA REZULTATA

5.8.1. KORELACIONA ANALIZA

Statistički značajne korelacije su ustanovljene između fizičko-hemijskih osobina, karakteristika želatinizacije, pastiranja i svarljivosti organske materije netretiranog, peletiranog, parno flekičanog, mikroniziranog i ekstrudiranog kukuruza (tabela 20). WAI je u pozitivnoj korelaciji sa WSI ($r = 0,575$, $p < 0,10$), što je u skladu sa rezultatima Sandhu i Singh (2007) koji su objavili da su moć bubrenja i rastvorljivost u značajnoj pozitivnoj korelaciji analizom skrobova različitih sorti kukuruza ($r = 0,582$, $p < 0,05$). T_o , T_p i T_e su u negativnoj korelaciji sa WSI, PV i SOM na nivou $p < 0,01$, a sa SŽ na nivou $p < 0,05$, dok je korelacija navedenih parametara želatinizacije pozitivna sa T_g na nivou $p < 0,01$, MV na nivou $p < 0,05$ i FV na nivou $p < 0,10$. SŽ je u pozitivnoj korelaciji sa WAI na nivou $p < 0,01$, a sa WSI, PV i SOM na nivou $p <$

0,05, dok je u negativnoj sa MV na nivou $p < 0,01$, a sa T_g i FV na nivou $p < 0,05$. WAI je u pozitivnoj korelaciji sa PV na nivou $p < 0,05$, SOM na nivou $p < 0,10$, a u negativnoj sa MV i FV na nivou $p < 0,05$. Slično kao i WAI, WSI je u pozitivnoj korelaciji sa PV i SOM na nivou $p < 0,01$, dok je u negativnoj sa T_g i MV na nivou $p < 0,01$, a sa FV na nivou $p < 0,05$. Analizom dobijenih rezultata ustanovljene su međusobne veze parametara pastiranja. T_g je u pozitivnoj korelaciji sa MV na nivou $p < 0,01$, i sa FV na nivou $p < 0,05$, dok je u negativnoj sa PV na nivou $p < 0,01$. PV je u negativnoj korelaciji sa MV i FV na nivou $p < 0,05$, dok je MV u pozitivnoj korelaciji sa FV na nivou $p < 0,01$.

Tabela 20. Korelaciona analiza različitih fizičko-hemijskih karakteristika i svarljivosti netretiranog i termički tretiranog kukuruza

	WSI	T_g	PV	MV	FV	T_o	T_p	T_e	SŽ	SOM
WAI	0,575**	-0,502	0,642*	-0,750*	-0,723*	-0,414	-0,426	-0,414	0,818+	0,601**
WSI		-0,984+	0,935+	-0,798+	-0,743*	-0,963+	-0,968+	-0,967+	0,764*	0,821+
T_g			-0,935+	0,779+	0,639*	0,993+	0,994+	0,992+	-0,760*	-0,821+
PV				-0,764*	-0,675*	-0,922+	-0,926+	-0,924+	0,758*	0,826+
MV					0,844+	0,729*	0,728*	0,724*	-0,940+	-0,629**
FV						0,582**	0,590**	0,592**	-0,722*	-0,495
T_o							0,999+	0,999+	-0,703*	-0,782+
T_p								1,000+	-0,705*	-0,785+
T_e									-0,695*	-0,776+
SŽ										0,713*

WAI – indeks apsorpcije vode; **WSI** – indeks rastvorljivosti u vodi; **T_g** – temperatura želatinizacije; **PV** – početni viskozitet; **MV** – maksimalni viskozitet; **FV** – finalni viskozitet; **T_o** – početna temperatura; **T_p** – temperatura pika; **T_e** – završna temperatura; **SŽ** – stepen želatinizacije; **SOM** – svarljivost organske materije

*Korelacije su statistički značajne na nivou $p < 0,01$

*Korelacije su statistički značajne na nivou $p < 0,05$

**Korelacije su statistički značajne na nivou $p < 0,10$

Korelacije koje nisu označene nisu statistički značajne

U tabeli 21 su prikazane uočene korelacije različitih fizičko-hemijskih karakteristika i svarljivosti netretirane i termički tretiranih

smeša. Analizom podataka prikazanih u tabeli 21 može se primetiti da su korelacije različitih fizičko-hemijskih karakteristika koje su uočene za uzorke kukuruza potvrđene i za uzorke analiziranih smeša na bazi kukuruza, tako da se pomenute korelacije neće ponovo analizirati. a_{SK} je u pozitivnoj korelaciji sa WAI na nivou $p < 0,05$, WSI i SŽ na nivou $p < 0,10$, dok je sa MV i FV u negativnoj na nivou $p < 0,01$. c_{SK} je u pozitivnoj korelaciji sa PV na nivou $p < 0,01$, SŽ na nivou $p < 0,05$, WAI i WSI na nivou $p < 0,10$, dok je u negativnoj sa T_g , T_o , T_p i T_e na nivou $p < 0,01$. $EfRSK$ je u pozitivnoj korelaciji sa PV i SŽ na nivou $p < 0,05$, WAI na nivou $p < 0,10$, dok je sa T_g , MV, T_o , T_p i T_e u negativnoj na nivou $p < 0,05$, i takođe sa FV na nivou $p < 0,10$. a_{SM} je u pozitivnoj korelaciji sa WAI na nivou $p < 0,01$, SŽ na nivou $p < 0,05$, WSI na nivou $p < 0,10$, dok je u negativnoj sa MV na nivou $p < 0,05$ i FV na nivou $p < 0,10$. c_{SM} je u pozitivnoj korelaciji sa PV na nivou $p < 0,10$, dok je sa T_g , T_o , T_p i T_e u negativnoj na nivou $p < 0,05$. $EfRSM$ je u pozitivnoj korelaciji sa PV na nivou $p < 0,05$, SŽ na nivou $p < 0,10$, dok je u negativnoj sa T_g , T_o , T_p i T_e na nivou $p < 0,01$.

Tabela 21. Korelaciona analiza različitih fizičko-hemijskih karakteristika i svarljivosti netretirane i termički tretiranih smeša hrane za krave

	WSI	T _g	PV	MV	FV	T _o	T _p	T _e	SŽ	a _{SK}	CSK	EfRSK	a _{SM}	CSM	EfRSM
WAI	0,832 ⁺	-0,786 [*]	0,816 ⁺	-0,935 ⁺	-0,773 [*]	-0,700 [*]	-0,699 [*]	-0,689 [*]	0,948 ⁺	0,762 [*]	0,607 ^{**}	0,626 ^{**}	0,854 ⁺	0,406	0,473
WSI		-0,907 ⁺	0,963 ⁺	-0,816 ⁺	-0,708 [*]	-0,894 ⁺	-0,904 ⁺	-0,903 ⁺	0,747 [*]	0,661 ^{**}	0,647 ^{**}	0,521	0,602 ^{**}	0,445	0,553
T _g			-0,980 ⁺	0,796 [*]	0,627 ^{**}	0,989 ⁺	0,987 ⁺	0,985 ⁺	-0,805 ⁺	-0,436	-0,894 ⁺	-0,773 [*]	-0,445	-0,747 [*]	-0,812 ⁺
PV				-0,815 ⁺	-0,675	-0,974 ⁺	-0,976 ⁺	-0,974 ⁺	0,783 [*]	0,529	0,809 ⁺	0,684 [*]	0,495	0,656 ^{**}	0,732 [*]
MV					0,914 ⁺	0,725 [*]	0,717 [*]	0,718 [*]	-0,926 ⁺	-0,834 ⁺	-0,631 ^{**}	-0,761 [*]	-0,767 [*]	-0,471	-0,546
FV						0,577	0,573	0,580	-0,731 [*]	-0,870 ⁺	-0,473	-0,621 ^{**}	-0,598 ^{**}	-0,354	-0,334
T _o							0,999 ⁺	0,999 ⁺	-0,713 [*]	-0,367	-0,883 ⁺	-0,732 [*]	-0,331	-0,758 [*]	-0,818 ⁺
T _p								0,999 ⁺	-0,705 [*]	-0,366	-0,876 ⁺	-0,709 [*]	-0,334	-0,745 [*]	-0,803 ⁺
T _e									-0,698 [*]	-0,375	-0,868 ⁺	-0,713 [*]	-0,324	-0,740 [*]	-0,804 ⁺
SŽ										0,652 ^{**}	0,699 [*]	0,785 [*]	0,770 [*]	0,555	0,620 ^{**}
a _{SK}											0,129	0,325	0,791 [*]	-0,067	0,040
CSK												0,857 ⁺	0,221	0,925 ⁺	0,885 ⁺
EfRSK													0,335	0,849 ⁺	0,876 ⁺
a _{SM}														-0,022	0,155
CSM															0,914 ⁺

WAI – indeks apsorpcije vode; **WSI** – indeks rastvorljivosti u vodi; **T_g** – temperatura želatizacije; **PV** – početni viskozitet; **MV** – maksimalni viskozitet; **FV** – finalni viskozitet; **T_o** – početna temperatura; **T_p** – temperatura pika; **T_e** – završna temperatura; **SŽ** – stepen želatizacije; **a_{SK}** – brzo razgradiv skrob; **CSK** – brzina razgradnje sporo razgradivog skroba; **EfRSK** – efektivna razgradivost skroba; **a_{SM}** – brzo razgradiva suva materija; **CSK** – brzina razgradnje sporo razgradive suve materije; **EfRSK** – efektivna razgradivost suve materije;

⁺Korelacije su statistički značajne na nivou p<0,01

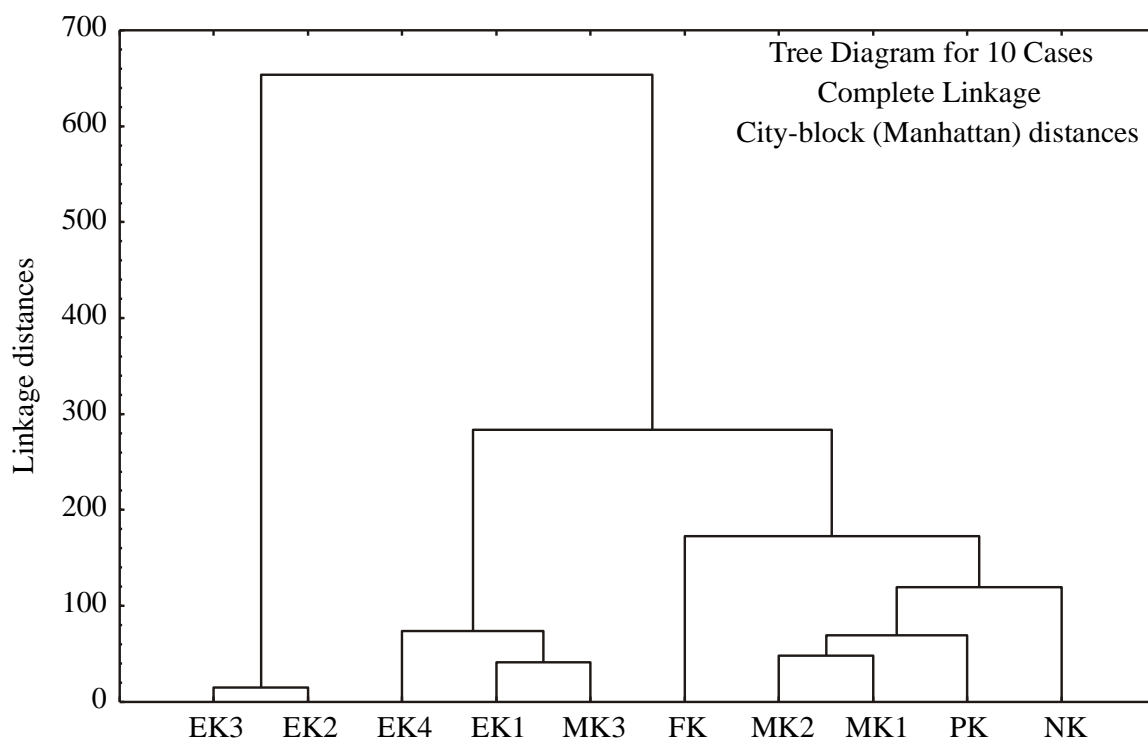
^{*}Korelacije su statistički značajne na nivou p<0,05

^{**}Korelacije su statistički značajne na nivou p<0,10

Korelacije koje nisu označene nisu statistički značajne

5.8.2. KLASTERSKA ANALIZA

Na slici 16 i 17 su prikazani dendogrami klusterske analize za testirane uzorke. Računate su ukupne povezanosti tačaka (*engl. complete linkage*), a rastojanja između tačaka u 19-dimenzionalnom koordinatnom prostoru su merena korišćenjem City-block (Manhattan) algoritma. City-block udaljenosti, koje se prikazuju na ordinatnoj osi grafika, su merene kao srednje razlike između dimenzija različitih uzoraka. Merenje udaljenosti City-block algoritmom daje rezultate slične Euklidskom merenju, ali je to merenje pogodnije zato što je smanjen uticaj pojedinačnih velikih udaljenosti (autlajer, *engl. outlier*), pošto se ne računaju kvadrati vrednosti pojedinačnih koordinata.

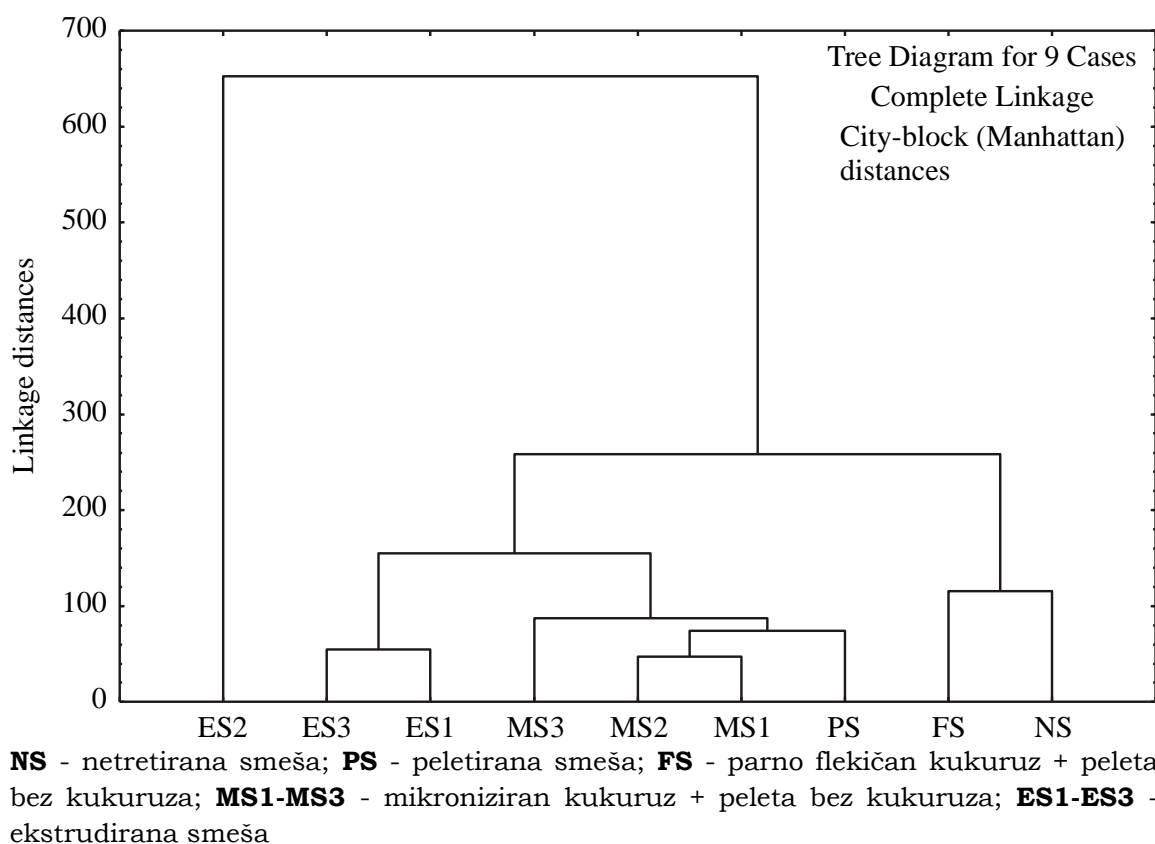


NK - netretiran kukuruz; **PK** - peletiran kukuruz; **FK** - parno flekičan kukuruz; **MK1-MK3** - mikroniziran kukuruz; **EK1-EK4** - ekstrudiran kukuruz

Slika 16. Dendogram za CA analizu za uzorke kukuruza

Dendogram na slici 16 prikazuje CA analizu za testirane uzorke kukuruza. Na dendogramu se primećuju tri odvojena klastera; desni koji

obuhvata uzorke NK, PK, FK, MK1 i MK2 (koji imaju povećane vrednosti za MV i FV), srednju grupu uzoraka, koja obuhvata uzorke EK1, EK4 i MK3 (koji imaju smanjenje vrednosti za T_g , a povećane za T_o i T_p) i levi klaster koji obuhvata uzorke EK2 i EK3 (koji imaju povećane vrednosti za WSI, SŽ i PV, a smanjene za FV). Uočena je znatna udaljenost između prva dva klastera (oko 120), dok je klaster 3 udaljen oko 350 jedinica od prva dva klastera.



Slika 17. Dendrogram za CA analizu za uzorke smeša

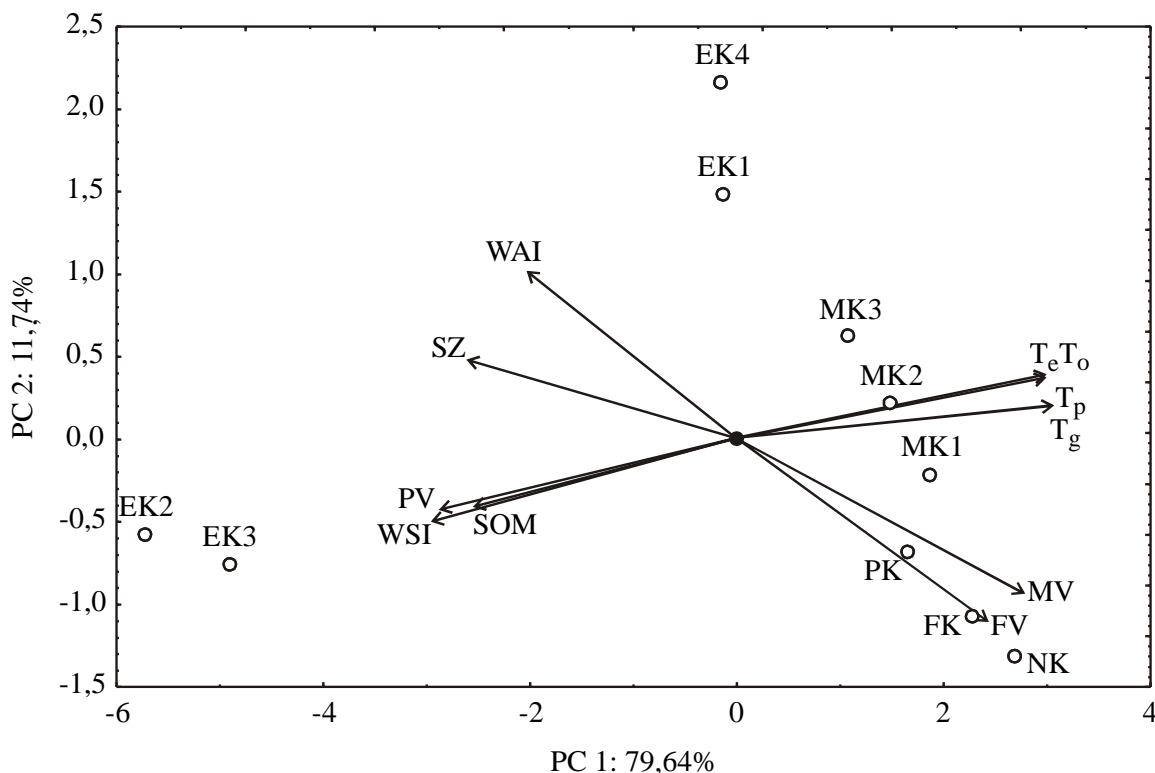
Dendrogram na slici 17 prikazuje CA analizu za testirane uzorke smeša za krave na bazi kukuruža. Na dendrogramu se primećuju dva odvojena klastera; desni koji obuhvata uzorke NS i FS (koji imaju povećane vrednosti za MV i FV, a snižene za a_{SK} i a_{SM}) i levi klaster koji obuhvata uzorke PS, MS1, MS2, MS3, ES1 i ES3 (koji imaju povećane vrednosti za a_{SK} , a_{SM} , EfRSK, a snižene za T_g). Uočena je znatna

udaljenost ova dva klastera (oko 250). Uzorak ES2 je odvojen od ostalih uzoraka i on ima povećane vrednosti za SŽ, WSI, PV a_{SK} , c_{SK} , a_{SM} i EfRSK, a smanjenu vrednost za FV.

5.8.3. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENATA (PCA)

PCA analiza omogućava da se značajno smanji broj promenljivih koje učestvuju u analizi, a omogućava i detektovanje i analizu inherentne, skrivene strukture između mernih veličina i uzoraka koji se ispituju. Celokupna matrica merenih podataka koja se sastoji od 11 merenih veličina i 10 različitih uzoraka (eksperiment 1), odnosno 17 merenih veličina i 9 različitih uzoraka (eksperiment 2), dobijenih različitim termičkim tretmanima je podvrgnuta PCA analizi. Grafički prikaz trendova i efikasnost odvajanja grupa parametara na osnovu korišćenih deskriptora prikazana je na slici 18 i 19, pri čemu su na grafiku prikazani uzorci korišćenjem prve dve glavne komponente, koje su dobijene iz PCA analize.

Na slici 18 se može videti da je izvršeno uspešno odvajanje grupa podataka za 10 uzoraka kukuruza. Kvalitativni rezultati za ovu analizu pokazuju da prve dve glavne komponente zajednički prikazuju 91,38% ukupne varijanse i da se to može smatrati dovoljnim za prikazivanje celokupnog seta eksperimentalnih podataka. Promenljive WSI (koja prikazuje 10,9% ukupne varijanse), T_g (10,7%), PV (10,4%), T_o (10,1%), T_p (10,2%) i T_e (10,1%) su bile najznačajnije za reprezentaciju prve glavne komponente, dok su doprinosi MV (10,0%), FV (15,1%) i SŽ (10,8%) bili najznačajniji za izračunavanje druge faktorske koordinate. Uticaj procesnih parametara na različite uzorke može da se oceni sa slike 18, pri čemu uzorci na levoj strani grafika imaju povećane vrednosti WAI, WSI, SŽ, PV i SOM. Uzorci na desnoj strani grafika imaju povećane vrednosti T_o , T_p , T_e i T_g , a uzorci bliski donjem desnom uglu imaju povećane vrednosti MV i FV.

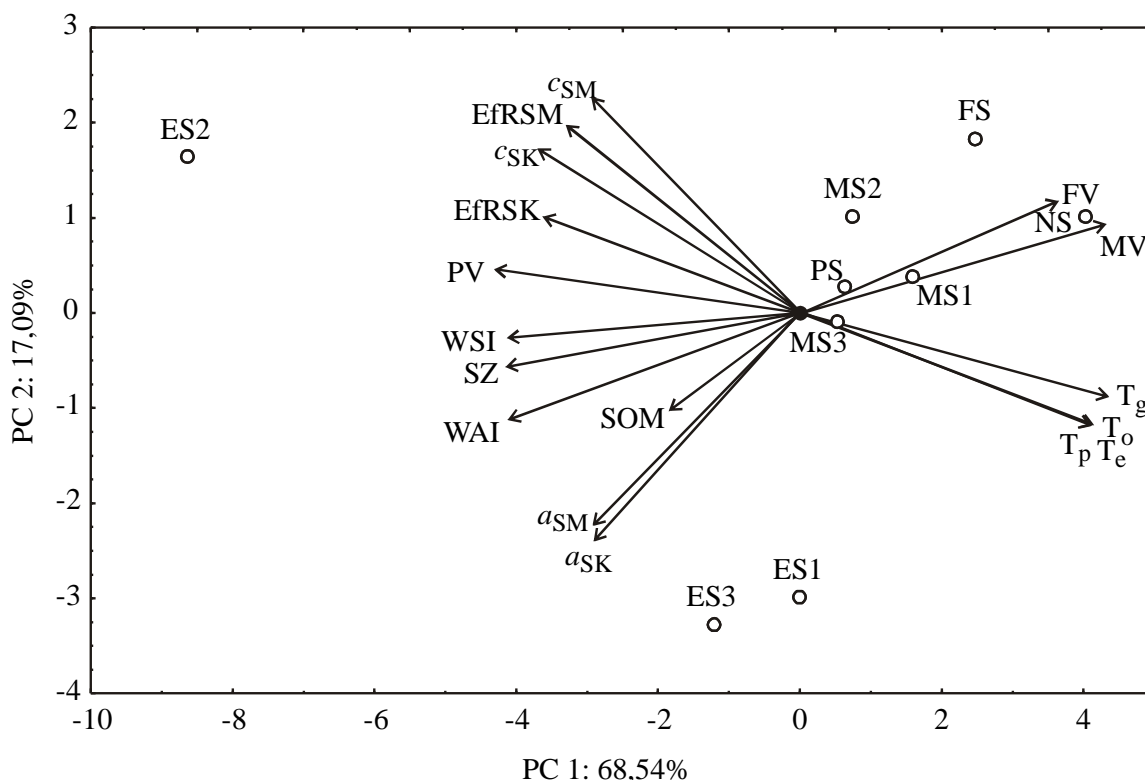


NK - netretiran kukuruz; **PK** - peletiran kukuruz; **FK** - parno flekičan kukuruz; **MK1-MK3** - mikroniziran kukuruz; **EK1-EK4** - ekstrudiran kukuruz
WAI – indeks apsorpcije vode; **WSI** – indeks rastvorljivosti u vodi; **T_g** – temperatura želatinizacije; **PV** – početni viskozitet; **MV** – maksimalni viskozitet; **FV** – finalni viskozitet; **T_o** – početna temperatura; **T_p** – temperatura pika; **T_e** – završna temperatura; **SŽ** – stepen želatinizacije; **SOM** – svarljivost organske materije

Slika 18. Biplot grafik uticaja različitih termičkih tretmana na promene skrobne komponente i svarljivost kukuruza kod preživara

Na slici 19 se može videti da je izvršeno uspešno odvajanje grupa podataka za 9 uzoraka smeša. Kvalitativni rezultati za ovu analizu pokazuju da prve dve glavne komponente zajednički prikazuju 85,63% ukupne varijanse i da se to može smatrati dovoljnim za prikazivanje celokupnog seta eksperimentalnih podataka. Promenljive T_g (koja prikazuje 8,1% ukupne varijanse), T_o (7,6%), T_p (7,5%), T_e (7,5%), WSI (7,1%), PV (8,0%) i MV (7,1%) su bile najznačajnije za reprezentaciju prve glavne komponente, dok su doprinosi a_{SK} (19,4%), a_{SM} (16,8%), c_{SM} (14,2%) i EfRSM (10,3%) bili najznačajniji za izračunavanje druge faktorske koordinate. Uticaj procesnih parametara na različite uzorke

može da se oceni sa slike 19, pri čemu uzorci na levoj strani grafika imaju povećane vrednosti a_{SK} , c_{SK} , $EfRSK$, a_{SM} , c_{SM} , $EfRSM$, WAI , WSI , $SŽ$, PV i SOM , a uzorci na desnoj strani grafika imaju povećane vrednosti MV , FV , T_g , T_o , T_p i T_e .



NS - netretirana smeša; **PS** - peletirana smeša; **FS** - parno flekičan kukuruž + peleta bez kukuruža; **MS1-MS3** - mikroniziran kukuruž + peleta bez kukuruža; **ES1-ES3** - ekstrudirana smeša

WAI - indeks apsorpcije vode; **WSI** - indeks rastvorljivosti u vodi; **T_g** - temperatura želatinizacije; **PV** - početni viskozitet; **MV** - maksimalni viskozitet; **FV** - finalni viskozitet; **T_o** - početna temperatura; **T_p** - temperatura pika; **T_e** - završna temperatura; **SŽ** - stepen želatinizacije; **a_{SK}** - brzo razgradiv skrob; **c_{SK}** - brzina razgradnje sporo razgradivog skroba; **EfRSK** - efektivna razgradivost skroba; **a_{SM}** - brzo razgradiva suva materija; **c_{SM}** - brzina razgradnje sporo razgradive suve materije; **EfRSM** - efektivna razgradivost suve materije;

Slika 19. Biplot grafik uticaja različitih termičkih tretmana na promene skrobne komponente i svarljivost smeša kod preživara

Poglavlje 6

Zaključak

Na osnovu rezultata prikazanih u okviru ove disertacije mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Stepen želatinizacije skroba:

- Analizom uzoraka termički tretiranog kukuruza određen je najmanji SŽ u uzorku koji nije bio kondicioniran pre tretmana mikronizacije (26,20%), dok je kondicioniranje zrna preostala dva uzorka kukuruza uticalo na značajno povećanje SŽ koji je iznosio 51,74 i 64,32%. Peletiranje kukuruza je dovelo do želatinizacije 35,64%, a parno flekičenje 42,51% skroba. Tretman ekstrudiranja se pokazao kao najefikasniji u narušavanju strukture skrobne granule pa je nakon primenjenog tretmana pri određenim parametrima procesa u dva uzorka ekstrudiranog kukuruza želatiniziralo 68,62 i 79,11% skroba. Veće sile smicanja i duže vreme zadržavanja materijala unutar cevi ekstrudera pri zadatim uslovima ekstrudiranja su doveli do potpune želatinizacije skroba (100%) u preostala dva uzorka ekstrudiranog kukuruza.
- Analizom uzoraka termički tretiranih smeša određen je najmanji SŽ u smeši koja je sadržala mikronizirani kukuruz (34,65%). Kondicioniranje zrna kukuruza pre mikronizacije je dovelo do povećanja SŽ u preostale dve smeše (43,50 i 54,12%). SŽ smeše

koja je sadržala parno flekičan kukuruz je bio 43,50%. Peletiranjem kompletne smeše želatiniziralo je 50,42% skroba. SŽ skroba tri ekstrudirane smeše se kretao u rasponu 56,50-100% u zavisnosti od primenjenih parametara procesa.

2. Indeks apsorpcije vode (WAI):

- Analizom uzoraka kukuruza određena je najniža vrednost WAI u uzorku netretiranog kukuruza (2,77 g/g) u kojem se skrob nalazio u nativnim obliku. Peletiranje, parno flekičenje i mikronizacija kukuruza su doveli do umerenog povećanja WAI i to u približnoj istoj meri (3,30-3,90 g/g). Nakon ekstrudiranja zabeležene su najveće vrednosti WAI (5,50-7,34 g/g) što ukazuje na veći stepen oštećenja granula skroba kukuruza.
- Analizom uzoraka smeša određena je najniža vrednost WAI u uzorku netretirane smeše (3,13 g/g). Svi primenjeni termički tretmani su doveli do povećanja WAI koji se kretao u rasponu od 4,03 do 6,49 g/g. Najveća vrednost WAI (6,49 g/g) je zabeležena u ekstrudiranoj smeši u kojoj je 100% skroba želatiniziralo.

3. Indeks rastvorljivosti u vodi (WSI):

- U uzorku netretiranog kukuruza WSI je iznosio 6,20 g/100g. Najniža vrednost WSI je određena u uzorku parno flekičanog kukuruza (3,37 g/100g). WSI peletiranog i mikroniziranih uzoraka kukuruza se kretao u rasponu 5,35-6,11 g/100g. Kod ekstrudiranih uzoraka kukuruza WSI se kretao u rasponu 7,74-21,26 g/100g, a veliko povećanje WSI u poređenju sa netretiranim kukuruzom (više od 3 puta) ukazuje na dekstrinizaciju skroba.
- Analizom netretirane i termički tretiranih smeša određen je WSI koji se kretao u rasponu 7,85-13,94 g/100g. Statistički značajno povećanje vrednosti WSI u odnosu na sve ostale analizirane smeše je zabeleženo u jednom uzorku ekstrudirane smeše u kojoj je 100% skroba želatiniziralo a u kojoj je WSI iznosio 13,94 g/100g.

4. Karakteristike pastiranja:

- Parno flekičenje, mikronizacija, peletiranje i ekstrudiranje su uticali na pojavu značajnih razlika u karakteristikama pastiranja analiziranog kukuruza. Kod uzoraka ekstrudiranog kukuruza u kojima je 100% skroba želatiniziralo nije došlo do formiranja karakterističnog pika. Početni viskozitet netretiranog kukuruza je iznosio 1,07 Pa·s, dok je kod peletiranog, parno flekičanog i mikroniziranog kukuruza došlo do smanjenja početnog viskoziteta (0,42-0,80 Pa·s). U svim uzorcima ekstrudiranog kukuruza zabeleženo je povećanje početnog viskoziteta (2,71-19,90 Pa·s) u poređenju sa netretiranim kukuruzom. Najveća vrednost maksimalnog viskoziteta (68,06 Pa·s) i temperatura želatinizacije (77,72°C) su određeni u uzorku netretiranog kukuruza. Nakon primenjenih termičkih tretmana došlo je do pada maksimalnog viskoziteta i temperature želatinizacije zbog delimične želatinizacije skroba u svim analiziranim uzorcima kukuruza u poređenju sa netretiranim.
- Analizom krive pastiranja netretirane smeše na bazi kukuruza zapaženo je značajno smanjenje dobijenih vrednosti maksimalnog i finalnog viskoziteta, u poređenju sa krivom pastiranja netretiranog kukuruza, što je posledica smanjenja udela skroba u analiziranoj smeši. Osim navedenog, takođe se može primetiti i uticaj ostalih komponenata smeše koje mogu da apsorbuju vodu (suncokretova i sojina sačma) i na taj način smanje količinu vode dostupnu za bubrenje skroba, ili fizički zaštite granule i otežaju prodiranje vode pa samim tim i bubrenje.

5. Mikrostruktura kukuruza:

- Najveću promenu u morfologiji granula skroba je izazvao tretman ekstrudiranja što je utvrđeno primenom skening elektronske mikroskopije. Poređenjem slika netretiranog i ekstrudiranih uzoraka može se uočiti kompletna dezintegracija granula skroba izazvana ekstrudiranjem, praćena formiranjem velikih konglomerata koji su

različitih oblika sa relativno glatkom i mestimično hrapavom površinom. Nakon peletiranja, parnog flekičenja i mikronizacije deo skrobnih granula je ostao netaknut, dok su preostale granule želatinizirale pa je došlo do formiranja grumena različitih veličina.

6. Svarljivost suve materije i skroba smeša u buragu:

- *In situ* metodom su za uzorak netretirane smeše određene najniže vrednosti nestajanja SM i skroba u buragu nakon inkubacije u trajanju od 3, 9, 16, 24 i 48h, dok su svi primenjeni termički tretmani doveli do značajnog povećanja razgradnje SM i skroba. Najmanje povećanje razgradnje skroba je zabeleženo kod smeše koja je sadržala parno flekičan kukuruz gde je do 9h inkubacije stepen razgradnje skroba bio isti, a nakon 9h veći u poređenju sa netretiranom smešom. U svim uzorcima smeša koje su dobijene tretmanom ekstrudiranja došlo je do razgradnje velike količine skroba već tokom prva 3h inkubacije.
- U uzorku netretirane smeše vrednost brzo razgradive frakcije skroba a_{SK} je bila 34,7%, dok je brzina razgradnje skroba c_{SK} bila $0,0379h^{-1}$. U buragu krave se razgradilo 57,89% skroba netretirane smeše, odnosno oko 40% skroba je prešlo u creva. U poređenju sa netretiranom smešom, u svim termički tretiranim smešama su određene veće vrednosti a_{SK} (36,0-67,9%), izuzev u smeši koja je sadržala parno flekičan kukuruz (24,9%). Nakon primenjenih termičkih tretmana došlo je do povećanja c_{SK} svih uzoraka u poređenju sa netretiranom smešom, a određene su vrednosti u rasponu od 0,0522 do $0,0936h^{-1}$. Primenjeni termički tretmani su doveli do povećanja količine skroba koji se razgradi u buragu. Najmanje povećanje $EfRSK$ u poređenju sa netretiranom smešom u iznosu od 16% je zabeleženo nakon primene tretmana parnog flekičenja, dok je najveće u iznosu od 45% zabeleženo nakon tretmana ekstrudiranja. Najveće vrednosti a_{SK} (67,9%), c_{SK} ($0,0936h^{-1}$) i $EfRSK$ (83,92%) su određene u ekstrudiranoj smeši u kojoj je stepen želatinizacije bio 100%.

7. Svarljivost skroba u crevima:

- *Mobile bag* metodom određena je svarljivost skroba u crevima koja je u netretiranoj i svim termički tretiranih smešama iznosila 100%.

8. Svarljivost organske materije (SOM):

- *In vitro* multi-enzimskom metodom određena je SOM netretiranog kukuruza i netretirane smeše u iznosu od 91,69% i 93,18%, respektivno. Statističkom obradom rezultata nije utvrđeno značajno povećanje SOM kukuruza i smeše nakon primenjenih termičkih tretmana u poređenju sa netretiranim uzorcima. Stoga, primenjena *in vitro* metoda nije u mogućnosti da zebeleži promenu SOM analiziranih uzoraka nakon termičkih tretmana zbog velike svarljivosti samog kukuruza koja prelazi 90%.

9. Na osnovu dobijenih rezultata o uticaju različitih termičkih tretmana na promene skrobne komponente može se zaključiti da su parno flekičenje, mikronizacija i peletiranje blagi tretmani, dok je ekstrudiranje oštiji tretman koji dovodi do potpunije želatinizacije i narušavanja strukture granula skroba.

10. Od svih primenjenih termičkih tretmana jedino je parno flekičenje dovelo do smanjenja brzo razgradive frakcije skroba u buragu krava, pa se sa aspekta zdravlja životinja i smanjenja pojave acidoze kod preživara upravo ovaj tretman može preporučiti za preradu kukuruza.

11. Dobijeni rezultati brzine i stepena razgradnje skroba kukuruza u buragu krava nakon primenjenih tretmana parnog flekičenja, mikronizacije, peletiranja i ekstrudiranja mogu da se iskoriste u kompjuterskim programima za pravljenje receptura za obroke životinja odnosno za sinhronizovanje dostupnosti fermentabilnih ugljenih hidrata i izvora azota u buragu.

Literatura

- Aarseth, K.A., Prestløkken, E., 2003. Mechanical Properties of Feed Pellets: Weibull Analysis. *Biosystems Engineering* 84, 349-361.
- Adesogan, A.T., 2002. What are feeds worth?: A critical evaluation of selected nutritive value methods, *Proceedings 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium*, pp. 33-47.
- Aerts, J.V., De Brabander, D.L., Cottyn, B.G., Buysse, F.X., 1977. Comparison of laboratory methods for predicting the organic matter digestibility of forages. *Animal Feed Science and Technology* 2, 337-349.
- Aini, N., Purwiyatno, H., 2010. Gelatinization properties of white maize starch from three varieties of corn subject to oxidized and acetylated-oxidized modification. *International Food Research Journal* 17, 961-968.
- Akerlind, M., Weisbjerg, M., Eriksson, T., Togersen, R., Uden, P., Olafsson, B., Harstad, O., Volden, H., 2011. Feed analysis and digestion methods, In: Volden, H. (Ed.), *Norfor – the Nordic feed evaluation system*, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, pp. 41-54.
- Al-Rabadi, G.J., Torley, P.J., Williams, B.A., Bryden, W.L., Gidley, M.J., 2011. Particle size of milled barley and sorghum and physico-chemical properties of grain following extrusion. *Journal of Food Engineering* 103, 464-472.
- Aldrich, J.M., Muller, L.D., Varga, G.A., Griel, L.C., 1993. Nonstructural Carbohydrate and Protein Effects on Rumen Fermentation, Nutrient Flow, and Performance of Dairy Cows. *Journal of dairy science* 76, 1091-1105.
- Alonso, R., Aguirre, A., Marzo, F., 2000. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chemistry* 68, 159-165.
- Altan, A., McCarthy, K., Maskan, M., 2009. Effect of Extrusion Cooking on Functional Properties and in vitro Starch Digestibility of Barley-Based Extrudates from Fruit and Vegetable By-Products. *Journal of Food Science* 74, E77-E86.
- Altay, F., Gunasekaran, S., 2006. Influence of drying temperature, water content, and heating rate on gelatinization of corn starches. *Journal of agricultural and food chemistry* 54, 4235-4245.
- Anderson, R., Conway, H., Peplinski, A., 1970. Gelatinization of corn grits by roll cooking, extrusion cooking and steaming. *Starch-Stärke* 22, 130-135.

- Andrighetto, I., Gruber, L., Cozzi, G., Uray, G., Guidetti, G., Buchgraber, K., 1992. Prediction of digestible organic matter in dry matter in vivo from the chemical composition, in vitro and in situ measurements on native mountain forages. *Animal Feed Science and Technology* 39, 323-333.
- Anguita, M., Gasa, J., Martín-Orúe, S.M., Pérez, J.F., 2006. Study of the effect of technological processes on starch hydrolysis, non-starch polysaccharides solubilization and physicochemical properties of different ingredients using a two-step in vitro system. *Animal Feed Science and Technology* 129, 99-115.
- Aparicio, C., Resa, P., Elvira, L., Molina-García, A.D., Martino, M., Sanz, P.D., 2009. Assessment of starch gelatinization by ultrasonic and calorimetric techniques. *Journal of Food Engineering* 94, 295-299.
- Armbruster, S., 2006. Steam flaking grains for feedlot cattle: A consultant's perspective, *Proc. Cattle Grain Processing Symp.*, Tulsa, OK, pp. 46-55.
- Aufrere, J., Michalet-Doreau, B., 1988. Comparison of methods for predicting digestibility of feeds. *Animal Feed Science and Technology* 20, 203-218.
- Bailoni, L., Mantovani, R., Pagnin, G., Schiavon, S., 2006. Effects of physical treatments on the resistant starch content and in vitro organic matter digestibility of different cereals in horses. *Livestock Science* 100, 14-17.
- Baks, T., Ngene, I.S., van Soest, J.J.G., Janssen, A.E.M., Boom, R.M., 2007. Comparison of methods to determine the degree of gelatinisation for both high and low starch concentrations. *Carbohydrate Polymers* 67, 481-490.
- Bdour, M.A., Al-Rabadi, G.J., Al-Ameiri, N.S., Mahadeen, A.Y., Aaludatt, M.H., 2014. Microscopic analysis of extruded and pelleted barley and sorghum grains. *Jordan Journal of Biological Sciences* 7, 227-231.
- Behnke, K.C., 1996. Feed manufacturing technology: current issues and challenges. *Animal Feed Science and Technology* 62, 49-57.
- Bekrić, V., 1997. Upotreba kukuruza. Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd - Zemun.
- Bello-Perez, L.A., Paredes-López, O., 2009. Starches of some food crops, changes during processing and their nutraceutical potential. *Food Engineering Reviews* 1, 50-65.
- Biliaderis, C.G., 1991. The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 69, 60-78.
- Blazek, J., Gilbert, E.P., 2010. Effect of Enzymatic Hydrolysis on Native Starch Granule Structure. *Biomacromolecules* 11, 3275-3289.

- Boškov, Ž., 1979. Osnovi tehnologije skroba, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Boychuk, J.L.L., 1997. Evaluation of micronized dehulled barley for pigs and broiler chickens, University of Manitoba.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., Ball, S., 1998. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules* 23, 85-112.
- Butrim, S., Litvyak, V., Moskva, V., 2009. A study of physicochemical properties of extruded starches of varied biological origin. *Russian Journal of Applied Chemistry* 82, 1195-1199.
- Cattani, M., 2011. *In situ* and *in vitro* techniques for studying rumen fermentations: methodology and applications, PhD thesis, University of Padova.
- Cerneau, P., Michalet-Doreau, B., 1991. In situ starch degradation of different feeds in the rumen. *Reproduction Nutrition Development*, EDP Sciences 31, 65-72.
- Cerrilla, M.E.O., Martinez, G.M., 2003. Starch digestion and glucose metabolism in the ruminant: A review. *Interciencia* 28, 380-386.
- Chaiwanichsiri, S., Ohnishi, S., Suzuki, T., Takai, R., Miyawaki, O., 2001. Measurement of electrical conductivity, differential scanning calorimetry and viscosity of starch and flour suspensions during gelatinisation process. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81, 1586-1591.
- Chen, K.H., Huber, J.T., Theurer, C.B., Swingle, R.S., Simas, J., Chan, S.C., Wu, Z., Sullivan, J.L., 1994. Effect of Steam Flaking of Corn and Sorghum Grains on Performance of Lactating Cows. *Journal of Dairy Science* 77, 1038-1043.
- Chesson, A., Fuller, M.F., Alldrick, A., 2002. Wheat and barley in pig and poultry diets: effects of physical processing and enzymes; assessment of nutritive value, Home Grown Cereals Authority.
- Chinma, C.E., Igyor, M.A., 2008. Starch Gelatinization, Total Bacterial Counts and Sensory Evaluation of Deep Fried Cassava Balls (Akara-Akpu). *American Journal of Food Technology* 3, 257-263.
- Chrenková, M., Čerešňáková, Z., Formelová, Z., Poláčiková, M., Mlyneková, Z., Flak, P., 2012. Chemical and nutritional characteristics of different types of DDGS for ruminants. *Journal of Animal and Feed Sciences* 21, 425-435.
- Cooper, R., Milton, C., Klopfenstein, T.J., Scott, T., Wilson, C., Mass, R., 2002. Effect of corn processing on starch digestion and bacterial crude protein flow in finishing cattle. *Journal of Animal Science* 80, 797-804.
- Coral, D., Pineda-Gómez, P., Rosales-Rivera, A., Rodriguez-Garcia, M., 2009. Determination of the gelatinization temperature of starch

- presented in maize flours, *Journal of Physics: Conference Series*, IOP Publishing, p. 012057.
- Čolović, R., 2013. Uticaj dodatka biljnih proteinskih koncentrata u hranu za životinje na kvalitet peleta, doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- De Boer, G., Murphy, J.J., Kennelly, J.J., 1987. Mobile Nylon Bag for Estimating Intestinal Availability of Rumen Undegradable Protein. *Journal of dairy science* 70, 977-982.
- De Boever, J.L., Cottyn, B.G., Andries, J.I., Buysse, F.X., Vanacker, J.M., 1988. The use of a cellulase technique to predict digestibility, metabolizable and net energy of forages. *Animal Feed Science and Technology* 19, 247-260.
- De Boever, J.L., Cottyn, B.G., Buysse, F.X., Wainman, F.W., Vanacker, J.M., 1986. The use of an enzymatic technique to predict digestibility, metabolizable and net energy of compound feedstuffs for ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 14, 203-214.
- Deckardt, K., Khol-Parisini, A., Zebeli, Q., 2013. Peculiarities of Enhancing Resistant Starch in Ruminants Using Chemical Methods: Opportunities and Challenges. *Nutrients* 5, 1970-1988.
- Di Paola, R.D., Asis, R., Aldao, M.A.J., 2003. Evaluation of the Degree of Starch Gelatinization by a New Enzymatic Method. *Starch - Stärke* 55, 403-409.
- Dogan, H., Karwe, M., 2003. Physicochemical properties of quinoa extrudates. *Food Science and Technology International* 9, 101-114.
- Dokić, L., 2013. Tehnologija skroba. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Domby, E.M., 2013. Interactive effects of bulk density of steam-flaked corn and concentration of sweet bran wet corn gluten feed on feedlot cattle performance, carcass characteristics, and apparent total tract nutrient digestibility, PhD thesis, Texas Tech University.
- Dowman, M.G., Collins, F.C., 1982. The use of enzymes to predict the digestibility of animal feeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 33, 689-696.
- Fahrenholz, C., 1998. Cereal grains and byproducts: What's in them and how are they processed?, In: Pagan, J.D. (Ed.), *Advances in Equine Nutrition*, Nottingham University Press.
- Fernández-Gutiérrez, J.A., Martín-Martínez, E.S., Martínez-Bustos, F., Cruz-Orea, A., 2004. Physicochemical Properties of Casein-Starch Interaction Obtained by Extrusion Process. *Starch/Stärke* 56, 190-198.
- Filipović, S., Kormanjoš, Š., Sakač, M., Filipović, J., Psodorov, Đ., Okanović, Đ., 2010. Effect of extrusion on nutritive value of animal

- feed, Thematic Proceedings of XIV Feed Technology Symposium "Extrusion technology in feed and food processing", Novi Sad, Serbia, pp. 97-116.
- Firkins, J.L., Eastridge, M.L., St-Pierre, N.R., Noftsker, S.M., 2001. Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 79, E218-E238.
- Formelová, Z., Chrenková, M., Čerešňáková, Z., Chrastinová, E., Poláčiková, M., 2012. Nutritional value of rye hybrid and its use in nutrition of ruminants, 11. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG, Wien, pp. 59-64.
- France, J., Dijkstra, J., 2005. Volatile Fatty Acid Production, In: Dijkstra, J., Forbes, J.M., France, J. (Eds.), Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism, CABI; Second edition, pp. 157-175.
- Gallant, D.J., Bouchet, B., Baldwin, P.M., 1997. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate Polymers* 32, 177-191.
- Getachew, G., Blümmel, M., Makkar, H.P.S., Becker, K., 1998. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology* 72, 261-281.
- Ghoorchi, T., Lund, P., Larsen, M., Hvelplund, T., Hansen-Møller, J., Weisbjerg, M.R., 2013. Assessment of the mobile bag method for estimation of in vivo starch digestibility. *Animal* 7, 265-271.
- Gidley, M., Sopade, P., Al-Rabadi, G., Williams, B., Black, J., 2010. Processing methods for improving the utilisation of cereal grains by pigs, Centre for Nutrition and Food Sciences, The University of Queensland.
- Goelma, J., Hof, G., Van Der Poel, A., Tamminga, S., 1996. Effect of particle size, cold pelleting, steam pelleting and expander treatment on the rumen degradability of a compound feed for ruminants. *Journal of dairy science* 7 (suppl.), 142.
- Goelma, J.O., Smits, A., Vaessen, L.M., Wemmers, A., 1999. Effects of pressure toasting, expander treatment and pelleting on in vitro and in situ parameters of protein and starch in a mixture of broken peas, lupins and faba beans. *Animal Feed Science and Technology* 78, 109-126.
- Gomez, M., Aguilera, J., 1984. A physicochemical model for extrusion of corn starch. *Journal of Food Science* 49, 40-43.
- Gonthier, C., Mustafa, A.F., Berthiaume, R., Petit, H.V., Martineau, R., Ouellet, D.R., 2004. Effects of Feeding Micronized and Extruded Flaxseed on Ruminant Fermentation and Nutrient Utilization by Dairy Cows. *Journal of dairy science* 87, 1854-1863.

- Gonzalez-Valadez, M., Munoz-Hernandez, G., Sanchez-Lopez, R., 2008. Design and evaluation of an extruder to convert crop residues to animal feed. *Biosystems Engineering* 100, 66-78.
- Gosselink, J.M.J., Dulphy, J.P., Poncet, C., Jailler, M., Tamminga, S., Cone, J.W., 2004. Prediction of forage digestibility in ruminants using in situ and in vitro techniques. *Animal Feed Science and Technology* 115, 227-246.
- Grubić, G., Adamović, M., 2003. *Ishrana visokoproizvodnih krava*, Beograd.
- Hajnal, E.J., Čolović, R., Pezo, L., Orčić, D., Vukmirović, Đ., Mastilović, J., 2016. Possibility of *Alternaria* toxins reduction by extrusion processing of whole wheat flour. *Food Chemistry* 213, 784-790.
- Hale, W.H., 1973. Influence of Processing on the Utilization of Grains (Starch) by Ruminants. *Journal of Animal Science* 37, 1075-1080.
- Han, X.-Z., Hamaker, B.R., 2001. Amylopectin Fine Structure and Rice Starch Paste Breakdown. *Journal of Cereal Science* 34, 279-284.
- Hansen-Moller, J., 2005. Personal communication, National Institute of Animal Science, Tjele, Denmark.
- Hao, X.Y., Xin, H.S., Gao, H., Zhang, X.Y., Lin, C., Xu, W.B., Wang, Y.Z., Zhang, Y.G., 2016. Relationship between the physical parameters, chemical compositions and rumen degradation kinetics parameters of certain feedstuffs for ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 211, 84-91.
- Harazim, J., Pavelek, P., 1999. Determination of crude protein and amino acids degradability by method *in sacco* in the rumen, Proceeding of international meeting "Stanovení využitelnosti živin u přežvýkavců", Opava, Slovakia, pp. 41-46.
- Harbers, L., 1975. Starch granule structural changes and amylolytic patterns in processed sorghum grain. *Journal of Animal Science* 41, 1496-1501.
- Harmon, D.L., 1993. Nutritional Regulation of Postruminal Digestive Enzymes in Ruminants. *Journal of dairy science* 76, 2102-2111.
- Harmon, D.L., McLeod, K.R., 2001. Glucose uptake and regulation by intestinal tissues: Implications and whole-body energetics. *Journal of Animal Science* 79, E59-E72.
- Harmon, D.L., Yamka, R.M., Elam, N.A., 2004. Factors affecting intestinal starch digestion in ruminants: A review. *Canadian Journal of Animal Science* 84, 309-318.
- Herceg, Z., Batur, V., Jambrak, A.R., Badanjak, M., Brnčić, S.R., Lalas, V., 2010. Modification of rheological, thermophysical, textural and some physical properties of corn starch by tribomechanical treatment. *Carbohydrate Polymers* 80, 1072-1077.

- Herrera-Saldana, R.E., Huber, J.T., Poore, M.H., 1990. Dry Matter, Crude Protein, and Starch Degradability of Five Cereal Grains. *Journal of dairy science* 73, 2386-2393.
- Holm, J., Lundquist, I., Björck, I., Eliasson, A.C., Asp, N.G., 1988. Degree of starch gelatinization, digestion rate of starch in vitro, and metabolic response in rats. *The American Journal of Clinical Nutrition* 47, 1010-1016.
- Hoseney, R.C., 1984. Chemical changes in carbohydrates produced by thermal processing. *Journal of Chemical Education* 61, 308.
- Hristov, A., Zaman, S., VanderPol, M., Szasz, P., Huber, K., Greer, D., 2007. Effect of a saponin-based surfactant and aging time on ruminal degradability of flaked corn grain dry matter and starch. *Journal of Animal Science* 85, 1459-1466.
- Huber, K.C., McDonald, A., BeMiller, J.N., 2006. Carbohydrate Chemistry, In: Hui, Y.H. (Ed.), *Handbook of food science, technology, and engineering*, CRC Press.
- Huhtanen, P., Sveinbjörnsson, J., 2006. Evaluation of methods for estimating starch digestibility and digestion kinetics in ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 130, 95-113.
- Huntington, G.B., 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal of Animal Science* 75, 852-867.
- Huntington, G.B., 2000. High starch rations for ruminant production, 11th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville, Florida, pp. 162-177.
- Huntington, G.B., Harmon, D.L., Richards, C.J., 2006. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *Journal of Animal Science* 84, E14-E24.
- Hvelplund, T., Riis Weisbjerg, M., Soegaard, K., 1999. Use of in vitro digestibility methods to estimate in vivo digestibility of straws, *Proceedings of the 26th Scientific Conference of the Tanzania Society of Animal Production*, pp. 70-79.
- Iantcheva, N., Steingass, H., Todorov, N., Pavlov, D., 1999. A comparison of in vitro rumen fluid and enzymatic methods to predict digestibility and energy value of grass and alfalfa hay. *Animal Feed Science and Technology* 81, 333-344.
- Ioworth, D., Jones, H., Hayward, M.V., 1975. The effect of pepsin pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulase solutions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 26, 711-718.
- Ishler, V., Varga, G., 2001. Carbohydrate nutrition for lactating dairy cattle. Pennsylvania State University, Code#: DAS, 01-29.

- Jones, D.I.H., Theodorou, M.K., 2000. Enzyme techniques for estimating digestibility, In: Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M. (Eds.), Forage evaluation in ruminant nutrition, pp. 155-173.
- Jovanović, R., Grubić, G., Lević, J., Janković, S., 2009. The effect of digestibility of maize hybrids on production performance of fattening young cattle. *Biotechnology in Animal Husbandry* 25, 677-686.
- Karapantsios, T.D., Sakonidou, E.P., Raphaelides, S.N., 2000. Electrical Conductance Study of Fluid Motion and Heat Transport During Starch Gelatinization. *Journal of Food Science* 65, 144-150.
- Keyserlingk, M.A.G.v., Gardner, W.C., Fisher, L.J., Shelford, J.A., 1998. A comparison of textured versus pelleted concentrates on rumen degradability, dry matter intake, milk yield and composition in lactating Holstein cows. *Canadian Journal of Animal Science* 78, 219-224.
- Kitessa, S., Irish, G.G., Flinn, P.C., 1999. Comparison of methods used to predict the *in vivo* digestibility of feeds in ruminants. *Australian Journal of Agricultural Research* 50, 825-842.
- Kljak, K., Šárka, E., Dostálek, P., Smrčková, P., Grbeša, D., 2015. Influence of physicochemical properties of Croatian maize hybrids on quality of extrusion cooking. *LWT - Food Science and Technology* 60, 472-477.
- Knowlton, K.F., 2001. High grain diets for dairy cattle, In: Corbett, J. (Ed.), *Recent advances in animal nutrition in Australia 2001*, University of New England: Armidale, NSW, pp. 19-28.
- Koch, K.B., 2008. Pelleting: a review of the process and a new ingredient, 16th Annual ASA-IM SEA Feed Technology and Nutrition Workshop, Singapore, pp. 1-12.
- Kokić, B., Palić, D., Ivanov, D., Lević, J., Spasevski, N., Đuragić, O., Čabarkapa, I., 2013. Modification of *in vitro* multi-enzymatic method for determining the organic matter digestibility of feeds. *Agro FOOD Industry Hi Tech* 24, 59-61.
- Kopčeková, J., Čerešňáková, Z., Fľak, P., Mlyneková, Z., 2010. Effect of mechanical processing of cereals on rumen starch degradability. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun.* 58, 139-146.
- Kos, J., 2014. Aflatoksini: analiza pojave, procena rizika i optimizacija metodologije određivanja u kukuruzu i mleku, doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- Kotarski, S.F., Waniska, R.D., Thurn, K.K., 1992. Starch Hydrolysis by the Ruminal Microflora. *The Journal of Nutrition* 122, 178-190.
- Krehbiel, C.R., 2014. INVITED REVIEW: Applied nutrition of ruminants: Fermentation and digestive physiology¹. *The Professional Animal Scientist* 30, 129-139.

- Kuang, Q., Xu, J., Liang, Y., Xie, F., Tian, F., Zhou, S., Liu, X., 2017. Lamellar structure change of waxy corn starch during gelatinization by time-resolved synchrotron SAXS. *Food Hydrocolloids* 62, 43-48.
- Lai, L.S., Kokini, J.L., 1991. Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion. (A review). *Biotechnology Progress* 7, 251-266.
- Larsen, M., Lund, P., Weisbjerg, M.R., Hvelplund, T., 2009. Digestion site of starch from cereals and legumes in lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 153, 236-248.
- Lazou, A., Krokida, M., 2010. Functional properties of corn and corn-lentil extrudates. *Food Research International* 43, 609-616.
- Lehmann, L., Kudryashov, E., Buckin, V., 2004. Ultrasonic monitoring of the gelatinisation of starch, In: Miguel, M., Burrows, H.D. (Eds.), *Trends in Colloid and Interface Science XVI*, Springer Berlin Heidelberg, pp. 136-140.
- Lević, J., Sredanović, S., 2010. Heat treatments in animal feed processing, Thematic Proceedings of XIV Feed Technology Symposium "Extrusion technology in feed and food processing", Institute for Food Technology, Novi Sad, Serbia, pp. 1-24.
- Lević, J., Sredanović, S., Đuragić, O., 2004. Higijenzacija hrane za životinje. *Časopis za procesnu tehniku i energetiku u poljoprivredi/PTEP* 8, 84-87.
- Liu, Q., 2005. Understanding Starches and Their Role in Foods, In: Cui, S.W. (Ed.), *Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*, CRC Press.
- Loisel, C., Maache-Rezzoug, Z., Esneault, C., Doublier, J.-L., 2006. Effect of hydrothermal treatment on the physical and rheological properties of maize starches. *Journal of Food Engineering* 73, 45-54.
- Lopez, S., 2005. *In Vitro* and *In Situ* Techniques for Estimating Digestibility, In: Dijkstra, J., Forbes, J.M., France, J. (Eds.), *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*, CABI; Second edition, pp. 87-121.
- Madsen, J., Hvelplund, T., 1994. Prediction of in situ protein degradability in the rumen. Results of a European ringtest. *Livestock Production Science* 39, 201-212.
- Mahasukhonthachat, K., Sopade, P., Gidley, M., 2010. Kinetics of starch digestion and functional properties of twin-screw extruded sorghum. *Journal of Cereal Science* 51, 392-401.
- Matsushima, J.K., 2006. History of feed processing, *Proc. Of Cattle Grain Processing Symposium*, pp. 1-16.

- McAllister, T.A., Sultana, H., 2011. Effects of Micronization on the In situ and In vitro Digestion of Cereal Grains. *Asian Australas. J. Anim. Sci* 24, 929-939.
- McLeod, K.R., Baldwin, R.L., El-Kadi, S., Harmon, D.L., 2006. Site of starch digestion: Impact on energetic efficiency and glucose metabolism in beef and dairy cattle, *Cattle Grain Processing Symposium*, Oklahoma State University, Stillwater, OK, pp. 129-136.
- McNeill, J., Potter, G., Riggs, J., Rooney, L., 1975. Chemical and physical properties of processed sorghum grain carbohydrates. *Journal of Animal Science* 40, 335-341.
- Medel, P., Latorre, M.A., de Blas, C., Lázaro, R., Mateos, G.G., 2004. Heat processing of cereals in mash or pellet diets for young pigs. *Animal Feed Science and Technology* 113, 127-140.
- Medel, P., Salado, S., De Blas, J., Mateos, G., 1999. Processed cereals in diets for early-weaned piglets. *Animal Feed Science and Technology* 82, 145-156.
- Meissner, H., Henning, P., Horn, C., Leeuw, K., Hagg, F., Fouché, G., 2010. Ruminal acidosis: a review with detailed reference to the controlling agent *Megasphaera elsdenii* NCIMB 41125. *South African Journal of Animal Science* 40, 79-100.
- Menegassi, B., Pilosof, A.M., Areas, J.A., 2011. Comparison of properties of native and extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L.–BRS Alegria) flour. *LWT-Food Science and Technology* 44, 1915-1921.
- Menke, K.H., Steingass, H., 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28, 7-55.
- Mills, J., France, J., Dijkstra, J., 1999. A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model: 1. Dietary starch characterisation and ruminal starch digestion. *Journal of Animal and Feed Sciences* 8, 291-340.
- Mohamed, R., Chaudhry, A.S., 2008. Methods to study degradation of ruminant feeds. *Nutrition Research Reviews* 21, 68-81.
- Moharrery, A., Larsen, M., Weisbjerg, M.R., 2014. Starch digestion in the rumen, small intestine, and hind gut of dairy cows—A meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology* 192, 1-14.
- Moritz, J., Parsons, A., Buchanan, N., Calvalcanti, W., Cramer, K., Beyer, R., 2005. Effect of gelatinizing dietary starch through feed processing on zero-to three-week broiler performance and metabolism. *The Journal of Applied Poultry Research* 14, 47-54.
- Mustafa, A.F., McKinnon, J.J., Christensen, D.A., He, T., 2002. Effects of micronization of flaxseed on nutrient disappearance in the

- gastrointestinal tract of steers. *Animal Feed Science and Technology* 95, 123-132.
- Nocek, J.E., Tamminga, S., 1991. Site of Digestion of Starch in the Gastrointestinal Tract of Dairy Cows and Its Effect on Milk Yield and Composition. *Journal of dairy science* 74, 3598-3629.
- Norberg, E., Volden, H., Harstad, O., 2007. Technical note: Assessment of recovery site of mobile nylon bags for measuring ileal digestibility of starch in dairy cows. *Journal of dairy science* 90, 418-421.
- Nozière, P., Michalet-Doreau, B., 2000. In Sacco Methods, In: D'Mello, J.P.F. (Ed.), *Farm Animal Metabolism and Nutrition*, CABI Pub., Oxon, pp. 233-253.
- Offner, A., Bach, A., Sauvant, D., 2003. Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Animal Feed Science and Technology* 106, 81-93.
- Offner, A., Sauvant, D., 2004. Prediction of in vivo starch digestion in cattle from in situ data. *Animal Feed Science and Technology* 111, 41-56.
- Ørskov, E.R., 1986. Starch Digestion and Utilization in Ruminants. *Journal of Animal Science* 63, 1624-1633.
- Ørskov, E.R., Hovell, F.D.D., Mould, F., 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production* 5, 195-213.
- Ørskov, E.R., McDonald, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science* 92, 499-503.
- Otchere, E.O., McGilliard, A.D., Young, J.W., 1974. Quantitation of α -linked Glucose Polymers Passing to the Small Intestine in Cattle. *Journal of dairy science* 57, 1189-1195.
- Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., Gill, D.R., 1998. Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal Science* 76, 275-286.
- Owens, F.N., Zinn, R.A., Kim, Y.K., 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *Journal of Animal Science* 63, 1634-1648.
- Ozcan, S., Jackson, D.S., 2005. Functionality Behavior of Raw and Extruded Corn Starch Mixtures. *Cereal Chemistry Journal* 82, 223-227.
- Palić, D., Leeuw, K.-J., 2009. Comparison of three in vitro methods for determining and predicting the organic matter digestibility of complete diets for ruminants. *Acta periodica technologica* 40, 79-86.

- Palić, D., Muller, H., 2006. Prediction of the *in vivo* organic matter digestibility of feedstuffs for ruminants using *in vitro* techniques. *Savremena poljoprivreda* 55, 127-132.
- Parker, R., Ring, S.G., 2001. Aspects of the Physical Chemistry of Starch. *Journal of Cereal Science* 34, 1-17.
- Peyrat, J., Nozière, P., Le Morvan, A., Férard, A., Protin, P., Baumont, R., 2014. Effects of ensiling maize and sample conditioning on *in situ* rumen degradation of dry matter, starch and fibre. *Animal Feed Science and Technology* 196, 12-21.
- Philippeau, C., Le Deschault de Monredon, F., Michalet-Doreau, B., 1999. Relationship between ruminal starch degradation and the physical characteristics of corn grain. *Journal of Animal Science* 77, 238-243.
- Philippeau, C., Michalet-Doreau, B., 1997. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. *Animal Feed Science and Technology* 68, 25-35.
- Pojić, M., Hadnađev, M., Hadnađev, T., 2013. Gelatinization properties of wheat flour as determined by empirical and fundamental rheometric method. *Eur Food Res Technol* 237, 299-307.
- Pojić, M., Palić, D., Mastilović, J., Janić-Hajnal, E., 2008. The introduction of a method for determination of organic matter digestibility in feeds into routine laboratory practice. *Food Processing, Quality and Safety* 35, 151-155.
- Qiao, F.-q., Wang, F., Ren, L.-p., Zhou, Z.-m., Meng, Q.-x., Bao, Y.-h., 2015. Effect of steam-flaking on chemical compositions, starch gelatinization, *in vitro* fermentability, and energetic values of maize, wheat and rice. *Journal of Integrative Agriculture* 14, 949-955.
- Radosavljević, M., Božović, I., Jovanović, R., Bekrić, V., Žilić, S., Terzić, D., 2002. Visokovredna hrana i novi tehnološki proizvodi na bazi kukuruza i soje. *PTEP* 6, 54-60.
- Radosavljević, M., Jovanović, R., Pajić, Z., Milašinović-Šeremešić, M., Terzić, D., 2010. The development of a new assortment of food and feed by the application of micronisation and extrusion, Thematic Proceedings of XIV Feed Technology Symposium "Extrusion technology in feed and food processing", Novi Sad, Serbia, pp. 168-180.
- Radosavljević, M., Milašinović, M., 2008. ZP hibridi kukuruza kao sirovina za proizvodnju skroba. *PTEP* 12, 191-195.
- Radosavljević, M., Milašinović, M., Pajić, Z., Filipović, M., 2009. Starch in animal feed, Proceedings of XIII International Feed Symposium, Novi Sad, Serbia, pp. 21-30.

- Ratnayake, W.S., Jackson, D.S., 2006. Gelatinization and solubility of corn starch during heating in excess water: new insights. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 3712-3716.
- Reyes-Jáquez, D., Vargas-Rodríguez, J., Delgado-Licon, E., Rodríguez-Miranda, J., Araiza-Rosales, E.E., Andrade-González, I., Solís-Soto, A., Medrano-Roldan, H., 2011. Optimization of the Extrusion Process Temperature and Moisture Content on the Functional Properties and *in vitro* Digestibility of Bovine Cattle Feed Made out of Waste Bean Flour. *Journal of Animal science advances* 1, 100-110.
- Reynolds, C.K., Aikman, P.C., Lupoli, B., Humphries, D.J., Beever, D.E., 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J Dairy Sci* 86, 1201-1217.
- Reynolds, C.K., Cammell, S.B., Humphries, D.J., Beever, D.E., Sutton, J.D., Newbold, J.R., 2001. Effects of Postrumen Starch Infusion on Milk Production and Energy Metabolism in Dairy Cows. *Journal of dairy science* 84, 2250-2259.
- Riaz, M., 2010. Role of extruders in food and feed industries, Thematic Proceedings of XIV Feed Technology Symposium "Extrusion technology in feed and food processing", Novi Sad, Serbia, pp. 25-31.
- Rokey, G.J., Plattner, B., Souza, E.M.d., 2010. Feed extrusion process description. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39, 510-518.
- Rooney, L., Pflugfelder, R., 1986. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Journal of Animal Science* 63, 1607-1623.
- Roughan, P.G., Holland, R., 1977. Predicting in-vivo digestibilities of herbages by exhaustive enzymic hydrolysis of cell walls. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 28, 1057-1064.
- Rubens, P., Heremans, K., 2000. Pressure-temperature gelatinization phase diagram of starch: An in situ Fourier transform infrared study. *Biopolymers* 54, 524-530.
- RZS, Republički zavod za statistiku. <http://www.stat.gov.rs/WebSite/Public/PageView.aspx?pKey=138>, pristupljeno poslednji put jula 2017.
- Sadeghi, A.A., Nikkhah, A., Fattah, A., Chamani, M., 2012. The Effects of Micronisation on Ruminant Starch Degradation of Corn Grain. *World Applied Sciences Journal* 16, 240-243.
- Sadeghi, A.A., Shawrang, P., 2006. Effects of microwave irradiation on ruminal protein and starch degradation of corn grain. *Animal Feed Science and Technology* 127, 113-123.
- Salomonsson, A.C., Theander, O., Westerlund, E., 1984. Chemical characterization of some Swedish cereal whole meal and bran fractions. *Swedish Journal of Agricultural Research* 14, 111-117.

- 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.
- Sauvant, D., Perez, J.-M., Tran, G., 2004. Tables of composition and nutritional value of feed materials. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.
- Semenčenko, V., 2013. Ispitivanje različitih hibrida kukuruza kao sirovine za proizvodnju bioetanola, skroba i hrane za životinje, doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko - metalurški fakultet.
- Shabi, Z., Bruckental, I., Zamwell, S., Tagari, H., Arieli, A., 1999. Effects of extrusion of grain and feeding frequency on rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition in dairy cows. *Journal of dairy science* 82, 1252-1260.
- Sharma, G.K., 2009. Micronization, DRDO Science Spectrum, pp. 169-171.
- Sherry, X.X., Qiang, L., Steve, W.C., 2005. Starch Modifications and Applications, In: Cui, S.W. (Ed.), *Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*, CRC Press.
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Singh Sodhi, N., Singh Gill, B., 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry* 81, 219-231.
- Smith, K.J., 1995. Advances in steam-flaking grain sorghum and predicting starch availability for cattle, PhD Thesis, Texas Tech University.
- Sniffen, C.J., de Ondarza, M.B., Ward, R., 2009. Interpreting and Implementing Starch Digestibility Information in the Field, *Cornell Nutrition Conference For Feed Manufacturers*, pp. 148-158.
- Solanas, E., Castrillo, C., Serrano, X., Janacua, H., Fondevila, M., Guada, J., 2005. Effect of concentrate extrusion and castration on diet digestion and performance of intensively reared male calves. *Livestock Production Science* 94, 225-236.
- Souza, V., Ortiz, J., Nascimento, E., 2011. Pasting properties of expanded extrudate and pellets from corn flour and rice flour. *Brazil Journal of Food Technology* 14, 106-114.
- Stojanović, B., Grubić, G., Đorđević, N., Adamović, M., Radivojević, M., 2008. Effects of accompanying use of heat treated corn grain and whole soybeans in concentrates on weaned calves performances. *Biotechnology in Animal Husbandry* 24, 29-38.
- Straalen, W.M.v., Huisman, G., 1991. The digestibility of bypass crude protein from grass silage in the intestine of dairy cows, Intern rapport 317, IVVO Lelystad (1991) 29 pp.

- Summers, J.D., 2001. Maize: factors affecting its digestibility and variability in its feeding value, In: Bedford, M.R., Partridge, G.G. (Eds.), *Enzymes in farm animal nutrition*, CAB International, pp. 109-124.
- Sveinbjörnsson, J., Murphy, M., Udén, P., 2007. *In vitro* evaluation of starch degradation from feeds with or without various heat treatments. *Animal Feed Science and Technology* 132, 171-185.
- Svihus, B., Kløvstad, K.H., Perez, V., Zimonja, O., Sahlström, S., Schüller, R.B., Jeksrud, W.K., Prestløkken, E., 2004. Physical and nutritional effects of pelleting of broiler chicken diets made from wheat ground to different coarsenesses by the use of roller mill and hammer mill. *Animal Feed Science and Technology* 117, 281-293.
- Svihus, B., Uhlen, A.K., Harstad, O.M., 2005. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology* 122, 303-320.
- Svihus, B., Zimonja, O., 2011. Chemical alterations with nutritional consequences due to pelleting animal feeds: a review. *Animal Production Science* 51, 590-596.
- Tagliapietra, F., Cattani, M., Hindrichsen, I.K., Hansen, H.H., Colombini, S., Bailoni, L., Schiavon, S., 2012. True dry matter digestibility of feeds evaluated in situ with different bags and in vitro using rumen fluid collected from intact donor cows. *Animal Production Science* 52, 338-346.
- Tester, R.F., Debon, S.J.J., 2000. Annealing of starch — a review. *International Journal of Biological Macromolecules* 27, 1-12.
- Tester, R.F., Karkalas, J., Qi, X., 2004. Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science* 39, 151-165.
- Tester, R.F., Qi, X., Karkalas, J., 2006. Hydrolysis of native starches with amylases. *Animal Feed Science and Technology* 130, 39-54.
- Thacker, P.A., 1999. Effect of micronization on the performance of growing/finishing pigs fed diets based on hulled and hullless barley. *Animal Feed Science and Technology* 79, 29-41.
- Theurer, C.B., 1986. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. *Journal of Animal Science* 63, 1649-1662.
- Theurer, C.B., Huber, J.T., Delgado-Elorduy, A., Wanderley, R., 1999. Invited Review: Summary of Steam-Flaking Corn or Sorghum Grain for Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 82, 1950-1959.
- Tilley, J.M.A., Terry, R.A., 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Grass and Forage Science* 18, 104-111.
- Tothi, R., Lund, P., Weisbjerg, M.R., Hvelplund, T., 2003. Effect of expander processing on fractional rate of maize and barley starch

- degradation in the rumen of dairy cows estimated using rumen evacuation and in situ techniques. *Animal Feed Science and Technology* 104, 71-94.
- USDA, 2017. World Agricultural Production, Circular Series, WAP 07-17.
- Van der Baan, A., 2008. The determination of digestibility of *Atriplex nummularia* cv. De Kock with different techniques, MSc thesis, Department of Animal and Wildlife Sciences, University of Pretoria, Pretoria, p. 114.
- Van der Maarel, M.J., Van der Veen, B., Uitdehaag, J.C., Leemhuis, H., Dijkhuizen, L., 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of the alpha-amylase family. *Journal of biotechnology* 94, 137-155.
- Van der Poel, A.F.B., Prestløkken, E., Goelema, J.O., 2005. Feed Processing: Effects on Nutrient Degradation and Digestibility, In: Dijkstra, J., Forbes, J.M., France, J. (Eds.), Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism, CABI; Second edition, pp. 627-661.
- Voca, N., Varga, B., Kricka, T., Curic, D., Jurisic, V., Matin, A., 2009. Progress in ethanol production from corn kernel by applying cooking pre-treatment. *Bioresource Technology* 100, 2712-2718.
- Voća, N., Krička, T., Janušić, V., Matin, A., Ćurić, D., 2007. Utjecaj temperature sušenja na stupanj želatinizacije škroba zrna kukuruza. *Krmiva* 49, 309-316.
- Waigh, T.A., Gidley, M.J., Komanshek, B.U., Donald, A.M., 2000. The phase transformations in starch during gelatinisation: a liquid crystalline approach. *Carbohydrate Research* 328, 165-176.
- Wang, S., Copeland, L., 2013. Molecular disassembly of starch granules during gelatinization and its effect on starch digestibility: a review. *Food & Function* 4, 1564-1580.
- Warren, F.J., Gidley, M.J., Flanagan, B.M., 2016. Infrared spectroscopy as a tool to characterise starch ordered structure—a joint FTIR-ATR, NMR, XRD and DSC study. *Carbohydrate Polymers* 139, 35-42.
- Weisberg, R., Hvelplund, T., 1993. Estimation of net energy content in feeds for cattle, Report No. 3/1993, National Institute of Animal Science, Tjele, Denmark.
- Weisbjerg, M.R., Hvelplund, T., Hellberg, S., Olsson, S., Sanne, S., 1996. Effective rumen degradability and intestinal digestibility of individual amino acids in different concentrates determined in situ. *Animal Feed Science and Technology* 62, 179-188.
- White, G., Doucet, F., Hill, S., Wiseman, J., 2008a. Physicochemical properties and nutritional quality of raw cereals for newly weaned piglets. *Animal* 2, 867-878.

- White, G.A., Doucet, F.J., Hill, S.E., Wiseman, J., 2008b. Physicochemical changes to starch granules during micronisation and extrusion processing of wheat, and their implications for starch digestibility in the newly weaned piglet. *Animal* 2, 1312-1323.
- Wood, C.D., Badve, V.C., 2001. Recent developments in laboratory methods for the assessment of ruminant feeds. Booklet. 500 copies. 14 pp. BAIF Development Research Foundation, Pune, India and Natural Resources Institute (NRI), Chatham, UK. (Science).
- Xie, F., Liu, H., Chen, P., Xue, T., Chen, L., Yu, L., Corrigan, P., 2006. Starch gelatinization under shearless and shear conditions. *International Journal of Food Engineering* 2, 1-29.
- Zarguili, I., Maache-Rezzoug, Z., Loisel, C., Doublier, J.L., 2006. Influence of DIC hydrothermal process conditions on the gelatinization properties of standard maize starch. *Journal of Food Engineering* 77, 454-461.
- Zavareze, E.d.R., Dias, A.R.G., 2011. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers* 83, 317-328.
- Zebeli, Q., Mansmann, D., Steingass, H., Ametaj, B.N., 2010. Balancing diets for physically effective fibre and ruminally degradable starch: A key to lower the risk of sub-acute rumen acidosis and improve productivity of dairy cattle. *Livestock Science* 127, 1-10.
- Zeng, J., Gao, H., Li, G., Liang, X., 2011. Extruded corn flour changed the functionality behaviour of blends. *Czech Journal of Food Sciences* 29, 520-527.
- Zimonja, O., Svihus, B., 2009. Effects of processing of wheat or oats starch on physical pellet quality and nutritional value for broilers. *Animal Feed Science and Technology* 149, 287-297.
- Zinn, R.A., Owens, F.N., Ware, R.A., 2002. Flaking corn: processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 80, 1145-1156.
- Zobel, H.F., 1988. Starch Crystal Transformations and Their Industrial Importance. *Starch - Stärke* 40, 1-7.
- Žilić, S., Milašinović, M., Terzić, D., 2007. Uticaj tehnološkog procesa mikronizacije na bihemijske promene u zrnu različitih žitarica i leguminoza. *PTEP* 11, 37-40.