

UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Dajana T. Poleksić

**ANTIOKSIDATIVNOST I  
FUNKCIONALNOST TRAJNIH  
PEKARSKIH PROIZVODA SA  
DODATKOM PROSA (*PANICUM  
MILIACEUM* L.)**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE

Dajana T. Poleksić

**ANTIOXIDANT AND FUNCTIONAL  
PROPERTIES OF DURABLE BAKERY  
PRODUCTS WITH ADDITION OF PROSO  
MILLET (*PANICUM MILIACEUM* L.)**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018.

**Mentor:**

---

Dr Vesna Rakić, redovni profesor,  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

**Članovi komisije:**

---

Dr Mirjana Demin, vanredni profesor,  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

---

Dr Biljana Vucelić-Radović, redovni profesor,  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

---

Dr Mališa Antić, redovni profesor,  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

---

Dr Bojana Filipčev, naučni savetnik,  
Univerzitet u Novom Sadu, Naučni institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu

Datum odbrane:

*Neizmernu zahvalnost, pre svega, dugujem mentoru ove doktorske disertacije prof. dr Vesni Rakić. Veliko poštovanje za sve smernice kojim me je upućivala na pravi istraživački put koji je doveo do formiranja novih funkcionalnih proizvoda koji su našli svoj put do korisnika. Osim stručnih istraživačkih saveta, hvala joj na svim životnim savetima i prijateljstvu koje smatram najvećom krunom ovog doktorata.*

*Veliku zahvalnost želim da izrazim prof. dr Mirjani Demin čiji su saveti i pomoć u analitici bili od velikog značaja za izradu ovog doktorata.*

*Za tumačenje rezultata vezanih za esencijalne aminokiseline i dobijanje kvalitetnih zaključaka koji su od velikog značaja za ovu disertaciju zahvalnost dugujem prof. dr Biljani Vucelić-Radović.*

*Veliku zahvalnost želim da izrazim prof. dr Mališi Antić za savete i pomoć vezane za hemijske metode analiza i svesrdnu pomoć u rešavanju nedoumica.*

*Posebno se zahvaljujem prof. dr Vladimiru Pavloviću velikoj pomoći pri dobijanju rezultata vezanih za analizu teksturnih osobina brašna, testa i dvopeka korišćenjem SEM – a.*

*Hvala na velikoj stručnoj podršci pri hemijskoj analizi i dobijanju rezultata od velikog značaja za ovaj rad dragoj dr Smiljani Raičević.*

*Zahvalnost dugujem i prof. dr Bojani Filipčev za dobijanje rezultata bitnih za analitiku reologije brašna i teksture gotovog proizvoda.*

*Veliku zahvalnost dugujem svim kolegama i kolegamicama bez kojih doktorat ne bi imao ovakvu celinu.*

*Takođe, hvala kompaniji "Aleksandrija Fruška Gora" zahvaljujući kojoj sam imala mogućnost da u industrijskim uslovima uradim sve neophodne procese za dobijanje proizvoda ispitivanih u ovom radu. U ovoj kompaniji sam nastavila istraživački rad u praksi pri formiranju novih funkcionalnih proizvoda bez glutena i ostalih alergena.*

*Želim od sveg srca da se zahvalim svom suprugu, dr Milošu Poleksiću, na beskrajnoj podršci, stručnoj pomoći i razumevanju tokom celog našeg poznanstva a pogotovo u trenucima rada na doktorskoj disertaciji, koju posvećujem njemu i našoj zlatnoj deci Andriji i Vasiliju.*

*Osobe bez kojih ne bih imala priliku da započnem, istrajem i završim doktorat i koje su u svakoj fazi rada pomogli na sve načine da dođem do cilja su moji roditelji Cvija i Tomislav Kovač. Hvala vam na svemu jer bez Vas ništa ne bi bilo moguće!*

UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET  
Beograd - Zemun

**ANTIOKSIDATIVNOST I FUNKCIONALNOST TRAJNIH  
PEKARSKIH PROIZVODA SA DODATKOM PROSA (*Panicum  
miliaceum* L.)**

*Rezime*

Krajem XX i početkom XXI veka usled pojave hiperprodukcije žitarica kao osnovnih sirovina u proizvodnji prehrambenih proizvoda širom sveta, počinje da se razvija segment funkcionalnih, biološki kvalitetnijih i nutritivno superiornijih prehrambenih proizvoda. Neophodnost za ovom klasifikacijom prehrambenih proizvoda je nastala iz potrebe da se razdvoje proizvodi koji služe za zadovoljavanje osnovnih potreba ljudskog organizma i proizvoda koji nude širi spektar nutritivnih karakteristika koje povoljno deluju na određene zdravstvene aspekte.

Ministarstvo zdravlja, rada i dobrobiti Japana (eng. *Ministry of Health, Labour and Welfare - MHLF*) 1991. godine funkcionalnu hranu implementira u regulatorni sistem kako bi imali bolju kontrolu nad proizvodima koji su već bili u prometu sa određenim zdravstvenim izjavama. Nazvali su je hrana za posebne zdravstvene potrebe FOSHU (*Foods for Specified Health Use*) (*Aksaka i Minato-ku, 2003*). Zdravstvene izjave definisane Ministarstvom zdravlja Japana a koje se vezuju za funkcionalnost su 1997. godine uvrštene u smernice *Codex Alimentarius*-a.

Proso (*Panicum miliaceum* L.) spada u biljne vrste, prirodno bez glutena, čiji potencijal korišćenja kao sirovine koja može da unapredi funkcionalnost određenih proizvoda nije u potpunosti ispitan. To je jednogodišnja trava, žito, koje raste iz semena svake godine. Arheobotanička studija je pokazala da se "obično" proso, koje se kod nas klasifikuje prema nazivu samo kao proso (*Panicum miliaceum* L.), koristilo kao osnovna hrana još pre 10000 godina na severu Kine (*Lu i saradnici,*

2009). Novija istraživanja ukazuju na sve veću funkcionalnu vrednost prosa u humanoj ishrani (*Dykes i Rooney, 2006; Kalinova i Moudry, 2006; Zarnkow i saradnici, 2007; Park i saradnici, 2011*).

Kako pekarski proizvodi čine najzastupljeniju grupu proizvoda na našoj trpezi, uvođenjem prosa u recepturu trajnih pekarskih proizvoda otvara se mogućnost definisanja novog tehnološkog postupka proizvodnje hleba uz istovremeno poboljšanje funkcionalnih osobina proizvoda to jest povećanje sadržaja proteina, prehrambenih vlakana, minerala i antioksidanata. Uvođenjem faze hidrotermičke obrade zrna prosa, stvaraju se preduslovi za formiranje povoljnih reoloških, senzornih i nutritivnih svojstava testa i gotovog proizvoda.

Hleb predstavlja osnovnu životnu namirnicu mnogih kultura još iz praistorijskog perioda gde je imao osnovni udeo u ishrani ljudi iz više razloga. Pre svega zbog dostupnosti žitarica, jednostavne pripreme i prijatnog ukusa. U balansiranom režimu ishrane, bar 50% od ukupnih kalorija koje unosimo u toku dana dolazi upravo iz ugljenih hidrata, koji su neophodni da obezbede ljudskom organizmu energiju za pravilan razvoj i funkcionisanje.

Hleb u proseku sadrži 50-60 g ugljenih hidrata, uglavnom u formi skroba gde je jedan deo takozvani rezistentni skrob koji je odgovoran za sporiju absorpciju (*Salvador i Bultó, 2001*).

Trajnost prehrambenih pekarskih proizvoda predstavlja značajnu stavku pre svega zbog dostupnosti i upotrebe istih u uslovima gde nije moguće obezbediti sveže proizvode i u različitim uslovima transporta koji ne zahtevaju frižiderske temperature skladištenja, pa se samim tim postiže ušteda energije. Važna stavka je što se u proizvodnji dvopeka, prepečenog hleba, ne koriste hemijski konzervansi nego tehnologija sušenja a trajnost proizvoda je i do godinu dana.

U ovoj disertaciji objašnjeni su tehnološki procesi izrade specijalne vrste hleba, dvopeka; zatim u nastavku su pojašnjene karakteristike i razlike u izradi dvopeka sa dodatkom 10%, 20% i 30% brašna od prosa na račun pšeničnog brašna, kao i u izradi dvopeka sa 10%, 20% i 30% naparenog celog zrna prosa. Izrada dvopeka sa celim zrnom se pokazala kao neadekvatna za formiranje prihvatljivog gotovog proizvoda iz razloga pojave velikog loma tokom tehnoloških operacija sečenja i

pakovanja i ispadanja celog zrna prosa iz strukture dvopeka, iako su ostale karakteristike bile povoljne.

Urađena su ispitivanja reoloških karakteristika testa sa zamenom pšeničnog brašna brašnom od prosa i naparenog zrna prosa 10%, 20% i 30%, respektivno. Prikazani su i rezultati teksturnih karakteristika dvopeka kao i senzorna ocena.

Potom se u disertaciji prikazuju razlike u hemijskom sastavu brašna od pšenice i brašna od prosa, kao i gotovog proizvoda upoređujući sa kontrolnim uzorkom, dvopekrom od pšeničnog brašna. Sadržaj esencijalnih aminokiselina je urađen za sve navedene vrste dvopeka, kao i sadržaj ukupnih polifenola, sadržaj ukupnog skroba, amiloze i amilopektina i vitamina E.

Postavljena je metoda *in vitro* za određivanje glikemijskog indeksa iz dobijenih supernatanata i određivanje ukupnih polifenola iz istih posle digestije.

**Ključne reči:** dvopek sa dodatkom prosa (*Panicum miliaceum* L.), funkcionalna hrana, polifenoli, vlakna, SEM, skrob, prirodno bez glutena, esencijalne aminokiseline, vitamin E, *in vitro* glikemijski indeks.

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Prehrambena tehnologija

UDK: 664.664.34+633.171(043.3)

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE

**ANTIOXIDANT AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF  
DURABLE BAKERY PRODUCTS WITH ADDITION OF PROSO  
MILLET (*Panicum miliaceum* L.)**

Belgrade - Zemun

***Abstract***

At the end of the XX and early XXI century, due to the emergence of hyperproduction of cereals as the basic raw materials in the production of food products around the world, a segment of functional, biologically superior and nutritionally superior food products begins to develop. The necessity for this classification of food products was due to the need to separate products that serve to satisfy the basic needs of the human organism and products that offer a wider range of nutritional characteristics that favorably affect certain health aspects.

The Ministry of Health, Labor and Welfare (MHLF) in 1991 puts functional foods into the regulatory system in order to have better control over products already in circulation with certain health statements. They called food for special health needs FOSHU (*Aksaka, Minato-ku, 2003*). Health Statements defined by the Ministry of Health of Japan and related to functionality were incorporated in Codex Alimentarius guidelines in 1997.

Proso (*Panicum miliaceum* L.) belongs to plant species, naturally gluten-free, whose potential use as raw material that can improve the functionality of certain products has not been fully tested. It is a one-year grass, grain, which grows from seeds every year. An archaeobotanic study has shown that the "usually" millet, classified in our country as a mere millet (*Panicum miliaceum* L.), was used as basic food 10000 years ago in the north of China (*Lu et al., 2009*). Recent research suggests an increasing



functional value of proso in human nutrition (*Dykes and Rooney, 2006; Kalinova and Moudry, 2006; Zarnkow et al., 2007; Park & Associates, 2011*).

As bakery products make the most productive group of products on our table, by introducing the proso in the recipes of durable bakery products opens the possibility of defining a new technological process of bread production while simultaneously improving the functional characteristics of products, increasing the content of proteins, dietary fiber, minerals and antioxidants. By introducing the phase of hydrothermal processing of grain, preconditions are created for the formation of favorable rheological, sensory and nutritive properties of the test and the finished product.

Bread is the staple human food of many cultures since the prehistoric period where it has had a basic share in human nutrition for several reasons. First of all, because of the availability of cereals, simple preparation and pleasant taste. In a balanced diet, at least 50% of the total calories we enter during the day comes precisely from carbohydrates, which are necessary to provide the human body with energy for proper development and functioning.

Bread on average contains 50-60 g of carbohydrates, mainly in the form of starch, where one part is the so-called resistant starch responsible for slower absorption (*Salvador et al., 2001*).

The durability of food bakery products is a significant item, primarily because of the availability and use of these in conditions where it is not possible to provide fresh products and in different transportation conditions that do not require refrigerant storage temperatures, and thus achieve energy savings. An important point is that in the production of dough for the rusk, chemical preservatives are not used, but the technology of drying and the durability of the product is up to a year.

This dissertation explains the technological processes of making a special type of bread, dough; then, the characteristics and differences in the production of rusks with the addition of 10%, 20% and 30% of flour from the proso in the same percentage of decrease of wheat flour, as well as in the making of rusks with 10%, 20% and 30% of the whole grain of the proso millet, are explained below. Creation of whole-grain rusks proved to be inadequate for the formation of an acceptable finished product due to the occurrence of a major breakage during technological

operations of cutting and packing and the release of whole grain of the proso millet from the structure of rusks, although other characteristics were favorable.

Testing of rheological characteristics of the test with the replacement of wheat flour with flour of spring and stuffed grains has been done 10%, 20% and 30%, respectively. The results of the texture characteristics of the duplex as well as the sensory evaluation are presented.

Then, in the dissertation, the differences in the chemical composition of flour from wheat and flour from the proso millet, as well as the finished product, are compared with the control sample, rusk from wheat flour. The content of essential amino acids has been made for all of the mentioned types of duplexes, as well as the content of total polyphenols, the total starch content, amylose and amylopectin and vitamin E. An *in vitro* method was set up to determine the glycemic index from the obtained supernatants and to determine the total polyphenols from the same digestion.

**Key words:** rusks with the addition of proso millet (*Panicum miliaceum* L.), functional foods, polyphenols, fibers, SEM, starch, naturally gluten-free, essential amino acid, vitamin E, *in vitro* glycemic index.

Scientific area: Biotechnical sciences

Narrow scientific field: Food technology

UDK: 664.664.34+633.171(043.3)

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. PREGLED LITERATURE</b> .....	4
<b>2.1. Funkcionalna hrana</b> .....	4
2.1.1. Funkcionalna uloga antioksidanata .....	11
<b>2.2. Hemijski sastav i nutritivna svojstva žita</b> .....	19
2.2.1. Ugljeni hidrati.....	21
2.2.2. Proteini.....	27
2.2.3. Lipidi .....	31
2.2.4. Mineralne komponente u žitima .....	34
2.2.5. Vitamini.....	35
2.2.6. Fenolna jedinjenja.....	37
<b>2.3. Proso (<i>Panicum miliaceum</i> L.) - bezglutensko žito</b> .....	46
2.3.1. Arheobotanička pripadnost prosa.....	47
2.3.2. Globalna proizvodnja, rasprostranjenost i gajenje prosa.....	49
2.3.3. Fizičke karakteristike zrna prosa.....	50
2.3.4. Hemijske i nutritivne karakteristike zrna prosa.....	51
2.3.5. Načini upotrebe i proizvodi od prosa.....	55
<b>2.4. Trajni pekarski proizvodi - specijalna vrsta hleba</b> .....	56
2.4.1. Dvopek - prepečen hleb .....	56
<b>2.5. <i>In vitro</i> digestija i hemijske interakcije u matriksu proizvoda</b> .....	57
2.5.1. Metabolizam ugljenih hidrata .....	58
2.5.2. <i>In vitro</i> digestija skroba, interakcije - uticaj na glikemijski indeks.....	58
<b>3. CILJ RADA</b> .....	71
<b>4. MATERIJALI I METODE</b> .....	73
<b>4.1. Materijali</b> .....	73
<b>4.2. Metode</b> .....	74
4.2.1. Proizvodnja dvopeka .....	74
4.2.2. Karakterizacija fizičkih osobina brašana, testa i gotovih proizvoda .....	80
4.2.3. Senzorna analitika dvopeka .....	82
4.2.4. Hemijske osobine brašna i gotovih proizvoda.....	82

4.2.5. Statistička analiza.....	88
<b>5. REZULTATI I DISKUSIJA .....</b>	<b>89</b>
<b>5.1. Reološke karakteristike brašna .....</b>	<b>89</b>
5.1.1. Termomehaničke karakteristike testa sa dodatkom brašna od prosa – Mixolab.....	91
5.1.2. Teksturne karakteristike dvopeka .....	96
<b>5.2. Senzorna ispitivanja .....</b>	<b>104</b>
<b>5.3 Hemijske karakteristike brašna i gotovih proizvoda .....</b>	<b>107</b>
5.3.1 Hemijske karakteristike brašna.....	107
5.3.2 Hemijske karakteristike dvopeka.....	109
5.3.3. Sadržaj esencijalnih aminokiselina u dvopecima .....	109
5.3.4. Sadržaj polifenola.....	122
5.3.5. Sadržaj $\alpha$ -tokoferola.....	127
5.3.6. Glikemijski indeks.....	128
<b>6. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>130</b>
<b>7.LITERATURA .....</b>	<b>136</b>

## 1. UVOD

U savremenom svetu pojam i koncept ishrane značajno su se promenili u poređenju sa onima iz ne tako davne prošlosti. Od početne tendencije zadovoljenja gladi i preživljavanja, preko u međuvremenu razvijenog koncepta sigurnosti hrane, poslednjih tridesetak godina glavni interes je postao razvoj hrane koja može povoljno da utiče na zdravlje potrošača. Hrana koja može da zadovolji ove zahteve nazvana je funkcionalnom. U najširem smislu reči, sva hrana je funkcionalna jer obezbeđuje energiju i neophodne gradivne materije; međutim ovaj termin se ipak upotrebljava kada se govori o hrani koja doprinosi boljem fizičkom i mentalnom stanju, u isto vreme smanjujući rizike od nastanka nekih od najopasnijih bolesti (*Roberfroid, 1999; Roberfroid, 2002; Menrad, 2003; Clydesdale, 2004; Kaur i Das, 2011; Martirosyan i Singh, 2015; Kaur i Singh, 2017*).

Brojni su razlozi velikog interesovanja za funkcionalnu hranu: industrijalizacija i urbanizacija sa svojim uticajem na način života, demografske promene (starenje populacije a posebno u razvijenim zemaljama), nestanak tradicionalnih navika u ishrani, svest o lošim efektima po zdravlje koje urbani način života donosi. Veoma značajno je i to da potrošači imaju sve više kriterijume kvaliteta života i sve razvijeniju svest o ulozi hrane u očuvanju zdravlja, dok su cene lečenja sve veće. Ovo je rezultiralo velikom zainteresovanošću za funkcionalnost hrane, kako među stručnjacima u oblasti nauke o hrani tako i među potrošačima (*Kaur i Singh, 2017*). Poslednjih decenija prikupljeni su brojni, naučnim metodama dokazani podaci o sastavu namirnica čije konzumiranje poboljšava mentalno i fizičko zdravlje, kao i o vezama pojedinih komponenti hrane sa posebnim fiziološkim ulogama koje imaju. Na primer, ispoljen je veliki interes za hranu koja sadrži antioksidanse, supstance aktivne u smanjvanju efekata slobodnih radikala u procesu oksidativnog stresa. Istraživanja se i dalje vrše u ovom smeru, ali je nauka o hrani otišla i korak dalje - postalo je moguće da se hrana dizajnira unapred, odnosno da se koriguju nedostaci tako da se postignu traženi zdravstveni efekti ili da se smanji rizik razboljevanja. Na raspolaganju su tehnološki i biotehnološki postupci kojima se povećavaju koncentracije nekih aktivnih komponenti, ili se dodaju komponente koje u hrani ne

postoje dok se druge uklanjaju ili modifikuju. Važno je naglasiti da je dizajniranje funkcionalne hrane problem koji zahteva multidisciplinarni pristup i učešće kako naučnika tako i istraživača iz industrije (*Roberfroid, 1999*).

Hleb i pekarski proizvodi predstavljaju kategoriju osnovnih životnih namirnica mnogih kultura još iz praistorijskog perioda kada je imao osnovni udeo u ishrani ljudi iz više razloga, a pre svega zbog dostupnosti žitarica, jednostavne pripreme i prijatnog ukusa. U balansiranom režimu ishrane, bar 50% od ukupnih kalorija koje unosimo u toku dana dolazi upravo iz ugljenih hidrata koji su neophodni da obezbede ljudskom organizmu energiju za pravilan razvoj i funkcionisanje. Hleb u proseku sadrži 50-60% ugljenih hidrata, uglavnom u formi skroba (*Salvador i Bultó, 2001*), a konzumira se u različitim formama (beli pšenični hleb, hleb od celog zrna, hleb obogaćen mekinjama, hleb od više vrsta žitarica). Kako hleb i pekarski proizvodi čine najzastupljeniju grupu proizvoda na trpezi, oni mogu poslužiti kao matriks koji se može "funkcionalizovati", odnosno od koga se mogu dobiti novi funkcionalni proizvodi koji potrošaču mogu da obezbede konzumiranje funkcionalno vrednije hrane (*Fardet, 2015*).

Među ostalim pekarskim proizvodima postoje i trajni proizvodi kao što je dvopek, koji se odlikuje niskim sadržajem vlage i višemesečnom trajnošću (*Žeželj, 2005*). Dvopek je posebno pogodan medijum za dodavanje funkcionalnih komponenti zbog prethodno pomenute dugotrajnosti ali i zbog činjenice da u njegovoj proizvodnji nisu potrebni konzervasni niti druge skupe metode konzervisanja.

Proso (*Panicum miliaceum* L.) spada u biljne vrste čiji potencijal korišćenja kao sirovine koja može da unapredi funkcionalnost određenih proizvoda nije u potpunosti ispitan. To je jednogodišnja trava, prirodno bez glutena, koja raste iz semena svake godine. Arheobotanička studija je pokazala da se "obično" proso, koje se kod nas klasifikuje prema nazivu samo kao proso (*Panicum miliaceum* L.), koristilo kao osnovna hrana još pre 10 000 godina na severu Kine (*Lu i saradnici, 2009*). Pojavljivanje i upotreba u centralnim regionima Evrope zabeleženi su pre oko 4000 godina (~ 2000 pre nove ere). Danas se gaji u regionima Rusije, istočne Evrope, severne Indije i u delovima Afrike. Novija istraživanja ukazuju na sve veću funkcionalnu vrednost prosa u humanoj ishrani (*Dykes i Rooney, 2006; Kalinova i Moudry, 2006; Zarnkow i saradnici, 2007; Park i saradnici, 2011*).

Proso je izvor ugljenih hidrata (70-74 g/100 g suve materije). Dok je sadržaj proteina (12-14 g/100 g suve materije) sličan sadržaju proteina kod pšenice, zrno prosa je značajno bogatije u sadržaju esencijalnih amino kiselina (leucin, izoleucin, metionin) (Kalinova i Moudry, 2006). Takođe, u prosu su nađeni polifenoli (fenolne kiseline i flavonoidi), u različitim delovima zrna. Njihov sadržaj i koncentracije variraju zavisno od vrste prosa (Shirley, 1998; Chandrasekara i Shahidi, 2011). Proso se odlikuje i visokim sadržajem minerala i dijetetskih vlakana (Ravindran, 1991; Habiyaemy i saradnici, 2017). Ovi podaci ukazuju na mogućnost primene prosa u ishrani u svojstvu komponente koja doprinosi funkcionalnosti; i takođe ukazuju da postoji potreba kako da se detaljno ispita hemijski sastav, tako i da se razjasni mogućnost primena prosa u ishrani kao one komponente koja doprinosi funkcionalnosti određenih hranljivih proizvoda.

Na osnovu prethodnog sledi da se uvođenjem prosa u recepturu trajnih pekarskih proizvoda – dvopeka, otvara mogućnost definisanja novog tehnološkog postupka proizvodnje uz istovremeno poboljšanje funkcionalnih osobina proizvoda. U ovoj disertaciji, najpre će biti ispitan hemijski sastav zrna prosa (*Panicum miliaceum* L.): biće utvrđeni sadržaji ukupnih proteina, aminokiselina, skroba, pepela, mikroelemenata, vlakana, ukupnih polifenola i  $\alpha$ -tokoferola. Potom će biti razvijeni tehnološki procesi proizvodnje dvopeka u kojima je pšenično brašno zamenjeno ili brašnom od prosa ili zrnom prosa i to u količinama od 10, 20 ili 30%. Uvođenjem faze hidrotermičke obrade zrna prosa, stvaraju se preduslovi za formiranje povoljnih reoloških, senzornih i nutritivnih svojstava testa i gotovog proizvoda. Biće utvrđene pogodne formulacije testa od mešavine pšeničnog brašna i brašna od prosa ili celog zrna prosa; uz analizu reoloških i teksturnih svojstava testa i gotovih proizvoda.

Dobijeni proizvodi biće analizirani hemijski na isti način kao i polazne sirovine. Potencijalna funkcionalnost dobijenih proizvoda biće procenjena utvrđivanjem sadržaja ukupnih polifenola u alkoholnim ekstraktima kao i u ekstraktu dobijenom procedurom *in vitro* digestije, kao i procenom antioksidativne aktivnosti ovih ekstrakata. Glikemijski indeks proizvoda biće procenjen primenom metode *in vitro* digestije.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Funkcionalna hrana

Pristup ljudskoj ishrani je značajno izmenjen tokom poslednjih desetina godina. Potrošači su sve više zainteresovani za hranu koja ima direktni uticaj na zdravlje (Young, 2000; Mollet i Rowalnd, 2002). Sve je veća potražnja za hranom koja, osim što obezbeđuje neophodne nutrijente takođe može da igra preventivnu ulogu – da doprinese sprečavanju bolesti koje su povezane sa ishranom, kao i da poboljša fizičko i mentalno stanje potrošača (Roberfroid, 2002; Menrad, 2003). Porast potražnje za hranom koja zadovoljava ove zahteve, a koja se smatra funkcionalnom, povezan je kako sa povećanim troškovima zdravstvene nege, tako i sa težnjom za podizanjem nivoa kvaliteta života u svim životnim dobima, širom planete (Roberfroid, 2000a; 2000b).

Dakle, težnja da se razumeju veze ishrane i zdravstvenog stanja je u osnovi nastanka koncepta funkcionalnosti hrane. Ovaj pojam je najpre uveden u Japanu osamdesetih godina XX veka: funkcionalna hrana je definisana kao “proizvodi koji sadrže specifične konstituente koji ispoljavaju povoljne fiziološke efekte” (Siró i saradnici, 2008; Martirosyan i Singh, 2015). Ispitivanje relacija između hranljivosti, senzornih karakteristika, sastava hrane i uticaja na zdravlje rezultiralo je time da je 1991. japansko Ministarstvo zdravlja zakonskim propisima uvelo kategoriju hrane koja je nazvana FOSHU (Foods for Specific Health Uses), a koja mora da zadovolji 3 osnovna kriterijuma: 1) da pokazuje kliničkim studijama dokazanu efikasnost; 2) da je bezbednost konzumiranja dokazana kliničkim i ne-kliničkim ispitivanjima; 3) da je u takvoj hrani dokazano prisustvo aktivnih komponenti (Roberfroid, 2002; Menrad, 2003; Martirosyan i Singh, 2015).

Opsežna istraživanja sprovedena u Japanu i značaj koji je dat konceptu funkcionalne hrane izvršili su uticaj na stručnjake u Evropi i Americi, pa su istraživanja koja se tiču funkcionalnosti prehrambenih proizvoda brojna a interesovanje za funkcionalnost hrane neprekidno raste. Međutim, stavovi nastali sa ovim u vezi su različiti u različitim zamljama/kulturama, pa se tako u literaturi može naći veći broj definicija koje za cilj imaju da objasne pojam funkcionalne hrane. Dok se u Japanu



ova hrana obeležava posebnim oznakama, a funkcionalnosti se daje veći značaj nego ukusu; evropsko zakonodavstvo ne poznaje funkcionalnu hranu kao posebnu kategoriju. Kao i u Sjedinjenim američkim državama, radi se pre svega o konceptu, to jest shvatanju da se radi o već postojećim prehrambenim proizvodima (često vrlo poznatim) koji dodatno imaju funkcionalne karakteristike (*Hilliam, 1998; Kotilainen i saradnici, 2006; Fern, 2007*).

U Evropskoj uniji je najpre 1998. godine ustanovljen stav kojim se "prehrambeni proizvod može smatrati funkcionalnim ako, pored svoje osnovne nutritivne uloge, ima i povoljan efekat na jednu ili više funkcija ljudskog organizma, na taj način unapređujući opšte i zdravstveno stanje, i/ili ima uticaj na smanjenje rizika od razboljevanja" (*Diplock i saradnici, 1999; Siró i saradnici, 2008*). 1999. godine u EU je uspostavljen konsenzus poznat kao FUFUSE (*Scientific Concepts of Functional Food in Europe*) (*Aggett i saradnici, 2005*) koji akcenat stavlja na kritičnu procenu naučno potvrđenih rezultata o pozitivnom delovanju nutrijenata i komponenti hrane na pojedine funkcije organizma. Takođe je usvojen i konsenzus o kriterijumima nazvan PASSCLAIM (*The Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods*) (*Aggett i saradnici, 2005*) koji se zasniva na sledećim principima: na nameri da se "procene postojeći načini davanja naučnih obrazloženja; da se uvedu generički alati za procenu naučne podrške zdravstvenim zahtevima; i da se uspostave kriterijumi za markere koji se mogu koristiti za istraživanje veza između ishrane i zdravlja" (*Aggett i saradnici, 2005*). Unos funkcionalne hrane treba da bude kao i u uobičajenim dijetama; što podrazumeva da ne treba da bude u formi kapsula ili pilula. Suprotno, u Japanu se od 2001. godine u FOSHU kategoriju svrstavaju i kapsulirani i tabletirani proizvodi (*Ohama i saradnici, 2006*).

Trenutno (*Westmark, 2014*), u EU su prepoznate sledeće kategorije hrane: "konvencionalna hrana, modifikovana hrana, hrana za posebne dijetetske režime i medicinska hrana". Proizvođači mogu da se, u skladu sa FUFUSE i PASSCLAIM, opredele između dve vrste zahteva koje će njihov proizvod zadovoljavati: nutritivni zahtevi se odnose na sadržaj osnovnih hranljivih materija kao i na energetska vrednost; dok se zdravstveni zahtevi tiču mogućnosti da hrana spreči ili tretira bolesno stanje. Kao i u Japanu, zadovoljavanje ovih zahteva treba da bude potvrđeno

naučnim činjenicama. Stoga su neophodni koraci u prepoznavanju funkcionalnih karakteristika hrane: 1) aktivna hrana ili komponenta moraju biti identifikovane, 2) kliničke i druge studije moraju biti izvršene, 3) finalni zdravstveni efekti moraju biti utvrđeni ili direktno ili primenom odgovarajućih biomarkera, 4) zdravstveni efekti moraju biti statistički signifikantni (*Martirosyan i Singh, 2015*). Sa ciljem da se reguliše “označavanje, prezentacija i reklamiranje” hrane koja zadovoljava zdravstvene zahteve, pred proizvođače su postavljeni veoma strogi zahtevi čija provera je takođe veoma skupa; što sve za rezultat ima loše efekte na razvoj koncepta funkcionalne hrane.

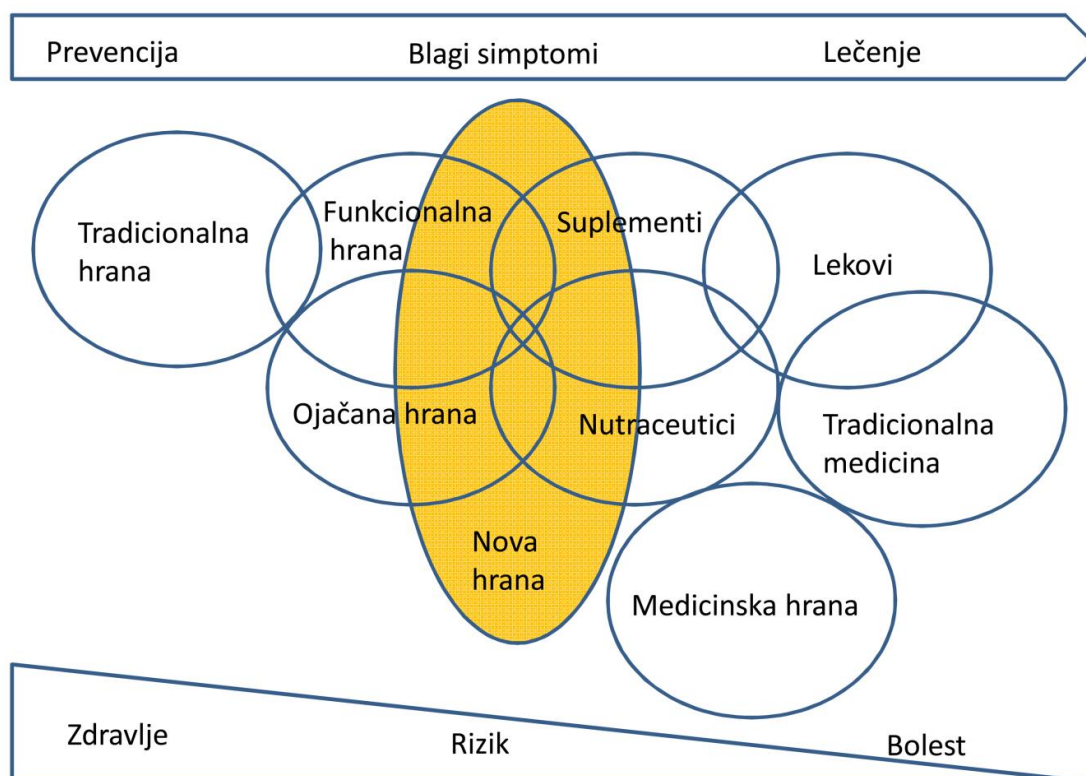
U Sjedinjenim američkim državama, Administracija za hranu i lekove (U.S: Food and Drug Administration – FDA) prepoznaje dijetetske suplemente i takozvanu medicinsku hranu, koju 2016. godine definiše kao “hranu napravljenu da se konzumira ili propisuje u potpunosti pod nadzorom lekara i koja je osmišljena za specifično tretiranje bolesti, za šta su uspostavljeni specifični nutritivni zahtevi, a zasnovano na naučnim principima i ustanovljeno medicinskom procenom” (*FDA regulation*). Za ralik od toga, Odeljenje za poljoprivredu SAD-a (United States Department of Agriculture – USDA) opisuje funkcionalnu hranu kao “hranu koja je osmišljena da ima fiziološki pozitivne efekte i/ili redukuje rizike od hroničnih bolesti osim svojih osnovnih nutritivnih svojstava; i koja može biti slična uobičajenoj hrani i može se konzumirati kao deo uobičajene dijete” (*Agricultural Research Service*). Dok zahtevi koje funkcionalna hrana treba da zadovoljava nisu precizno definisani, zahtevi vezani za nutritivnu ili zdravstvenu ulogu su postavljeni pred proizvođače, slično kao i u Evropi. Da bi dostizanje postavljenih zahteva bilo verifikovano, FDA poseban značaj daje istraživanjima koja uključuju konzumiranje određene hrane od strane ljudi ili životinja (*Martirosyan i Singh, 2015*). Osim nacionalnih agencija, u SAD-u postoji više organizacija koje nude svoja viđenja i definicije funkcionalne hrane. Tako je prema Odboru za hranu i ishranu Nacionalne akademije nauka (National Academy of Sciences Food and Nutrition Board) funkcionalna hrana “bilo koja modifikovana hrana ili sastojak hrane koji omogućava poboljšanje zdravlja, osim što sadrži nutrijente” (*Martirosyan i Singh, 2015*). Institut za tehnologije hrane SAD-a definiše ovaj pojam kao: “supstance koje obezbeđuju osnovne nutrijente često iznad količina neophodnih za normalno održavanje, rast i

razvoj, i/ili druge biološki aktivne komponente koje pružaju zdravstvene benefite ili poželjne fiziološke efekte.”

To što ne postoji jedinstvena i opšteprihvaćena definicija funkcionalnosti hrane ukazuje na složenost ovog pojma. Osim toga, treba ukazati i na to da se osim sa funkcionalnom hranom danas srećemo i sa drugim kategorijama prehrambenih proizvoda: u prethodnom tekstu je pomenuta “medicinska hrana” (medical food) ali se u literaturi i na tržištu takođe pojavljuju i druge kategorije proizvoda, a čije uloge se preklapaju sa onima koje ima funkcionalna hrana. Verovatno najznačajnija je kategorija nutraceutika (nutraceuticals) koji su shvaćeni kao “hrana koja ima medicinski efekat na ljude a sastoji se od suplemenata, biljnih proizvoda, probiotika i prebiotika, kao i medicinske hrane namenjene za prevenciju ili tretman bolesti” (Shinde i saradnici, 2014).

Evidentno, razlike i granice među kategorijama kao što su tradicionalna, funkcionalna, medicinska hrana ili nutraceutici su nejasne i difuzne; odnosno, pojam funkcionalnosti hrane kao i njena uloga preklapaju se sa onima ostalih navedenih kategorija, kako pokazuje slika 1.

Osim što ne postoje jedinstvene definicije i zakonske regulative za pomenute kategorije prehrambenih proizvoda, treba ukazati i na to da se postojeće zakonske regulative (u slučaju Japana) ili koncepti (u slučaju EU i SAD) ne bave rizicima ili sporednim efektima koje konzumiranje funkcionalne hrane može da donese. Poznat je primer rizika od hiperkalcemije kome se izlažu konzumenti nekontrolisano visokih doza vitamina D (Kaptein i saradnici, 2010; Ameratunga i saradnici, 2016).



**Slika 1:** Veza funkcionalne hrane sa drugim proizvodima sa prepoznatim zdravstvenim efektima (*Ameratunga i saradnici, 2016*)

Prethodni pregled stavova u vezi sa funkcionalnom hranom osim što pokazuje koliko je ova problematika složena, ukazuje i na neophodnost da joj se pristupi primenom naučnih metoda. Svi navedeni pristupi ovom pojmu, kao i činjenica da postoje i ostale kategorije proizvoda čije se osobine i uloge preklapaju sa onima funkcionalne hrane ukazuju na značaj prepoznavanja aktivnih komponenti koje određene namirnice čine funkcionalnim. Ovaj aspekt doveo je do dodatne ekspanzije nauke o hrani, koja se i inače poslednjih desetina godina razvija velikom brzinom. Kao rezultat brojnih istraživanja, danas imamo veliki broj podataka koji govore o tome koja se vrsta aktivnih komponenti može naći u određenim kategorijama prehrambenih proizvoda. Sastojci koji daju funkcionalnost hrani mogu se naći u gotovo svim kategorijama prehrambenih proizvoda, a funkcionalna osobina može u proizvod biti uneta na jedan od načina koji su prikazani u tabeli 1.

**Tabela 1:** Mogućnosti unošenja funkcionalnih osobina u proizvode

<b>Tip funkcionalne hrane</b>	<b>Definicija</b>	<b>Primer</b>
Fortifikovan proizvod (fortified product)	Hrana u kojoj je povećana koncentracija već postojećeg nutrijenta	Voćni sok u koji je dodat vitamin C
Obogaćeni proizvod (enriched product)	Hrana u koju su dodati novi nutrijenti ili komponente koje se normalno ne nalaze u toj specifičnoj hrani	Margarin sa dodatim estrima biljnih sterola; probiotici, prebiotici
Izmenjeni proizvod	Hrana iz koje je uklonjena štetna komponenta, ili je njen sadržaj redukovan; ili je zamenjena drugom supstancom koja pokazuje povoljne efekte	Vlakna kao medijum iz kojih se oslobadjaju masnoće u mesima ili sladoledima
Poboljšani proizvod	Hrana u kojoj je sadržaj jedne od komponenti prirodno uvećan specijalnim uslovima rasta, novim sastavom stočne hrane, genetskom manipulacijom ili drugačije	Jaja sa povećanim sadržajem omega-3, postignuto izmenjenom ishranom kokošaka

Izvor: *Siró i saradnici, 2008*

U najranijim istraživanjima posvećenim otkrivanju sastojaka koji daju funkcionalnost nekoj hrani, najpre je u ovom smislu prepoznata uloga vitamina (C, E, folne kiseline...) i minerala (jedinjenja cinka, gvožđa, kalcijuma) (*Sloan, 2000*), a potom i mnogih mikronutrijenata, kao što su fitosteroli ili omega-3 masne kiseline (*Sloan, 2002*). U principu najveće interesovanje vlada za proizvodima koji sadrže više od jedne aktivne komponente, odnosno, čije konzumiranje donosi više povoljnih efekata po zdravlje, istovremeno.

Neki tipični funkcionalni sastojci se nalaze u određenim kategorijama hrane. Na primer, funkcionalna bezalkoholna pića uobičajeno sadrže vitamine (voćni sokovi). Takođe postoje i kategorije pića koje doprinose snižavanju holesterola u krvi (zahvaljujući komponentama kao što su omega-3 masne kiseline i soja); ili ona koja doprinose zdravlju očiju (sadrže lutein) ili kostiju (sadrže kalcijum) (*Keller, 2006*). Kada su u pitanju cerealije, treba istaći da one svojom multifunkcionalnošću (poseduju više funkcionalnih komponenti sa različitim ulogama i uticajem na

zdravlje) donose mogućnost dizajniranja veoma raznovrsnih funkcionalnih proizvoda, kako onih od opšteg značaja, tako i proizvoda za posebne kategorije konzumenata. U njima se nalaze u vodi rastvorna vlakna (beta-glukan i arabinoksilan), zatim oligosaharidi (galakto- i gluko-oligosaharidi) i rezistentni skrob. Nesvarljivi ugljeni hidrati koji potiču iz cerealijskih, osim što su sami po sebi fiziološki korisni, mogu selektivno da stimuliraju rast laktobacila i bifidobakterija koje se nalaze u debelom crevu i imaju ulogu prebiotika. Takođe, cerealijske mogu da se koriste kao fermentabilni supstrati za rast probiotičkih mikroorganizama. Neke njihove komponente (kao što je skrob) mogu se koristiti kao materijali za inkapsulaciju da bi tako uvećali kako njihovu stabilnost tokom čuvanja, tako i vijabilnost tokom prolaska kroz gastrointestinalni trakt. Beta-glukan može biti korišćen u mlečnoj industriji (proizvodnja sladoleda i jogurta sa niskim sadržajem masnoća) (Brennan i Cleary, 2005).

Kategorije prehrambenih proizvoda kao što su premazi, meso ili jaja takođe su predmet izučavanja u vezi sa prisutnim funkcionalnim komponentama ili zbog mogućnosti da se promenom sastava promeni i funkcionalnost konkretnog proizvoda. Estri fitosterola ili omega-3 masne kiseline koje se mogu naći u margarinima ili premazima dugo su predmet interesovanja zbog uticaja na lipidni status kod ljudi (Hopia, 2006). Kada se radi o proizvodima od mesa, njihova funkcionalnost može biti značajno promenjena primenom različitih načina ishrane životinja ali takođe i dodavanjem antioksidanata, vlakana ili probiotika (Ricondo i Ayo, 2007; Scollan, 2007). Osim omega-3 masnim kiselinama, jaja mogu biti obogaćena selenom ali i vitaminima kao što su A, D, E, B12 ili folna kiselina (Siró i saradnici, 2008).

Kada se radi o pekarskim proizvodima, koji su zbog velike prihvaćenosti među potrošačima idealni matriks preko koga im se funkcionalne komponente mogu ponuditi, treba istaći da u ovoj oblasti ostaje da se uradi još mnogo toga. Naime, može se uočiti da se na tržištima većine zemalja nudi više funkcionalnih proizvoda iz drugih kategorija. Kroz ove prehrambene proizvode konzument može dobiti funkcionalne komponente kao što su: vlakna, vitamini iz B grupe, gvožđe, cink, inulin, itd. (Alldrick, 2007).

Efekti koje funkcionalna hrana može imati na zdravlje ljudi su očigledno brojni i raznovrsni, kakve su i komponente koje hrani daju funkcionalnost. Veliko interesovanje vlada za poboljšanje imunog sistema ljudi, za smanjenje rizika razboljevanja od infektivnih bolesti kao i za antimikrobne efekte; zatim za sprečavanje ili smanjivanje faktora rizika oboljevanja od kardiovaskularnih bolesti, bolesti koštanog tkiva ili kancera. Svakako, nabrojane ili neke druge efekte namirnice mogu ispoljavati zbog prisustva jedne ili više komponenti; a za koje je naučnim metodama dokazano da u količinama u kojima su prisutne ispoljavaju neki od navedenih efekata. Kako su primeri funkcionalnih komponenti i njihov uticaj na određene aspekte zdravlja brojni, tabele koje sumiraju ove podatke date su u Prilogu 1.

Na kraju ovog prikaza funkcionalnosti hrane, treba istaći da je jedan od efekata funkcionalnih, a koji je verovanto izazvao najveće interesovanje i shodno tome je među najviše istraživanim, podizanje nivoa antioksidativne odbrane organizma. Oksidativni stres, faktori koji do njega dovode, kao i oni koji na njega utiču u smislu da mogu da smanje rizik od oksidativnog stresa ili umanje njegove efekte zbog toga su predmet brojnih studija poslednjih decenija, kao i danas.

### **2.1.1. Funkcionalna uloga antioksidanata**

#### 2.1.1.1. Oksidativni stres

Pojam fiziološkog stresa najpre je u biomedicinskoj literaturi korišćen da predstavi stanje opisano hiperaktivnošću hormonskog sistema, posebno kortikosterioda iz nadbubrežne kore. Ovaj složeni pojam je zapravo dugo bio nedovoljno jasno definisan sa fizičko-hemijske tačke gledišta; međutim danas se zna da u njemu oksido-redukциони (redoks) procesi imaju glavnu ulogu (*Breitenbach i Eckl, 2015*). Pojam oksidativnog stresa uveden je pre samo 30 godina u uvodnom poglavlju knjige nazvane "Oksidativni stres" i bio je inspirisan prethodnim radovima koji su se bavili metabolizmom kiseonikovih ali i drugih radikala i vezom sa problemom starenja (*Sies, 2015*). Jedan revijalni rad objavljen nedavno, osim što sumira razne oblike oksidativnog stresa (nutritivni, fiziološki, postprandijalni, izazvan dijetama, fotooksidativni, izazvan radijacijom) navodi i njegove definicije; kako početnu koja kaže da je oksidativni stres "poremećaj ravnoteže između pro- i antioksidanata u

korist prvih” tako i savremenu po kojoj se radi o “neravnoteži između oksidativnih vrsta i antioksidanata u korist prvih, koja dovodi do poremećaja redoks signalizacije i kontrole i/ili do oštećenja molekula” (Sies, 2015). Pored ovih, praktična definicija kaže da se radi o: “situaciji u kojoj je ravnotežna koncentracija reaktivnih kiseoničnih vrsta trenutno ili hronično povećana, što remeti ćelijski metabolizam i njegovu regulaciju i oštećuje ćelijske konstituente” (Lushchak, 2014).

Zapravo, tokom normalnih biološki važnih procesa u kojima je jedan od neophodnih učesnika kiseonik, stvaraju se reaktivne kiseonične kao i reaktivne azotove vrste (reactive oxygen, reactive nitrogen species – ROS i RNS, respektivno), a takođe i reaktivne hlorne vrste.

Kada su koncentracije ROS i RNS fiziološki prihvatljive (reda veličine piko molova) (Droge, 2002) one imaju svoje fiziološke uloge u oksido-redukcionim ćelijskim procesima, ili u mehanizmu imunog odgovora (Taverne i saradnici, 2013). Pod normalnim uslovima, koncentracije reaktivnih vrsta održavaju se u navedenim poželjnim granicama dejstvom brojnih antioksidanata (Droge, 2002) pa je produkcija prooksidativnih vrsta u ravnoteži sa antioksidativnom zaštitom organizma. Međutim, u slučaju kada dejstvom nekih od prooksidanata - agenasa koji izazivaju oksidativni stres (fizičko-hemijski, ekološki ili patološki agensi kao što su: atmosferski zagađivači, dim cigareta, ultraljubičasti zraci, radioaktivno zračenje, toksične hemikalije kao i prekomerni unos hrane) (Devasagayam i saradnici, 2004), koncentracije reaktivnih vrsta postanu više od poželjnih, dešavaju se brojni štetni procesi u kojima one učestvuju. Dugotrajni disbalans između proizvodnje reaktivnih vrsta i odbrambene antioksidativne zaštite organizma sa prevagom ravnoteže na stranu reaktivnih vrsta dovodi posledično do oksidativnog oštećenja ćelija i tkiva organizma, što je dovedeno u vezu sa patogenezom mnogih bolesnih stanja. Naime, reaktivne vrste i reaktivne azotove vrste, endogenog ili egzogenog porekla, mogu lako da napadnu sve klase biomolekula (proteni, DNK, nezasiće masne kiseline), što dovodi do oštećenja makromolekula, odnosno do dezintegracije ćelijskih membrana i promene ćelijske morfologije i funkcije, što sve ukupno rezultira smrću ćelije (Đukić i saradnici, 2008). Oksidativni stres doveden je u vezu sa mnogim bolestima kao što su neurodegenerativne, kancer, ateroskleroza, dijabetes, kao i uopšte stanja povezana sa starenjem (Halliwell i Whiteman, 2004).



## 2.1.1.2. Slobodni radikali

Reaktivne vrste su veoma heterogena grupa hemijskih jedinjenja čija prva klasifikacija može biti data kao podela na slobodne radikale i ostale reaktivne vrste ili neradikale. Slobodni radikali su nestabilni, kratkoživoći i ispoljavaju ekstremnu hemijsku reaktivnost zbog posedovanja nesparenih slobodnih elektrona, dok ostale reaktivne (neradikalske) vrste ne spadaju u ovu kategoriju jer ne poseduju slobodne nesparene elektrone i stoga pokazuju pre svega oksidativna ali manje reaktivna svojstva (Droge, 2002; Taverne i saradnici, 2013).

Tabela 2 daje spisak i nomenklaturu mogućih reaktivnih vrsta, dok Tabela 3 pokazuje vremena poluživota na 37°C za neke od njih.

**Tabela 2:** Nomenklatura reaktivnih vrsta

Slobodni radikali	Neradikali
<b>Reaktivne kiseonične vrste (ROS)</b>	
Superoksid radikal, $O_2^{\bullet-}$	Vodonik-peroksid, $H_2O_2$
Hidroksil radikal, $OH^{\bullet}$	Hipobromna kiselina, $HOBr$
Hidroperoksil radikal, $HO_2^{\bullet}$	Hipohlorna kiselina, $HOCl$
Peroksil radikal, $RO_2^{\bullet}$	Ozon, $O_3$
Alkoksil radikal, $RO^{\bullet}$	Singletni kiseonik, $O_2Dg$
Karbonatni radikal, $CO_3^{\bullet-}$	Organski peroksidi, $ROOH$
Ugljendioksidni radikal, $CO_2^{\bullet-}$	Peroksinitrit, $ONOO$
	Peroksinitritna kiselina, $ONOOH$
<b>Reaktivne hlorne vrste (RCS)</b>	
Atomski hlor, $Cl^{\bullet}$	Hipohlorasta kiselina, $HOCl$
	Nitril (nitronijum) hlorid, $NO_2Cl$
	Hloramini
	Gas hlora, $Cl_2$
<b>Reaktivne azotne vrste (RNS)</b>	
Azot-oksid, $NO^{\bullet}$	Nitritna kiselina, $HNO_2$
Azot-dioksid, $NO_2^{\bullet}$	Nitrozonijum katjon, $NO^+$
	Nitroksil anjon, $NO^-$
	Diazot tetraoksid, $N_2O_4$
	Diazot trioksid, $N_2O_3$
	Peroksinitrit, $ONOO$
	Peroksinitritna kiselina, $ONOOH$
	Nitronijum (nitril) katjon, $NO_2^+$
	Alkil peroksinitrit, $ROONO$
	Nitril (nitronijum) hlorid, $NO_2Cl$

Izvor: Halliwell i Whiteman, 2004

**Tabela3: Slobodni radikali**

Molekuli	Simboli	Vremena poluživota na 37°C
Molekulski kiseonik	O <sub>2</sub>	> 10 <sup>2</sup>
Lipidni peroksid	ROOH	> 10 <sup>2</sup>
Semikinon radikal	Q• –	> 10 <sup>2</sup>
Vodonik-peroksid	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10
Peroksil radikal	ROO•	1 × 10 <sup>-2</sup>
Superoksid radikal	O <sub>2</sub> •-	1 × 10 <sup>-6</sup>
Singletkiseonik	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	1 × 10 <sup>-6</sup>
Alkoksilni radikal	RO•	1 × 10 <sup>-6</sup>
Hidroksilni radikal	OH•	1 × 10 <sup>-9</sup>

Izvor: *Palmieri i Sblendorio, 2007*

Nastanak reaktivnih vrsta je uzrokovan endogenim i egzogenim faktorima. Endogeni slobodni radikali i ostale neradikalske vrste nastaju u organizmu neprekidno normalnim fiziološkim procesima. Većina ćelija može da proizvede takozvane "superokside" (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i NO) dok neke proizvode ROS i RNS kao odgovor na određene efekte. Stoga je važno pomenuti povoljne i korisne efekte postojanja reaktivnih vrsta. Odbrana od infekcije fagocitozom, ubijanje ćelija kancera makrofagama i citotoksičnim limfocitima, detoksifikacija od ksenobiotičkih supstanci Citohrom P450 ćelijama, nastanak ATP-a u mitohondrijama su neke od ključnih blagotvornih efekata ROS i RNS (*Fang i saradnici, 2002; Devasagayam i saradnici, 2004*). Međutim, postoje i mnogobrojni egzogeni faktori koji dovode do nastanka reaktivnih vrsta: dejstvo zagađivača iz okruženja, duvanski dim, različite vrste zračenja, psihički stres kao neizbežni deo svakodnevice, nepravilan dijetetski režim i loše navike u ishrani, nedovoljna fizička aktivnost, intenzivni mišićni rad pa čak i neke oblici terapija i neki lekovi koji se kao zagađivači nalaze u okruženju (*Živančević-Simonović i saradnici, 2004; Palmieri i Sblendorio, 2007*).

Može se reći da je uloga reaktivnih vrsta dvojaka: prisutni na fiziološkim nivoima oni mogu da služe kao signalni i regulatorni molekuli, ali mogu takođe da budu veoma štetni i citotoksični oksidanti ukoliko su prisutni na patološkim nivoima. Biološki procesi ili faktori koji su na neki način u vezi sa nastankom ili postojanjem slobodnih radikala su prikazani u Tabeli 4.

**Tabela 4:** Biološki procesi/ faktori koji su u vezi sa nastankom slobodnih radikala

<b>Biološki sistem/ Faktor</b>	<b>Efekti slobodnih radikala</b>
Imunološki sistem	Ćelije stvaraju kiseonične radikale i ROS kao odgovor na dejstvo patogenih faktora.
Metabolički procesi	Slobodni radikali nastaju tokom metabolizma arahidonske kiseline, trombocita, makrofaga i ćelija glatkih mišića. Mitohondrije konstantno proizvode ROS kao "otpadne" proizvode tokom metaboličkih procesa.
Upalni procesi	Upalni procesi dovode do nastanka citokina i iniciraju neutrofile i makrofage da stvaraju slobodne radikale.
Stres	Fizički i mentalni stres izaziva nastanak slobodnih radikala. Takođe, destrukcijom molekula hormona kojima organizam odgovara na stres (kortizol i kateholamin) nastaju slobodni radikali.
Zagađenje	Različiti zagađivači vazduha (azbest, benzen, CO, O <sub>3</sub> , formaldehid toluen), rastvarači, proizvodi za čišćenje, lepkovi, boje, parfemi, pesticidi, zagađivači vode (hloroform i drugi trihalometani) jesu potencijalni izvor slobodnih radikala. Sagorevanje organske materije tokom kuvanja, požara i vulkanske aktivnosti takođe dovodi do njihovog nastanka.
Radijacija	UV zračenje, X-zraci upotrebljeni u medicinske svrhe, $\gamma$ i mikrotalasno zračenje dovodi do nastanka slobodnih radikala.
Dijetetski faktori	Aditivi u hrani, alkohol, kafa, hrana animalnog porekla, hrana sa roštilja, pržena ili uopšte hrana tretirana na visokim temperaturama, herbicidi, hidrogenizovane biljne masti, hrana koja sadrži visoke koncentracije lipidnih peroksida može da prouzrokuje nastanak slobodnih radikala.
Toksini i lekovi	CCl <sub>4</sub> , parakat, benzopiren, anilinske boje, toluen i lekovi kao što su antibiotici adriamicin, bleomicin, mitomicin C, lekovi koji utiču na centralni nervni sistem, kao i drugi, podstiču nastanak slobodnih radikala.
Ostali faktori	Izduvni gasovi i konzumiranje produkata od duvana prouzrokuju nastanak slobodnih radikala.

Izvor: *Andreescu i saradnici, 2011*

### 2.1.1.3. Antioksidanti

Antioksidanti predstavljaju supstance koje, prisutne u malim koncentracijama mogu odložiti, inhibirati ili sprečiti oksidativne procese (*Andreescu i saradnici, 2011*), na taj način utičući i na umanjeње oksidativnog stresa definisanog kao stanje pri kome prekomerne količine reaktivnih vrsta prevazilaze endogeni antioksidativni kapacitet. Kako su slobodni radikali i neradikalske reaktivne vrste nestabilni i teže

da ostvare stabilnost interakcijom sa biološkim makromolekulima, može se reći da su antioksidanti vrste koje omogućavaju neutralizaciju slobodnih radikala, odnosno doprinose smanjivanju potencijalne energije neradikalnih reaktivnih vrsta. Antioksidanti vrše svoje funkcije tako što:

- deluju kao „hvatači“ (engleski: scavengers) slobodnih radikala, odnosno donori elektrona ili vodonikovog atoma;
- kompleksiraju jone metala i na taj način sprečavaju njihovu katalitičku funkciju u procesima razgradnje lipidnih hidro-peroksida i nastanka slobodnih radikala;
- razgrađuju hidro-perokside lipida, transformišući ih u neradikalne vrste, na primer alkohole;
- sprečavaju dejstvo singletnih oblika kiseonika;
- inhibiraju neke enzime;
- pokazuju sinergističke efekte i
- redukuju neka jedinjenja (*Aruoma*, 1996).

Antioksidanti su brojni i mogu se klasifikovati na više načina. Prema načinu delovanja u ljudskom organizmu podeljeni su na: preventivne, „skevindžer“ i reparacione antioksidante. Preventivni antioksidanti sprečavaju nastanak slobodnih radikala. „Skevindžer“ antioksidanti poseduju sposobnost da „hvataju“ slobodne radikale, dok reparacioni antioksidanti deluju posebnim mehanizmima, obnavljajući ili uklanjajući oštećene vitalne biomolekule koji nastaju u uslovima oksidativnog stresa (u ovu grupu spadaju fosfolipaze, proteaze, enzimi koji obnavljaju DNK, transferaze) (*Shi i saradnici*, 2001).

Klasifikacija zasnovana na prirodi antioksidanata je na enzimске i neenzimске; dok se prema mestu nastajanja antioksidanti značajni za ljudski organizam dele na endogene (nastaju u ljudskom organizmu) i egzogene (unose se putem hrane ili lekova) (*Duthie i saradnici*, 2000).

Enzimatski antioksidanti deluju tako što razaraju i uklanjaju slobodne radikale. Enzimi antioksidanata pretvaraju opasne oksidativne produkte u vodonik peroksid ( $H_2O_2$ ) pa zatim u vodu, u procesu koji se odvija u više koraka uz prisustvo kofaktora kao što su bakar, cink, mangan i gvožđe.

**Tabela 5:** Enzimatski antioksidanti, njihova ćelijska lokacija i reakcije koje sprovode

<b>Enzimatski antioksidant</b>	<b>Ćelijska lokacija</b>	<b>Substrat</b>	<b>Reakcija</b>
Mn/Cu/Zn SOD	Mitochondrijalni matriks (Mn SOD) citosol (Cu/Zn SOD)	$O_2^{\cdot-}$	$O_2^{\cdot-} \rightarrow H_2O_2$
CAT	Peroksizomozni citosol	$H_2O_2$	$2H_2O_2 \rightarrow O_2 + H_2O$
GSHPx	Citosol	$H_2O_2$	$H_2O_2 + GSH \rightarrow GSSG + H_2O$
Prx-I	Citosol	$H_2O_2$	$H_2O_2 + TrxS_2 \rightarrow Trx(SH)_2 + H_2O$

Izvor: *Nimse i Pal, 2015*

Neenzimatski antioksidanti funkcionišu tako što ometaju lančane reakcije slobodnih radikala. Primeri neenzimatskih antioksidanata su vitamin C, vitamin E, biljni polifenoli, karotenoidi i glutation (*Shahidi i Zhong, 2010*).

Endogeni antioksidanti su: enzimi (superoksid dismutaza, katalaza, glutation peroksidaza), mokraćna kiselina, bilirubin, tioli (glutation, lipolna kiselina, N-acetil cistein), koenzim Q10 (ubihinon), proteini koji kompleksiraju jone metala (albumin-bakar, ceruloplazmin-bakar, feritin-gvožđe, mioglobin-gvožđe, transferin-gvožđe). U egzogene antioksidante spadaju vitamin C, vitamin E, karotenoidi ( $\beta$ -karoten), oksikarotenoidi (likopen), polifenolna jedinjenja (flavonoidi, fenolne kiseline, proantocijanidoli, itd) (*Andreescu i Hepel, 2011*).

Još jedna klasifikacija antioksidanata je na osnovu njihove rastvorljivosti u vodi ili u lipidima.

a) Antioksidanti rastvorljivi u vodi (vitamin C) su prisutni u celularnim tečnostima kao što su citosol, ili citoplazmatični matriks.

b) Antioksidanti koji su rastvorljivi u lipidima (vitamin E, karotenoidi) su dominantno locirani u ćelijskim membranama (*Andreescu i Hepel, 2011*).

Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), je efikasan u lipidima rastvorljivi antioksidant koji funkcionišu na bazi prekida lanca tokom peroksidacije lipida u ćelijskoj membrani. Njegova je funkcija da presretne lipid peroksil radikala ( $LOO^{\cdot}$ ) i da zaustavi lipid peroksidne lančane reakcije (1).



Rezultirajući tokoferoksil radikal je relativno stabilan i u normalnim okolnostima nedovoljno reaktivan da sam inicira lipidnu peroksidaciju, što je osnovni kriterijum dobrog antioksidanta (*Witting i saradnici, 1997*).

Zbirna klasifikacija antioksidanata je prikazana Tabelom 6.

**Tabela 6:** Klasifikacija antioksidanata

<p><b>A. Podela zasnovana na prirodni antioksidanata</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Enzimski antioksidanti:</i> Superoksid dismutaza (SOD), Katalaza (CAT), Glutation peroksidaza (GPx), Glutation reduktaza (GR).</li> <li>2. <i>Neenzimski antioksidanti:</i> <ol style="list-style-type: none"> <li>a) metabolički antioksidanti (Redukovani glutation (GSH), L-arginin, ko-enzim Q10, melatonin, bilirubin, metal-helatni proteini, transferin, itd);</li> <li>b) nutritivni antioksidanti (vitamini E i C, karotenoidi, flavonoidi <math>\Omega</math>-3 i <math>\Omega</math>-6 masne kiseline, metali prisutni u tragovima: Se, Mn, Zn).</li> </ol> </li> </ol>
<p><b>B. Podela zasnovana na poreklu antioksidanata</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Endogeni antioksidanti:</i> Bilirubin, glutation, ko-enzim Q10, NADPH, NADH, enzimi (SOD, CAT, GPx,GR)</li> <li>2. <i>Dijetetski antioksidanti:</i> Vitamini E iC, beta karoten i drugi karotenoidi i oksikarotenoidi (likopen i lutein), polifenoli;</li> <li>3. <i>Metal-vezujući proteini</i> Albumin, ceruloplazmin, metalotionein (Cu), feritin, mioglobin, transferin (Fe)</li> </ol>
<p><b>C. Podela zasnovana na mehanizmu dejstva</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Katalitički sistemi koji mogu da neutrališu ili promene ROS</i> SOD, CAT, GPx</li> <li>2. <i>Vezivanje/inaktivacija metalnih jonakoj sprečava stvaranje ROS Haber-Weiss reakcijom</i> Feriti, ceruloplazmin, katehini</li> <li>3. <i>Antioksidanti čiji molekuli propadaju tokom prekidanja lančanih reakcija, hvatanja i uništavanja ROS</i> Vitamin C, vitamin E, glutation, flavonoidi</li> <li>4. <i>“Quenching” (gašenje) ROS, hemijska reakcija</i> Karotenoidi, antocijanidini.</li> </ol>

Izvor: *Andreescu i saradnici, 2011*

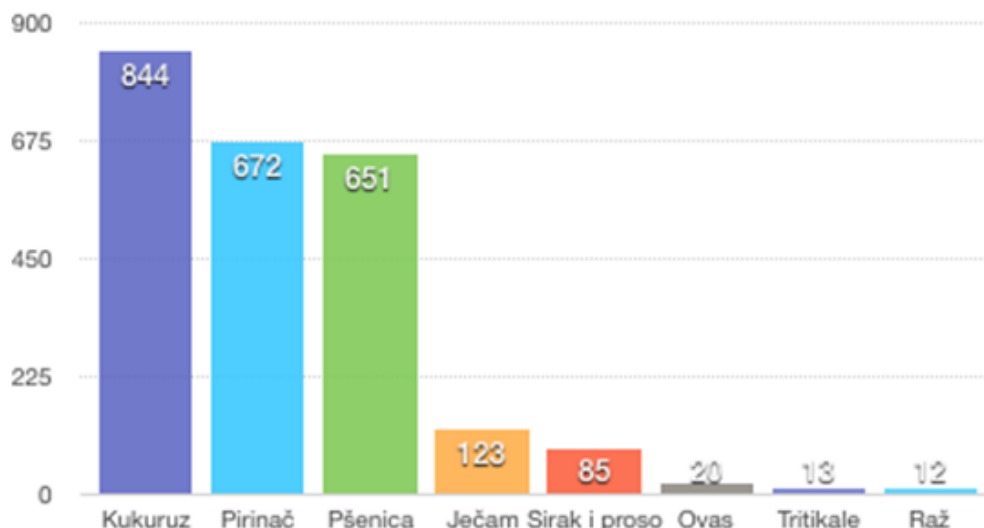
Interesovanje za konzumiranje hrane koja u sebi sadrži antioksidante je sve veće. Naime kako je oksidativni stres prepoznat kao uzročnik mnogih bolesnih stanja; i

kako je često količina endogenih antioksidanata nedovoljna da bi se u potpunosti sprečila prekomerna produkcija slobodnih radikala i oksidativni stres, neophodno je unošenje dodatnih količina antioksidanata. Egzogeni antioksidanti (poreklom iz hrane) se mogu unositi u organizam svakodnevno čime se štetna delovanja slobodnih radikala ili generalno reaktivnih hemijskih vrsta na normalne fiziološke funkcije mogu značajno smanjiti. Iako egzogeni antioksidanti mogu biti prirodni (poreklom iz različitih biljnih ili životinjskih izvora) i sintetski, interesovanje vlada uglavnom za one iz prirodnih izvora jer postoje indikacije o štetnim dejstvima onih koji su dobijeni hemijskim putem (Miková, 2001). Stoga se preporučuje konzumiranje hrane bogate prirodnim antioksidantima (voće, povrće, prirodni sokovi, žitarice, vino, čokolada, itd.) kao i prerađene hrane obogaćene ovim bioaktivnim supstancama. Iz ovih razloga interesovanje za naučnim metodama dobijenim podacima o identifikovanim hemijskim vrstama koje imaju antioksidativne uloge, kao i o njihovim količinama prisutnim u određenim namirnicama neprekidno raste; a istraživanja na ove teme su sve brojnija i sve interesantnija u širokom javnom auditorijumu.

## **2.2. Hemijski sastav i nutritivna svojstva žita**

Žita predstavljaju osnovnu hranu još od početka civilizacije pa sve do danas. Osim u ljudskoj ishrani ona su dominantna i u ishrani životinja, a imaju svoju upotrebu i u proizvodnji energije (na primer u proizvodnji bioetanolu). Prema zastupljenosti vodeća žita u svetu su pšenica, kukuruz, pirinač, ječam, sirak, razne vrste prosa, ovas i raž; ova žitauzgajaju se na skoro 60% obradivih površina celog sveta (Koehler i Wieser, 2012). Pšenica, kukuruz i pirinač zauzimaju najveći procenat u proizvodnji žita (slika 2) i imaju najveći prinos (FAO).

Hemijski sastav žita se prema vrstama značajno razlikuje. Ove razlike koje su prikazane u tabeli 7, delimično određuju reološke karakteristike dobijenih brašna, a samim tim i izgled i senzorna svojstva gotovih proizvoda.



Slika 2: Proizvodnja žitarica po vrstama u milionima tona, (FAO, 2010)

Tabela 7: Hemijski sastav zrna žitarica (prosečne vrednosti)

	Pšenica	Raž	Kukuruz	Ječam	Ovas	Pirinač	Proso
<b>(g/100g)</b>							
Vlaga	12,6	13,6	11,3	12,1	13,1	13,0	12,0
Proteini (Nx6,25)	11,3	9,4	8,8	11,1	10,8	7,7	10,5
Lipidi	1,8	1,7	3,8	2,1	7,2	2,2	3,9
Dostupni ugljenihidrati	59,4	60,3	65,0	62,7	56,2	73,7	68,2
Vlakna	13,2	13,1	9,8	9,7	9,8	2,2	3,8
Minerali	1,7	1,9	1,3	2,3	2,9	1,2	1,6
<b>(mg/kg)</b>							
Vitamin B1 (tiamin)	4,6	3,7	3,6	4,3	6,7	4,1	4,3
Vitamin B2 (riboflavin)	0,9	1,7	2,0	1,8	1,7	0,9	1,1
Nikotinamid	51,0	18,0	15,0	48,0	24,0	52,0	18,0
Pantoteinska kiselina	12,0	15,0	6,5	6,8	7,1	17,0	14,0
Vitamin B6	2,7	2,3	4,0	5,6	9,6	2,8	5,2
Folna kiselina	0,9	1,4	0,3	0,7	0,3	0,2	0,4
Ukupni tokoferoli	41,0	40,0	66,0	22,0	18,0	19,0	40,0

Izvor: Goesaert i saradnici, 2005; Belitz i saradnici, 2009



### 2.2.1. Ugljeni hidrati

Žita u proseku sadrže oko 66–76% ugljenih hidrata, što ovu grupu čini najzastupljenijim konstituentom zrna. Ugljeni hidrat sa najvećim udelom je svakako škrob (55–70%) koga prate manje zastupljeni arabinoksilani (1,5–8%),  $\beta$ -glukani (0,5–7%), šećeri (~3%), celuloza (~2,5%) i glukofruktani (~1%) (McKevith, 2004).

#### 2.2.1.1. Škrob

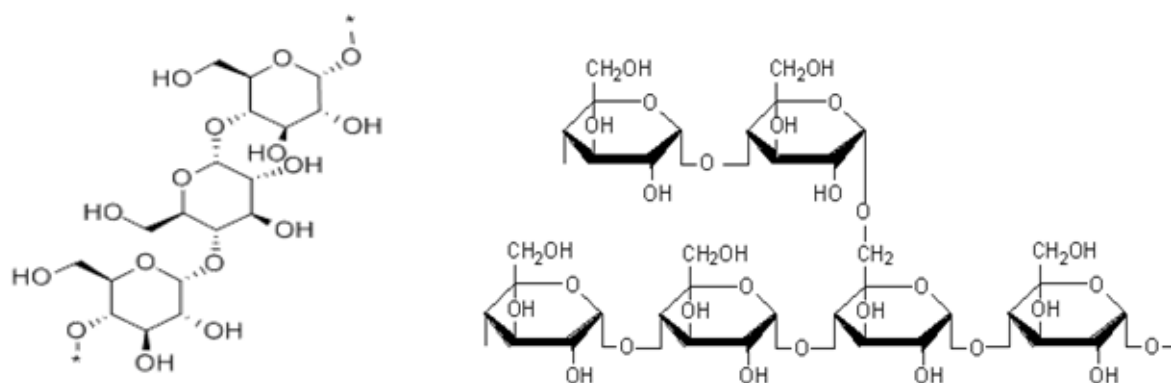
Škrob ima važnu ulogu kao najveća skladišna komponenta ugljenih hidrata u žitima i ne manje važnu ulogu u ljudskoj ishrani. Zbog svojih specifičnih osobina škrob u velikoj meri određuje kvalitet raznih proizvoda od žita (hleba i drugih). Pored upotrebe u prehrambenoj industriji, koristi se i u proizvodnji bioetanolu (Goesaert i saradnici, 2005; Zeeman, 2010).

##### 2.2.1.1.1. Amiloza i amilopektin

U zrnu žita škrob je smešten u endospermu, središnjem delu zrna, i prisutan je u formi granula. Sastoji se od dva u vodi nerastvorljiva homoglukana, amiloze i amilopektina. Škrob žita se obično sastoji od 25–28% amiloze i 72–75% amilopektina (Colonna i Buléon, 1992).

Amiloza se sastoji od  $\alpha$ -(1,4)-povezanih d-glukopiranoznih jedinica i skoro je linearna. Delovi molekula takođe imaju  $\alpha$ -(1,6)-veze koje obezbeđuju blago razgranatu strukturu (Hizukuri i saradnici, 1981; Shibanuma i saradnici, 1994). Stepenn polimerizacije se kreće od 500 do 6000 glukoznih jedinica dajući molekularnu težinu (MT) od  $8 \times 10^4$  do  $10^6$ . Amiloza se nalazi u unutrašnjosti skroba i ima nerazgranatu, helikoidnu strukturu. Amilopektin je odgovoran za granularnu prirodu skroba, ima razgranatu strukturu sličnu glikogenu. On sadrži 30000–3000000 glukoznih jedinica i zbog toga ima značajno veću težinu MT ( $10^7$ – $10^9$ ) od molekula amiloze (Buléon i saradnici, 1998).

Amilopektin je veoma razgranat polisaharid koji se sastoji od  $\alpha$ -(1,4)-povezanih d-glukopiranoznih jedinica, koje su međusobno povezane  $\alpha$ -(1,6)-glukozidnim vezama, nazvane tačkama grananja (Zobel, 1988).  $\alpha$ -(1,4)- lanci imaju varijabilnu dužinu od 6 do više od 100 glukozidnih jedinica zavisno od mesta molekula gde su locirani (Hizukuri, 1986).



Amiloza

Amilopektin

**Slika 3:** Struktura amiloze i amilopektina

#### 2.2.1.1.2. Granule skroba

U zavisnosti od vrste žita, u endospermu skrob je prisutan u vidu intracelularnih granula različitih oblika i veličina. Za razliku od većine biljnih skrobova, skrob pšenice, raži i ječma obično ima dve vrste granula koje se razlikuju prema veličini. Male sferične B-granule sa prosečnom veličinom od 5  $\mu\text{m}$  i velike elipsoidne A-granule sa prečnikom od oko 20  $\mu\text{m}$  (Karlsson i saradnici, 1983).

Veoma gusto upakovani A-tip se nalazi u većini skrobova žita, dok je više hidrirani nalik na cevčicu B-tip u visoko amiloznim skrobovima i retrogradiranim skrobovima (Hizukuri, 1996; Buléon i saradnici, 1998). Mešavine A i B tipa predstavljaju C tip.

#### 2.2.1.1.3. Morfološke promene skroba tokom tehnološke prerade

Tokom tehnološke pripreme i prerade brašna, žita i skrob se često homogenizuju sa vodom i podvrgavaju temperaturnom tretmanu. Ovaj proces indukuje mnoge transformacije i podstiče promenu koja se naziva želatinizacija skroba (Atwell, 1988).

U zavisnosti od sadržaja i distribucije vode kao i tretmana toplotom, molekularni red granula skroba može kompletno da se transformiše od semikristalnog do amorfno stanja. Suspenzija skroba nastaje u toku mešanja skroba sa vodom na sobnoj temperaturi. Tokom procesa mešanja skrob apsorbira i do 50% od svoje težine zbog fizičke imobilizacije vode u prostoru između granula, i dolazi do bubrenja. Proces bubrenja se povećava dodatno pod uticajem temperature. U slučaju da je temperatura ispod temperature želatinizacije skroba, ovaj proces je reverzibilan.

Kako se temperatura vode povećava, granule skroba su permeabilnije za molekule vode, čime je inicijalni proces hidratacije (*Tester i Debon, 2000*).

Endotermsko topljenje kristala može da se prati diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom (DSC). Merenje viskoznosti pomoću amilografa, takođe omogućava praćenje procesa želatinizacije skroba. Karakteristične tačke su početna temperatura ( $T_p$ ;  $\sim 45$  °C), koja prati inicijaciju procesa, a takođe i temperatura pika ( $T_p$ ;  $\sim 60$  °C), kao i završna ( $T_z$ ;  $\sim 75$  °C) temperatura. Vrednosti ovih temperatura su podložne promeni u zavisnosti od botaničkog izvora skroba i od sadržaja vode u suspenziji. Gubitak molekularnog reda i kristalne strukture tokom želatinizacije praćen je daljim bubrenjem granula zbog povećane apsorpcije vode i ograničene rastvorljivosti skroba. Uglavnom se amiloza rastvara u vodi, što jako povećava viskoznost suspenzije skroba. Ova pojava se naziva "curenje amiloze," i izazvana je fazom separacije između amiloze i amilopektina, koji se ne mešaju (*Kalichevsky i Ring, 1987*).

Tokom hlađenja uz mešanje viskozitet skrobne paste se povećava. Promene koje se dešavaju tokom hlađenja i čuvanja skrobne paste se nazivaju retrogradacija (*Atwell, 1988*). To je proces od izuzetne važnosti za pekarske proizvode jer predstavlja osnovu njihovog starenja (bajaćenja).

Proces retrogradacije može da se podeli na dva dela. Prvi deo je vezan za amilozu i odvija se u intervalu od nekoliko minuta do nekoliko sati. Drugi deo je vezan za amilopektin i odvija se u intervalu od nekoliko sati do nekoliko dana. Retrogradacija amiloze je odgovorna za inicijalnu tvrdoću skrobnog gela ili sredine hleba, dok retrogradacija amilopektina određuje dugoročnu strukturu gela, kristalizaciju, tvrdoću i mrvljivost sredine hleba (*Miles i saradnici, 1985*).

Tokom hlađenja ostaci granula koji su obogaćeni amorfnim amilopektinom postaju inkorporirani u kontinuirani amilozni matriks. Molekuli amiloze koji su rastvoreni tokom procesa želatinizacije ponovo se udružuju u lokalni dupli heliks međupovezan hidriranim delovima molekula i kontinuiranom mrežom gela (*Miles i saradnici, 1985*).

Kako se proces retrogradacije amiloze nastavlja, njena dupla heliks formacija raste i obrazuju se veoma stabilne kristalne strukture koje se ne mogu otopiti ponovnim zagrevanjem. Proces retrogradacije amilopektina traje od nekoliko sati do nekoliko

dana i dešava se u ostacima granula koje su ugrađene u inicijalni amilozni gel (Milesi saradnici, 1985).

Primenom difrakcije X zraka, identifikovana su tri tipa nativnog skroba: A, B i C. Tip skroba opredeljuju dužine lanaca koje obrazuju amilopektinsku strukturu, gustina pakovanja unutar granula kao i prisustvo vode (Milašinović-Šeremešić, 2011). Tip A se karakteriše amilopektinskim lancima dužine od 23 do 29 glukoza jedinica. Vodonične veze između hidroksilnih grupa lanaca molekula amilopektina omogućavaju formiranje spoljašnjih duplih heliksa. Između ovih micela se nalaze linearni lanci amiloze povezani preko vodoničnih veza sa spoljnim linearnim lancima amilopektina. Ovaj tip skroba je najviše zastupljen kod žita. Kod tipa B, amilopektinski lanci nastaju od 30 do 44 glukoza jedinica sa vezanim molekulima vode. Ovaj tip skroba je karakterističan za sirov krompir i bananu. Struktura tipa C sastoji se od amilopektinskih lanaca dužine 26 do 29 glukoza jedinica, Postoji i kombinacija tipova A i B, koji je karakterističan za grašak i pasulj. Skrob se može naći i u vidu nabubrelih granula. Kristalizacija uglavnom nastaje kod molekula kratkih lanaca. Kristali amilopektina se tope na 60 °C i zbog toga stari hleb može delimično da se "osveži" zagrevanjem. Temperaturu topljenja amilopektina moguće je odrediti DSC metodom, uz praćenje retrogradacije amilopektina. Na retrogradaciju amilopektina veoma utiču uslovi i supstance, uključujući pH i prisustvo jedinjenja niske molekulske mase (LMW - *Low Molecular Weight*) kao što su soli, šećeri i lipidi (Eliasson i Gudmundsson, 1996).

#### 2.2.1.1.4. Rezistentni skrob

Fiziološko delovanje skroba zavisi od digestije i prolaza u tankom crevu. Podela skroba po svarljivosti može se posmatrati kao brzo dostupni, sporo dostupni i rezistentni skrob. Stvaranje rezistentnog skroba zavisi od načina pripreme hrane. U hrani koja se priprema kuvanjem ili pečenjem (krompir pire, hleb) može se naći visok nivo brzo svarljivog skroba (*RDS-Rapidly Digestible Starch*). Pretežno se sastoji od amornog i dispergovanog skroba. Hemijski se meri kao skrob koji se konvertuje do molekula glukoze u toku dvadeseto minutne hidrolize. RDS predstavlja vrstu skroba koja se u telu brzo, za oko 20 min, pretvara u molekule glukoze pod uticajem enzima (*Englyst i saradnici, 1982*).

Deo skroba koji ne podleže digestiji i apsorpciji u tankom crevu i koji svoj put nastavlja do debelog creva, u nepromenjenoj formi, sa produkcijom masnih kiselina kratkog lanca (SCFA - *Short Chain Fatty Acids*) se naziva rezistentni skrob. Rezistentni skrob je vrsta dijetnog vlakna i prirodno je prisutan u mnogim skrobnim namirnicama.

#### 2.2.1.2. Vlakna - neskrobni polisaharidi

Neskrobni polisaharidi koji se nalaze u žitima pored skroba, predstavljaju posebnu grupu i u najvećem procentu se nalaze u spoljašnjim delovima zrna (omotač, mekinje i sl.). Poseban značaj imaju sa nutritivne tačke gledišta. Postoje ispitivanja i dokazi za njihov pozitivan učinak na ljudsko zdravlje. Primer su ispitivanja vezana za dijetalna vlakna iz žitarica gde ih povezuju sa smanjenim rizikom obolevanja od kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa tipa II, zatim gastrointestinalnog kancera (*Babio i saradnici, 2010*).

##### 2.2.1.2.1. Arabinoksilani

Arabinoksilani predstavljaju glavnu frakciju pentozana i procentualno čine 85–90% od neskrobnih polisaharida zrna pšenice (*Kiszonas i saradnici, 2013*). Zavisno od toga koja je vrsta žita u pitanju varira i procenat arabinoksilana u njima. Najveći procenat arabinoksilana se nalazi kod raži (6–8%), dok pšenica sadrži samo 1,5–2%. Na osnovu rastvorljivosti u vodi arabinoksilani se dele na rastvorljive u vodi i na nerastvorljive u vodi. Arabinoksilani rastvorljivi u vodi čine 25–30% od njihove ukupne količine u pšenici i 15–25% u raži (*Izydorczyk i Biliaderis, 1995*). Arabinoksilani rastvorljivi u vodi značajno utiču na reologiju proizvoda od pšenice. Sastoje se od linearnih b-(1,4)-d-ksilopiranozil-lanaca, koji mogu da budu substituisani na O-2 i/ili O-3-pozicijama sa a-l-arabinofuranozom (*Perlin, 1951; Meuser i Suckow, 1986*).

Posebna komponenta arabinoksilana je ferulinska kiselina, koja je povezana sa arabinozom kao ester na O-5 poziciji (*Perlin, 1951*).

Tehnološka jedinstvenost arabinoksilana ogleda se u tome da mogu da apsorbuju 15-20 puta više vode od svoje inicijalne težine, i zbog toga formiraju veoma viskozne rastvore, koji mogu da povećaju kapacitet zadržavanja gasa pšeničnih testa i da

stabilizuju proizvod (*Gan i saradnici*, 1995). Arabinoksilani rastvorljivi u vodi vežu do 25% vode dodate u zames (*Atwell*, 1998).

Ako postoje uslovi za oksidaciju, posebno uz prisustvo kisele sredine, nastaje oksidativna želatinizacija koja vodi do formiranja arabinoksilanskog gela uz indukovanje di- i oligoferulinsko kiselinskih unakrsnih veza (*Izydorczyk i saradnici*, 1990; *Vinkx i saradnici*, 1991; *Figueroa-Espinoza i Rouau*, 1998).

Navedene reakcije se smatraju glavnim za stvaranje reološke strukture u ražanim testima. Arabinoksilani koji su kovalentnim unakrsnim vezama strukturno povezani sa ćelijskim zidom ne rastvaraju se u vodi, ali imaju visok kapacitet vezivanja vode i pomažu u vezivanju vode tokom zamesa. Smatra se da oni imaju negativan uticaj na vezivanje pšeničnog testa jer formiraju fizičke barijere nasuprot mreži glutena, što rezultira destabilizacijom mehura koji zadržava gas. Ipak, tehnološke karakteristike testa je moguće popraviti dodavanjem enzima endoksilanaze, koji selektivno vrše hidrolizu arabinoksilana nerastvorljivih u vodi. Ovim postupkom se popravlja rastvorljivost arabinoksilana koji nisu rastvorljivi u vodi, čime i oni stiču tehnološke osobine koje imaju rastvorljivi arabinoksilani (*Courtin i saradnici*, 1999; *Courtin i saradnici*, 2001).

Pored arabinoksilana, frakcija pentozana sadrži mali deo veoma razgranatih peptida, arabinogalaktana rastvorljivih u vodi (*Fausch i saradnici*, 1963). Sastoje se od  $\beta$ -(1,3) i  $\beta$ -(1,6) povezanih galaktopiranoznih jedinica sa  $\alpha$ -glikozidnom vezom arabinofuranoznih ostataka. Peptid je povezan za 4-*trans*-hidroksiprolin. Za razliku od arabinoksilana, peptidi arabinogalaktana nemaju značajan efekat na sposobnost formiranja i osobine testa.

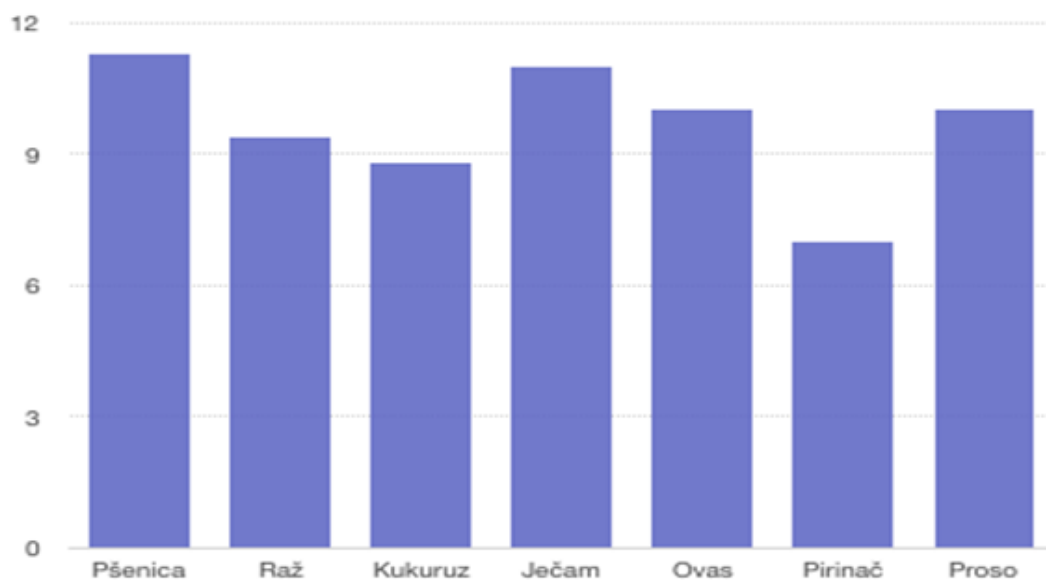
#### 2.2.1.2.2. $\beta$ - Glukani

Beta glukani se takođe nazivaju i lihenini i prisutni su uglavnom u ječmu (3–7%) i ovsu (3,5–5%), dok se manje od 2% beta-glukana nalazi u ostalim žitima. Hemijska struktura ovih neskrobnih polisaharida je sačinjena od linearnih D-glukoznih lanaca povezanih sa kombinovanim beta-(1,3)- i beta-(1,4)-glukozidnim vezama. Beta - glukani pokazuju veću rastvorljivost u vodi od arabinoksilana (38–69% u ječmu, 65–90% u ovsu) i formiraju viskozne rastvore, koji u slučaju ječma mogu da interferiraju u filtraciji slada kod proizvodnje piva (*Koehler i Wieser*, 2013).

### 2.2.2. Proteini

Sadržaj proteina u žitima može dosta da varira u zavisnosti od vrste, ali je u okvirima 8 do 11% (Koehler i Wieser, 2013).

Kod pšeničnog zrna sadržaj proteina može da varira od 6% do više od 20%. Faktori koji utiču na sadržaj proteina su genotip (vrsta žita, slika 4; varijetet), zatim uslovi uzgajanja (zemljište, klimatski uslovi, đubrivo); a količina i vreme primene azotnog đubriva su od posebnog značaja. Proteini su distribuirani kroz celo zrno, međutim njihova koncentracija u zavisnosti od dela zrna u kom se nalaze je jako različita. Klica i aleuronski sloj kod pšeničnih zrna sadrži više od 30% proteina, skrobni endosperm ~13% i klica sadrži približno ~7% (Belitz i saradnici, 2009).



**Slika 4:** Prosečan sadržaj proteina (g/100 g) u različitim vrstama žita, (Koehler i Wieser, 2013)

#### 2.2.2.1. Aminokiselinski sastav proteina žita i njihova funkcionalna svojstva

Prema biološkoj klasifikaciji aminokiseline se dele na:

- esencijalne i
- neesencijalne aminokiseline.

Esencijalne aminokiseline organizam ne može sam da sintetiše i moraju da se unose putem hrane. To su: valin, leucin, izoleucin, histidin, fenil-alanin, triptofan, treonin,

lizin, metionin i arginin. Preostale aminokiseline ljudski organizam može da sintetiše sam i one čine grupu neesencijalnih aminokiselina.

Postoji i grupa takozvanih fakultativno esencijalnih aminokiselina koje se u organizmu sintetišu iz esencijalnih aminokiselina kao što su tirozin koji nastaje iz fenilalanina, i cistein koji nastaje iz metionina (*Kovačević i saradnici, 1996*).

Ako je unos jedne od esencijalnih aminokiselina manji od neophodnog, korišćenje drugih aminokiselina biće sprečeno i sinteza proteina će biti poremećena (*www.nap.edu*). Negativni efekti su brzo vidljivi u lošem funkcionisanju organa i njihovih sistema, što je posebno izraženo kod dece opadanjem imuniteta, oštećenjem nervnog sistema i na druge načine.

**Tabela 8:** Biološka klasifikacija aminokiselina

<b>Esencijalne aminokiseline</b>	<b>Neesencijalne aminokiseline</b>
valin	glicin
leucin	alanin
izoleucin	serin
lizin	glutaminska kiselina
histidin	asparaginska kiselina
treonin	prolin
fenilalanin	cistein
triptofan	cistin
metionin	tirozin
arginin	

Izvor: *Kovačević i saradnici, 1996*

**Tabela 9:** Preporučeni dnevni unos esencijalnih aminokiselina za odraslog čoveka

<b>Aminokiseline</b>	<b>mg/kg telesne težine odraslog čoveka</b>
histidin	10
izoleucin	20
leucin	39
lizin	30
metionin+cistein	10,4+4,1 (15 total)
fenilalanin+tirozin	25 (total)
treonin	15

Izvor: *FAO/WHO/UNU (2007)*

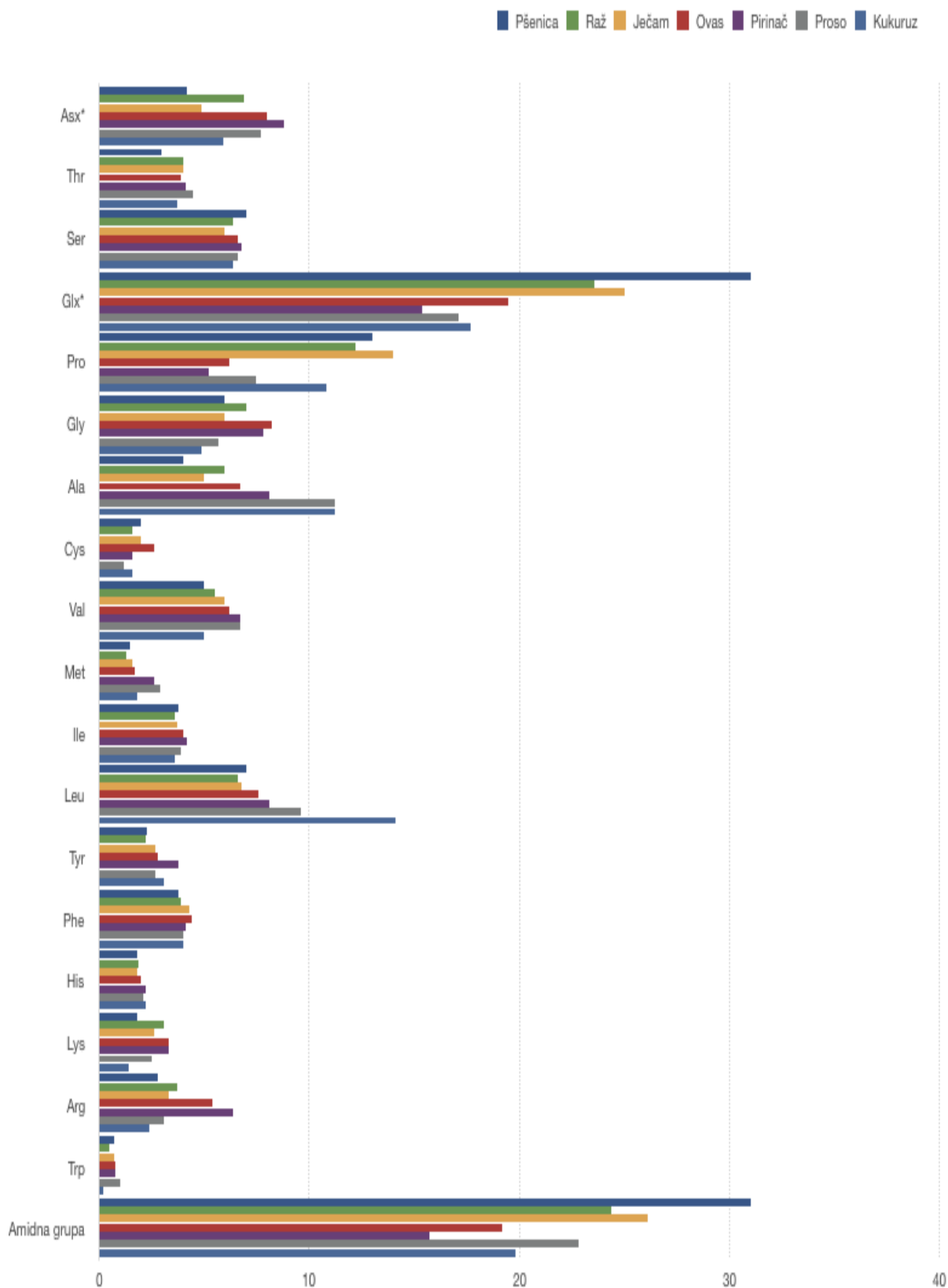


Tipično za sva brašna je da se glutaminska kiselina skoro u potpunosti javlja u svojoj amidovanoj formi kao glutamin (*Wieser i saradnici*, 1983). Ova amino kiselina je dominantna (15–31%), prati je prolin u slučaju pšenice, raži i ječma (12–14%). Sledeće aminokiseline po zastupljenosti su leucin (7–14%) i alanin (4–11%). Od nutritivnog značaja esencijalne aminokiseline triptofan (0,2–1,0%), metionin (1,3–2,9%), histidin (1,8–2,2%) i lizin (1,4–3,3%) se mogu naći u niskim koncentracijama. Kroz različite načine uzgoja i genetskog inženjeringa postoje pokušaji za povećanjem procenta esencijalnih aminokiselina u žitima. Oba postupka su dala rezultate u vidu sadržaja lizina kod ječma i kukuruza (*Wieser i saradnici*, 1983).

Tradicionalno, proteini brašna i žita su klasifikovani prema njihovoj rastvorljivosti i frakcionisanju prema proceduri *Ozborna* na albumine, globuline, prolamine i gluteline (*Osborne*, 1907). Albumini su rastvorljivi u vodi, dok su globulini nerastvorljivi u čistoj vodi ali jesu u razblaženim rastvorima soli. Prolamini se definišu kao proteini žita rastvorljivi u 60-70 % rastvorima etanola. Rastvorljivost glutelina se postiže primenom rastvarača kao što je 50% propanol, redukujući agensi (ditiotreitol) i jedinjenja koja vrše dezagregaciju (urea) (*Wieser i saradnici*, 1983).

Albumini i globulini su skoncentrisani u aleuronskom sloju, opni i klici, dok je endosperm žita relativno siromašan njihovim sadržajem. Prolamini i glutelini su uglavnom skladištni proteini žitarica. Njihova jedina biološka funkcija je da snabdevaju semenje azotom i aminokiselinama tokom procesa klijanja. Oni su locirani samo u skrobnom endospermu, a njihova ukupna koncentracija iznosi 70–90%. Uglavnom, nijedna od *Ozbornovih* frakcija se ne sastoji samo od jednog proteina, već od kompleksne kompozicije više proteina. Mali procenat proteina ne spada ni u jednu od navedenih frakcija. Zajedno sa skrobom, oni ostaju u nerastvornim reziduima pri *Ozbornovom* frakcionisanju i uglavnom pripadaju klasi lipo (membranskih) proteina (*Wieseri Koehler*, 2008; <http://pir.georgetown.edu>).

Prolaminske frakcije različitih žita imaju i različite korisničke nazive: glijadin (pšenica), sekalin (raž), hordein (ječam), avenin (ovas), zein (kukuruz), kafirin (proso, sirak) i orizin (pirinač). Glutelinska frakcija pšenice se naziva glutenin. Glijadinska i gluteninska frakcija pšenice danas se kombinovano nazivaju gluten ili proteini glutena.

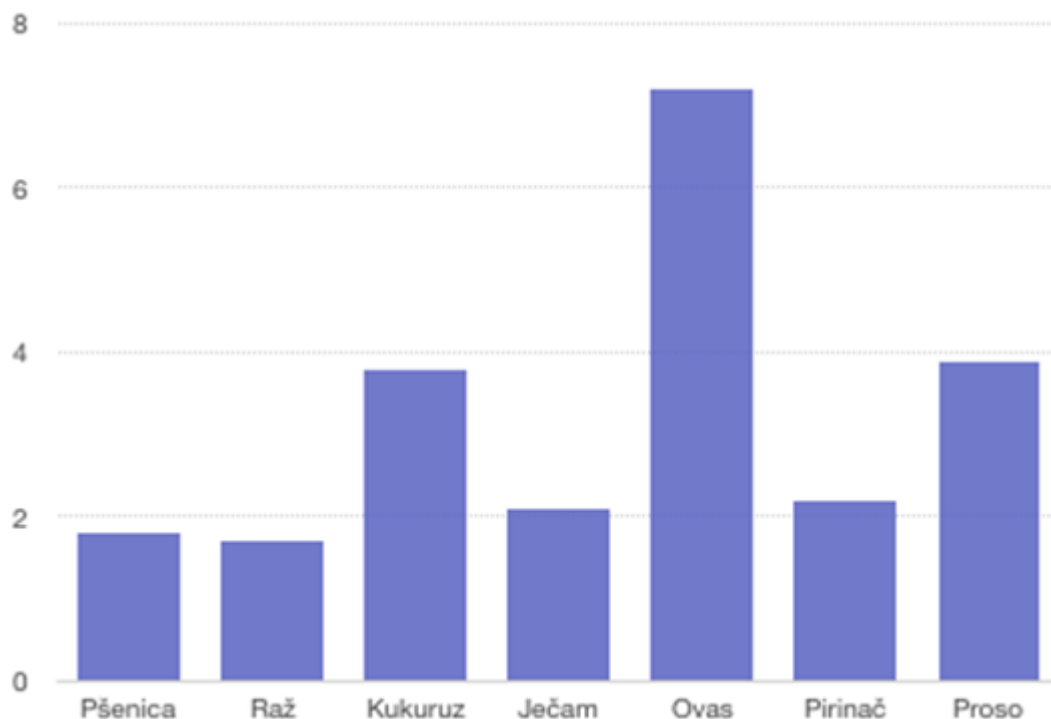


**Slika 5:** Aminokiselinski sastav proteina brašna različitih žita (mol-%) (Wieser i saradnici, 1983)

\*Asx Asp+Asn, Glx Glu+Gln

### 2.2.3. Lipidi

Lipidi žita potiču od membrana, organela i sferozoma i različite su hemijske strukture. U zavisnosti od vrste žita prosečan sadržaj lipida je oko 1.7–7% (*Souci i saradnici, 2008; Belitz i saradnici, 2009*).

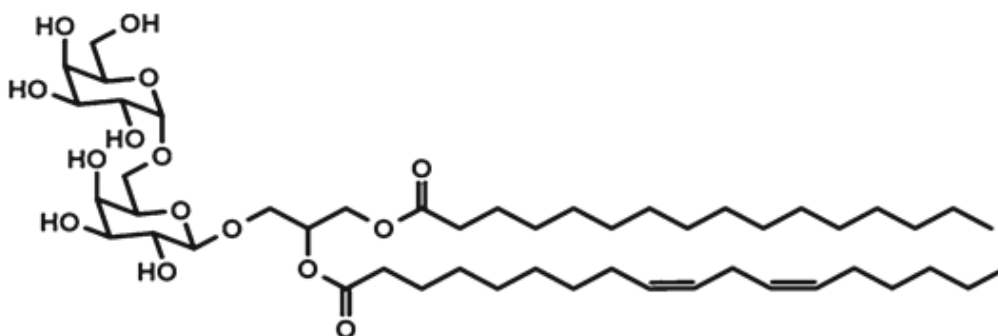


**Slika 6:** Prosečan sadržaj lipida (g/100) g prema vrstama žita, (*Koehler i Wieser 2013*)

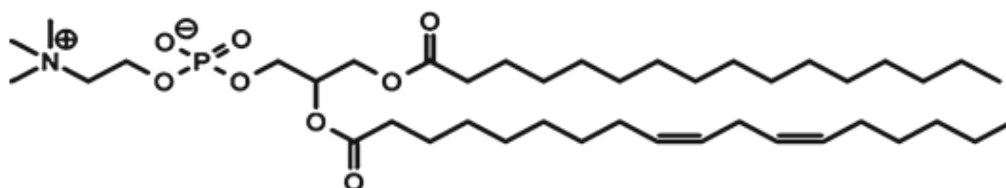
Lipidi se uglavnom nalaze u klici, manja količina u aleuronskom sloju i još manja u endospermu. Posebno je ovas bogat lipidima (6–8%) za razliku od pšenice i raži (1,7%). Lipidi žita imaju sličan sastav masnih kiselina, u kome linoleinska kiselina dostiže sadržaj od 39–69%, dok oleinska i palmitinska kiselina čine 11–36% i 18–28%, od ukupnih lipida respektivno (*Delcour i Hosney, 2010; Eliasson i Larsson, 1993*). Iako su pšenični lipidi samo manji konstituent brašna, imaju veliki uticaj na reološke osobenosti i stoga se detaljno izučavaju.

Dok su triacilgliceroli dominantna klasa lipida u klici i aleuronskom sloju, fosfo- i glikolipidi se nalaze u endospermu (*Eliasson i Larsson, 1993*). U zavisnosti od nivoa ekstrakcije pšenično brašno sadrži 0,5–3% lipida (*Hosney, 1994*). Ekstrakcija polarnim rastvaračem na sobnoj temperaturi (voda-zasićeni butanol) rastvara neskrobne lipide koji čine oko 75% od ukupnih lipida brašna (*MacMurray i Morrison,*

1970). Ostatak od 25% čine takozvani skrobni lipidi. Neskrobni lipidi sadrže oko 60% nepolarnih lipida, 24% glikolipida i 15% fosfolipida. Daljom ekstrakcijom rastvorima različite polarnosti, mogu dodatno da se izdvoje slobodne i vezane frakcije. Nepolarni lipidi se uglavnom nalaze u slobodnoj frakciji lipida, dok su gliko i fosfolipidi deo vezane frakcije, unutar koje se mogu naći i proteini (*Eliasson i Larsson, 1993; Delcour i Hosney, 2010*).



Glikolipidi (digalaktozil diglicerid)



Fosfolipidi (fosfatidil holin)

**Slika 7:** Polarni lipidi koji utiču na tehnološke karakteristike pšeničnog brašna (*Eliasson i Larsson, 1993; Delcour i Hosney, 2010*)

Samo neskrobni lipidi imaju uticaj na reološke karakteristike pšeničnih testa. Interakcije između skrobnih lipida i skroba su toliko snažne da lipidna frakcija nije dostupna dok skrob ne želatinizira. Studije na neskrobnim lipidima su pokazale da samo polarni lipidi imaju pozitivan efekat, kao što su reološke osobine (plastičnost), elastičnost, adhezione osobine (lepljivost), formiranje elastičnih opni oko čvrstih čestica i gasnih mehurića u testu čime se sprečava ispuštanje gasova; dok nepolarni lipidi imaju suprotan efekat (*Morrison i saradnici, 1975*). Posebno je dokazano da glikolipidi doprinose povoljnim osobinama testa pri radu sa pšeničnim brašnom, gde je funkcionalnost fosfolipida manje važna (*MacRitchie, 1981; Selmair i Koehler, 2008*).

Što se tiče pecivnih sposobnosti brašna od pšenice polarni lipidi imaju veći uticaj nego sami proteini. Dodavanje samo 0,13% polarnih lipida stvara isto povećanje volumena vekne hleba kao što bi to učinili proteini ako bi im sadržaj bio povišen za 1%. Polarni lipidi utiču na karakteristike testa na mnoge načine, tehnološke mogućnosti su poboljšane i kapacitet retencije gasa tokom mešanja je povećan, omogućen je veći volume a čak se produžava i trajnost hleba (*Wieser i Koehler, 2008*).

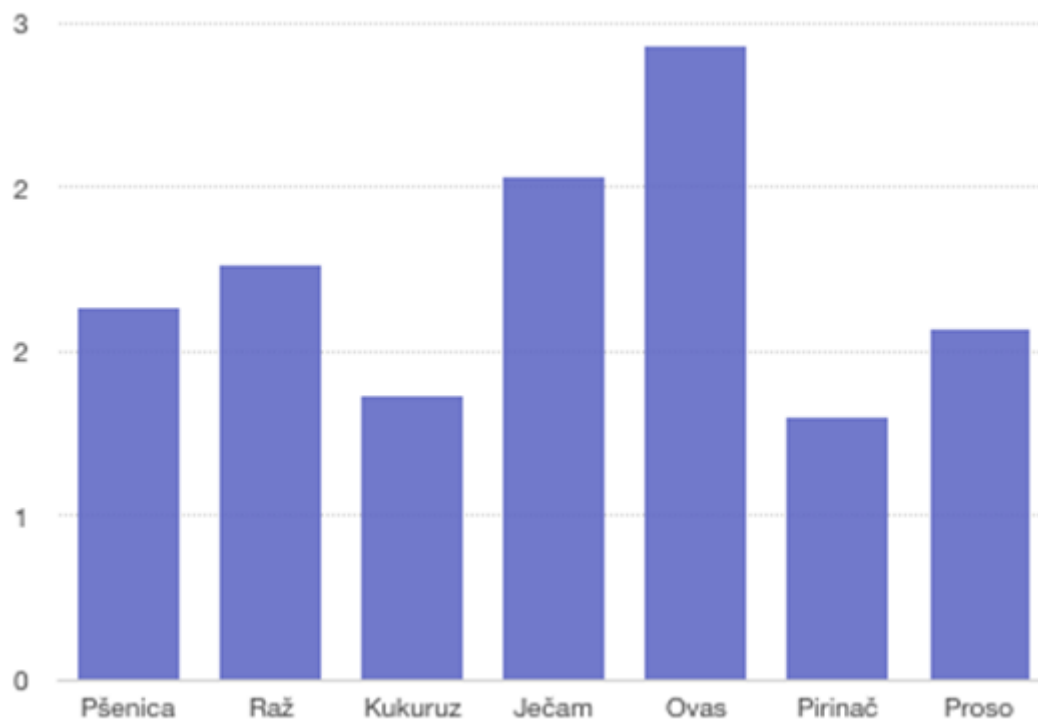
**Tabela 10:** Sastav neskrobnih lipida pšeničnog brašna. Sadržaj na osnovu sadržaja ukupnih lipida (g/100 g)

Neskrobnii lipidi: 1,70–1,95 g/100 g brašna			
Polarni	36-42	Nepolarni	58-64
Fosfolipidi	14-16	Sterol estri	1,9-4,2
Acilfosfatidil etanolamin	4,2-4,9	Trigliceridi	39,5-49,4
Acilizofosfatidil etanolamin	1,6-2,3	Digliceridi	3,3-5,4
Fosfatidil etanolamin/fosfatidil glicerol	0,7-1,1	Esterifikovani monogalaktozil-digliceridi/monogliceridi	2,7-3,9
Fosfatidil holin	3,8-4,9	Esterifikovani sterolgliceridi	0,8-4,2
Fosfatidil serin/fosfatidil inozit	0,4-0,7		
Lizofosfatidil etanolamin	0,3-0,5		
Lizofosfatidil glicerol	0,2-0,3		
Lizofosfatidil holin	1,4-2,1		
Glikolipidi			
Monogalaktozildigliceridi	5,0-5,9		
Monogalaktozilmonogliceridi	0,9-0,4		
Digalaktozildigliceridi	12,6-16,5		
Digalaktozilmonogliceridi	0,6-3,4		

Izvor: *Eliasson i Larsson, 1993*

### 2.2.4. Mineralne komponente u žitima

Sadržaj mineralnih materija je u proseku od 1,0 do 2,5%. Detaljan prikaz po vrsti žita dat je u nastavku.



**Slika 8:** Prosečan sadržaj mineralnih materija (g/100 g) u različitim vrstama žita (Souci i saradnici, 2008; Berlitz, 2009)

Kako žita spadaju u najvažniju osnovnu hranu i konzumiraju se u velikim količinama, ona predstavljaju važan izvor mineralnih materija u ljudskoj ishrani.

Više od 90% mineralnih materija je locirano u spoljašnjim slojevima žita, uglavnom u mekinjama, aleuronskom sloju i klici. Proizvodi napravljeni od celih zrna žita bi trebalo značajno da uzmu učešće u ishrani kako bi povećali unos mineralnih materija.

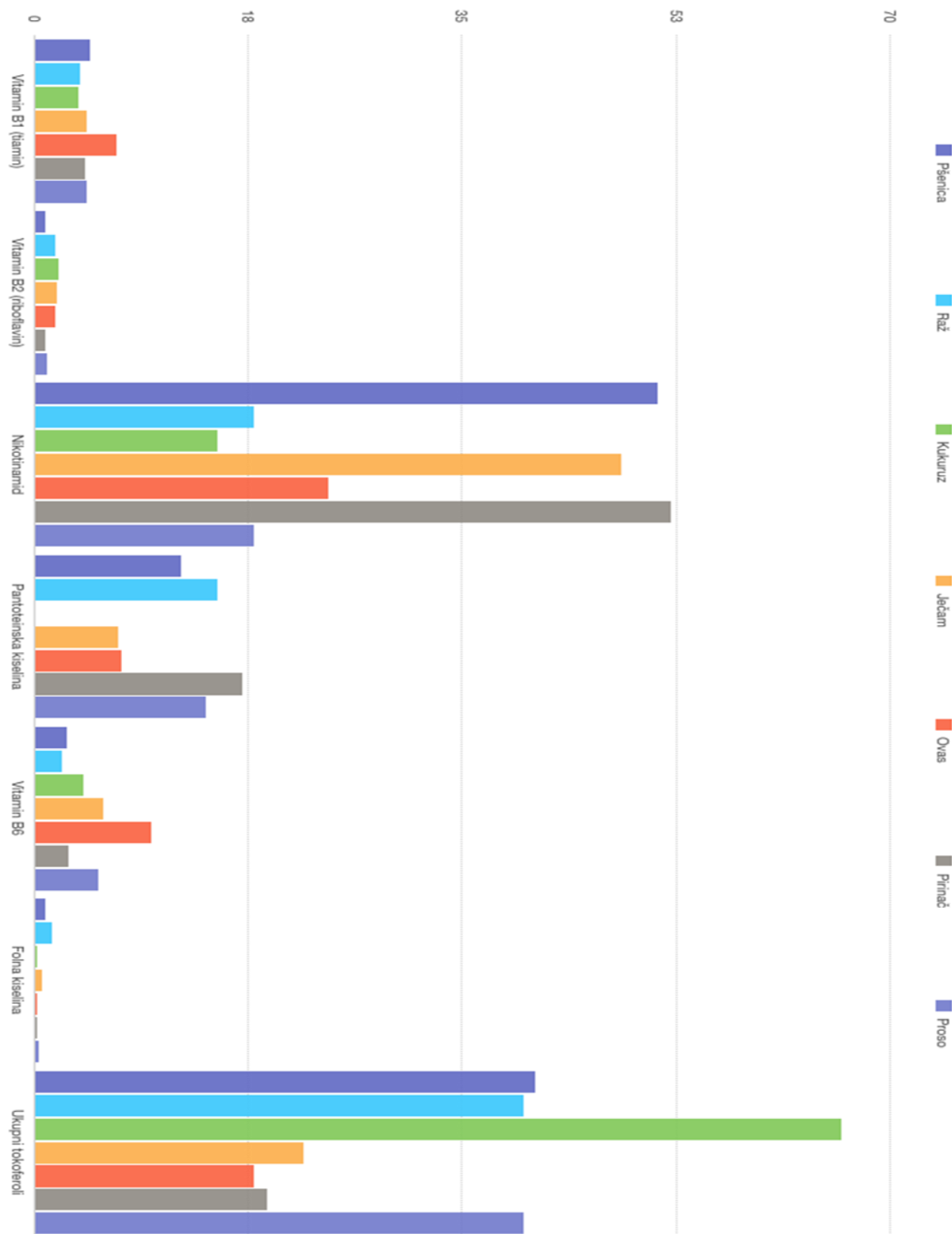
Minerali predstavljaju bitne komponente ljudske ishrane koje je neophodno unositi svaki dan u cilju održavanja pravilnog rada organizma. Minerali se dele na dve grupe: a) makro minerali, koji su neophodni u većim količinama, kao što su kalcijum (Ca), magnezijum (Mg) i kalijum (K) i b) mikro minerali ili elementi u tragovima (oligoelementi), koji su neophodni u manjim količinama, kao što su bakar (Cu), zink (Zn), gvožđe (Fe), bor (B), selen (Se) (Martinez-Ballesta i saradnici, 2009). Svi

procesu u organizmu zavise od delovanja minerala u aktivaciji enzima kao kofaktora mnogih bioloških funkcija. Ako su određeni minerali u deficitu mogu dovesti do raznih hroničnih oboljenja (*Golden, 1991; Branca i Ferrari, 2002*). Postoji više razloga koji utiču na sadržaj minerala u brašnima i proizvodima od žita. Prvenstveno, on zavisi od vrste žita (Slika 8), zatim od uslova i zemljišta gde se gaje (*Koivistoinen i saradnici, 1974*).

Više od tri milijarde svetske populacije ima neki oblik nedostatka minerala. Nedovoljan unos minerala ima za rezultat loše performanse u poslu, visoke troškove zdravstvenog osiguranja i povećan rizik od iznenadne smrti (*Welch i Graham, 2004*). Populacija zemalja u razvoju je pod posebnim rizikom, jer ljudi nemaju dovoljno sredstava da kupe hranu bogatu mineralima kao što su meso, riba, voće i povrće. Gvožđe i cink beleže najveći deficit u nutritivnoj ishrani svetske populacije (*Graham i saradnici, 1999*); a za glavni razlog deficita gvožđa i cinka u ishrani smatra se niska koncentracija u žitima (*Hurrell, 2000*).

#### **2.2.5. Vitamini**

Žita sadrže vitamine u koncentracijama od 1 do 50 mg/kg, u zavisnosti od jedinjenja. Ona svakako predstavljaju dobar izvor vitamina B grupe i pokrivaju oko 50–60% dnevnih potreba ovih vitamina. Najvažniji vitamini, rastvorljivi u masti su tokoferoli, koji se nalaze u koncentracijama i preko 20 mg/kg. Vitamini su, kao i minerali, skoncentrisani u spoljašnjim delovima zrna žita posebno u aleuronskom kao i u klici. Tokom procesa mlevenja žita (primer dobijanja belog brašna kod pšenice) uklanja se ovaj spoljašnji sloj i brašno se osiromašuje vitaminima i mineralima. Zbog ovoga proizvodi obogaćeni delovima zrna koji poseduju vitamine i minerale znatno poboljšavaju nutritivni kvalitet proizvoda (*Wieser i Koehler, 2008*).



Slika 9: Prosečan sadržaj vitamina (mg/kg) prema vrsti žita (Souci i saradnici, 2008; Berlitz, 2009)



### 2.2.6. Fenolna jedinjenja

Dokumentovano je oko 300000 vrsta viših biljaka na planeti koje sintetišu veliki broj hemijskih jedinjenja različite strukture; odnosno, iz njih je izolovano i identifikovano više od 200000 hemijskih entiteta. Ova jedinjenja mogu biti dalje podeljena kao primarni i sekundarni metaboliti. Primarni uključuju šećere, masne kiseline, amino i nukleinske kiseline, kao i jedinjenja koja su neophodna za razvoj i rast biljaka (Fiehn, 2002; Wu i Chappell, 2008). Sekundarni metaboliti se strukturno i hemijski razlikuju od primarnih i predstavljaju jedinjenja koja nisu direktno odgovorna za proces fotosinteze i respiratorni metabolizam, ali se smatra da su neophodna za opstanak biljke u datoj okolini. Biljke poseduju metaboličke puteve koji vode do stvaranja hiljada sekundarnih proizvoda sposobnih da odgovore na stres izazvan bilo biotičkim ili abiotičkim faktorima. Sekundarni metaboliti deluju kao jedinjenja koja pomažu u borbi protiv virusa, mikroba, kompetitivnih biljaka. Takođe služe i kao signalna jedinjenja kako bi privukli insekte za oplodnju biljaka, i čuvaju biljke od ultraljubičastog zračenja i oksidanata. Ovi sekundarni metaboliti se razlikuju i dele prema biosintetskim putevima nastanka i strukturi (Lattanzio i saradnici, 2008).

Fenolna jedinjenja su najrasprostranjeniji sekundarni metaboliti, sveprisutni u biljnom carstvu; dok u bakterijama ili algama nisu uobičajeni. Procenjeno je da je oko 2% od ukupnog ugljenika fotosintetisanog biljkama konvertovano u flavonoide i slična jedinjenja (Robards i Antolovich, 1997).

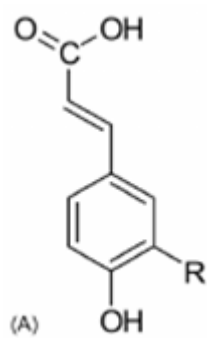
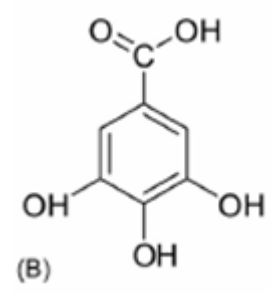
Osnovno pravilo koje su predložili Quideau i saradnici (2011) je da termin "biljni fenoli" treba strogo da se koristi u opisivanju sekundarnih prirodnih metabolita koji nastaju biogenetički šikimat/fenilpropanoid putevima, a koji direktno proizvode fenilpropanoide. Fenoli sadrže prstenove benzena sa jednom ili više hidroksilnih grupa, i variraju od jednostavnih molekula do veoma složenih polimernih jedinjenja. Od svih navedenih fenolnih jedinjenja, fenolne kiseline, flavonoidi i tanini smatraju se vodećim po svojim biološkim efektima, i zato se njihovo prisustvo u ishrani smatra važnim (King i Young, 1999). U žitaricama se takođe u najvećoj meri nalaze fenolne kiseline, ali i antocijanidini, hinoni, flavanoli i flavanoni (Arranz i Calixto, 2010).

**Tabela 11:** Klase fenolnih jedinjenja u biljkama

Klasa	Struktura
Prosti fenoli, benzokvinoni	C <sub>6</sub>
Hidroksibenzoeva kiselina	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>
Acetofenoni, fenilacetične kiseline	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Hidroksicimetna kiselina, fenilpropanoidi (kumarini, izokumarini, hromoni, hromeni)	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Naptokvinoni	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>
Ksantoni	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>
Stilbeni, antrakvinoni	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Flavonoidi, izoflavonoidi	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>
Lignani, neolignani	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Bioflavonoidi	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>
Lignini	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>
Kondenzovani tanini (proantocijanidini ili flavolani)	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>

Izvor: *Balasundram i saradnici*, 2006

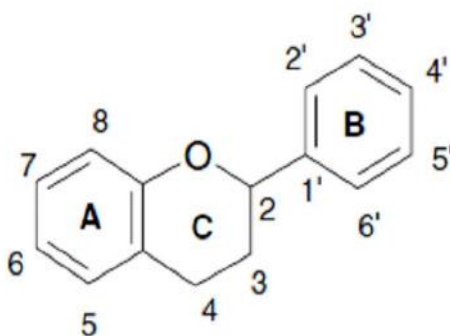
Fenolne kiseline se dele na dve podgrupe: derivate hidroksicimetne (A) i derivate hidroksibenzoeve (B) kiseline. U derivate hidroksibenzoeve kiseline spadaju: galna, p-hidroksibenzoeva, protokatehinska, vanilinska i siringinska kiseline (strukture C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>). Derivati hidroksicimetne kiseline su aromatična jedinjenja sa strukturom C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (kafena, ferulinska, p-kumarna i sinapinska kiselina) (*Bravo*, 1998).

 <p>(A)</p>	 <p>(B)</p>
<p><b>Hidroksicimetne kiseline</b> p-kumarna kiselina: R = H kafena kiselina: R = OH</p>	<p><b>Hidroksibenzoeve kiseline</b> galna kiselina</p>

**Slika 10:** Strukturne formule dve podgrupe, koje se nalaze u sastavu fenolne kiseline (*Bravo*, 1988)

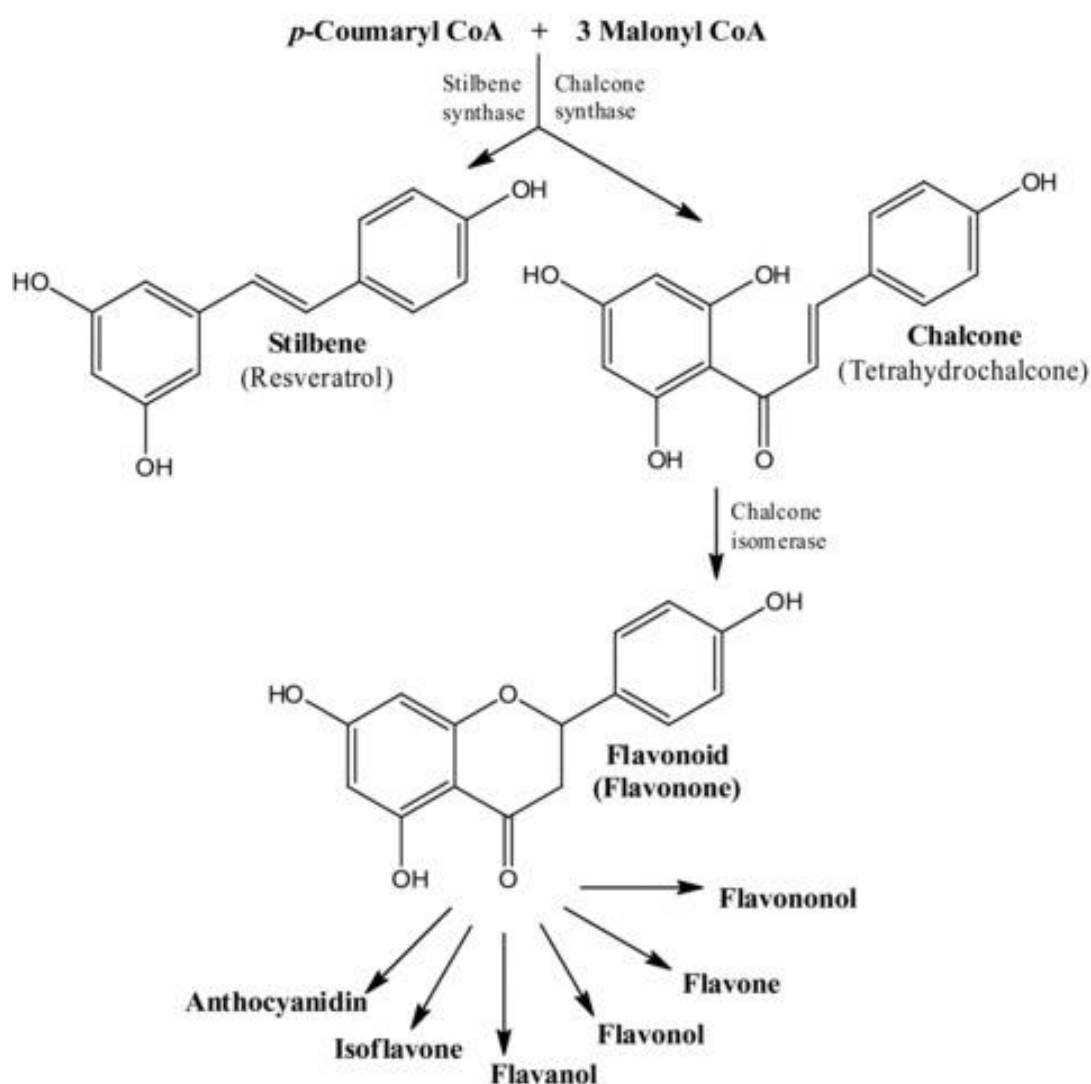
Flavonoidi čine najveću grupu biljnih fenola, u koju spada preko polovine od osam hiljada prirodno prisutnih fenolnih jedinjenja (*Harborne i saradnici*, 1999). Oni su

niskomolekularna jedinjenja, koja se sastoje od petnaest ugljenikovih atoma, pozicioniranih u C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> konfiguraciji (slika 11). Osnovnu strukturu čine dva aromatična prstena, koji su spojeni mostom od tri ugljenikova atoma, obično u formi heterocikličnog prstena. Flavonoidi, uključujući flavone, izoflavone i antocijanidine, su formirani kondenzacijom fenilpropana (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) sa participacijom tri molekula malonil koenzima A, što vodi ka formiranju halkona koji naknadno ciklizuju pod kiselim uslovima. Flavonoidi imaju osnovni skelet difenilpropana (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) sa različitim nivoima oksidacije centralnog piranskog prstena. Stilbeni su potencijalni fungicidi u biljkama (*Shahidi i Naczk, 2004*). Primer nastanka flavonoida i stilbena iz fenilpropanoida prikazan je shematski na slici 12:



**Slika 11:** Generička struktura molekula flavonoida (*Shahidi i Naczk, 2004*)

U narednom tekstu prikazan je pregled literaturnih podataka o sadržaju polifenola u žitaricama. Primer ječma pokazuje koje kategorije fenolnih i polifenolnih jedinjenja su prisutne kod žitarica. U ječmu se nalaze jedinjenja kao što su tirozin, tiramin i njegovi derivati, fenolna kiselina i estri i glikozidi, zatim antocijanini odgovorni za plavu i crvenu boju tkiva ječma (*Briggs, 1978; Salomonsson i saradnici, 1980*).

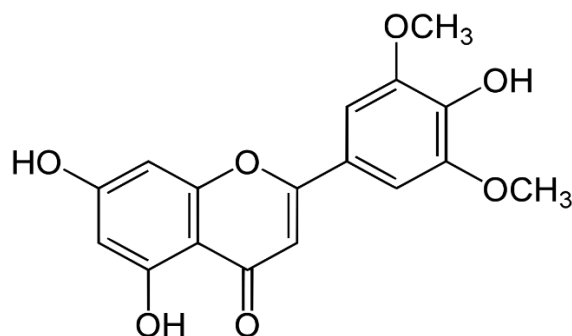


**Slika 12:** Primerak nastanka flavonoida i stilbena iz fenilpropanoida (kumaril CoA) i malonil CoA (Shahidi i Naczka, 2004)

Primer specifičnog sastava fenolnih jedinjenja među žitaricama je heljda, bilo u formi zrna ili nekog gotovog proizvoda. Heljda se često svrstava u žitarice jer se koristi na isti način, mada botanički ne pripada ovoj grupi. U heljdi je sadržaj ferulinske i hidroksicimetne kiseline nizak. Omotač-aleuronska frakcija heljde sadrži vezane siringinsku, *p*-hidroksibenzojevu, vanilinsku i *p*-kumarnu kiselinu. Ove kiseline mogu da budu oslobođene alkalnom ili kiselinskom hidrolizom, što ukazuje na njihovo prisustvo fenolne kiseline u obliku estara i glikozida (Durkee, 1977). Zadernowski i saradnici (1992) su identifikovali 20 i 14 fenolnih kiselina u heljdinom grizu i ljusci, respektivno. Od njih, *p*-kumarna (4,6 mg/100 g), vanilinska (1,7 mg/100 g), *p*-hidroksibenzoeva (1,7 mg/100 g) i kafena (1,3 mg/100 g) kiselina

su dominantne u heljdinom grizu; dok su *p*-kumarna (3,6 mg/100 g), vanilinska (1,65 mg/100 g), sinapinska (1,4 mg/100 g) i gentisinska (1,1 mg/100 g) kiseline vodeće fenolne kiseline u ljusci. *Watanabe i saradnici* (1997) su primenom HPLC metode izolovali i identifikovali protokatehinsku kiselinu (13,4 mg/100 g) i 3,4-dihidroksibenzaldehid (6,1 mg/100 g) u etanolnim ekstraktima heljdine ljuske. Semenka heljde služe kao bogat izvor flavonoida (*Ohara i saradnici*, 1989; *Ohsawa i Tsutsumi*, 1995; *Oomah i Mazza*, 1996; *Oomah i saradnici*, 1996). Heljda se smatra i dobrim nutritivnim izvorom rutina (*Ohara i saradnici*, 1989; *Ohsawa i Tsutsumi*, 1995). Dnevni unos od 100 g heljde može da obezbedi oko 10% terapijske doze rutina (180 do 350 mg/po danu, *Schiller i saradnici*, 1990). Pokazano je da rutin korisno deluje na zdravlje ljudi, tako što ispoljava antiinflamatorna, anti-karcinogena, estrogen receptor vezujuća dejstva, kao i opuštanje mišićnog tkiva (*Pisha i Pezzuto*, 1994) i smanjenje fragilnosti krvnih sudova (*Iwata i saradnici*, 1990; *Yildzogle-Ari i saradnici*, 1991). Prema *Deschner* (1992), unos rutina i kvercetina, pri sniženom unosom masti, može značajno da suzbije neoplaziju creva. Kukuruz sadrži oko 309,1 mg/100 g fenolne kiseline (*Sosulski i saradnici*, 1982). Kukuruzno bračno sadrži tri puta više fenolne kiseline od brašna dobijenih od pirinča, pšenice i ovsa. Fenolne kiseline u kukuruzu se nalaze u slobodnom, esterifikovanom i nerastvornom obliku. Od svih navedenih, nerastvorna fenolna kiselina je dominantna frakcija koja čini 69,2% od ukupne količine fenolnih kiselina (*Sosulski i saradnici*, 1982; *Grabber i saradnici*, 2000).

Od fenolnih komponenti u pšenici nalaze se ferulinska, vanilinska, gentisinska, kafena, salicilna, siringiska, *p*-kumarna i sinapinska kiselina, kao i vanilin i siringaldehidi koji su takođe identifikovani u pšeničnim omotačima (*Sosulski i saradnici*, 1982; *McKeehan i saradnici*, 1999; *Weidner i saradnici*, 1999).



**Slika 13:** Hemijska struktura tricina, dominantnog flavonskog pigmenta u pšenici

Ferulinska kiselina je osnovna fenolna kiselina u zrnu pšenice tokom svih stadijuma razvoja i prisutna je u semenu u slobodnim i esterifikovanim formama (*McCallum i Walker, 1991; Rybka i saradnici, 1993; McKeehan i saradnici, 1999*). Ferulinska kiselina se pojavljuje u visokim količinama u aleuronskom delu, ćelijskom zidu omotača i u manjoj količini u omotaču semenki i embriona (*Fulcher i saradnici, 1972; Fulcher, 1982; Pussayanawin i saradnici, 1988*). Pšenična mekinja ima najveći sadržaj alkilrezorcinola (2110 mg/kg); dok brašna ostalih žitarica sadrže samo 380 mg/kg (*Musehold, 1978*).

*Abdel-Aal i saradnici (2001)* su istraživali distribuciju fenolne kiseline u frakcijama brašna nakon mlevenja. Oko 73% fenolne kiseline je nađeno u spoljašnjim omotačima i klici, a samo 5% u prvoj, drugoj i trećoj frakciji mlevenja. Zatim su *Hakala i saradnici (2002)* istraživali distribuciju steril ferulata u proizvodima mlevenja pšenice i detektovani su samo tragovi steril ferulata u pšeničnom brašnu niskog sadržaja pepela, dok pšenične mekinje sadrže 297 do 390 mg/kg ukupnih steril ferulata. Obogaćivanje brašna niskim procentom pepela aleuronskim slojem povećava sadržaj ukupnih ferulata od 194 do 216 mg/kg.

Fenolna jedinjenja poseduju antioksidativnu kao i antimikrobnu funkciju (*De Beer i saradnici, 2002; Alves i saradnici, 2013; Lin i saradnici, 2016; Kadiri, 2017; Macé i saradnici, 2017; Ouerghemmi i saradnici, 2017*); međutim, lipofilna priroda fenola može umanjiti njihove antimikrobne mogućnosti (*Baranowski i Nagel, 1984*).

**Tabela 12:** Sadržaj ferulinske kiseline (FA) i njenih dehidrodimera (DiFA) u omotačima žitarica, posle alkalnog tretmana sa 4 mol/L NaOH (estar + etar povezani), mg/kg

Jedinjenje	Ječam	Kukuruz	Ovas	Pirinač	Raž	Proso	Pšenica
FA	6289	9440	3282	3823	9193	18047	18884
8-8'aril DiFA	178	279	96	57	162	1313	147
8-8'DiFA	71	67	47	15	188	393	127
8-5'DiFA	135	175	84	32	117	322	146
8-0- 4'DiFA	163	255	107	41	124	374	182
5-5'DiFA	197	239	132	36	123	281	205

Izvor: Adaptirano iz Renger i Steinhart, 2000

**Tabela 13:** Fenolne kiseline dobijene alkalnom hidrolizom pšenice; mg/kg na bazi suve materije. ND – nije detektovano

Fenolna kiselina	Zrna koja nisu proklijala	Proklijala zrna	Embrioni
	Zrna	Zrna	
<b>Ferulinska kiselina</b>			
Etanol-solubilna	3	26	310
Etanol-insolubilna	ND <sup>b</sup>	181	1200
<b>p-kumarna kiselina</b>			
Etanol-solubilna	1	8	261
Etanol-insolubilna	ND <sup>b</sup>	0	0
<b>Sinapinska kiselina</b>			
Etanol-solubilna	0	7	95
<b>Siringinska kiselina</b>			
Etanol-solubilna	2	8	197
<b>Vanilinska kiselina</b>			
Etanol-solubilna	14	10	292

Izvor: Adaptirano od El-Basyouni i Towers, 1964

Veliki broj fitohemikalija ima antioksidativno svojstvo, ali su polifenoli privukli

posebnu pažnju istraživača u ovom pogledu. Procenjuje se da je antioksidativna sposobnost polifenolnih jedinjenja u vezi sa delokalizacijom  $\pi$  elektrona u aromatičnom jezgru (*Leopoldini i saradnici, 2011*), a ispoljava se preko 3 moguća mehanizma koji su prikazani shematski na slici 13.

Kao primarni antioksidanti, molekuli polifenola (ArOH) daju slobodnim radikalima ( $R^\cdot$ ) atom vodonika mehanizmom transfera do koga dolazi posle homolitičkog raskidanja O-H veze, a nakon transfera vodonika zaostaju manje reaktivni fenoksi radikali, čija se stabilnost objašnjava delokalizacijom elektrona:



Drugi mehanizam je elektron transfer, kojim nastaju produkti koji su energetski stabilniji od polaznih:



Treći mehanizam podrazumeva heliranje prelaznih metala molekulima polifenola čime nastaju stabilna kompleksna jedinjenja u kojima su joni metala “zarobljeni” i time učinjeni neaktivnim (slika 13).

Važno je na ovom mestu napomenuti da svi literaturni podaci o sadržaju ukupnih ili pojedinačnih fenolnih jedinjenja, kao i o njihovoj antioksidativnoj aktivnosti treba da budu razmatrani imajući u vidu to na koji način su fenolna jedinjenja pre analize ekstrahovana iz biljnog materijala. Kada se radi o žitaricama, sadržaj fenolnih jedinjenja zavisi svakako od brojnih faktora, kao što su: deo zrna, vrsta žitarice, način mlevenja, geografsko poreklo, klimatski faktori; međutim ukoliko se isti uzorak biljnog materijala povrgne različitim procedurama ekstrakcije, biće dobijeni različiti podaci o količinama fenolnih jedinjenja.

Polifenolna jedinjenja se u žitaricama nalaze u slobodnim ili esterifikovanim/eterifikovanim oblicima, ali i kao forme vezane za sastojke ćelijskih zidova, kao što su polisaharidi, proteini ili lignin (*Clifford, 1999; Adom i Liu, 2002; Naczk i Shahidi, 2004; Arranz i Calixto, 2010*). Iz ovih razloga metodologija ekstrakcije polifenola iz cerealija najčešće podrazumeva primenu polarnih organskih rastvarača (etanola, metanola, acetona) ili njihovih smeša sa vodom

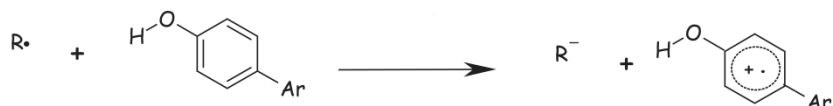


(Adom i Liu, 2002; Arranz i Calixto, 2010; Ryan i saradnici, 2011; Durazzo i saradnici, 2015); a da bi se oslobodile i vezane forme polifenola posle primene organskih rastvarača vrši se kisela (koja može da dovede do degradacije hidroksicimetne i benzoeeve kiseline) ili alkalna hidroliza (Delgrado-Andrade i saradnici, 2010). Kako primena različitih ekstrakcionih sredstava ili različitih eksperimentalnih uslova pod kojima se ekstrakcija vrši dovodi do rezultata koji se medjusobno ne mogu porediti, u literaturi se sve češće nalaze podaci o primeni *in vitro* digestije koja se vrši pod uslovima ekvivalentnim onima u gastrointestinalnom traktu pa stoga predstavlja standardizovani pristup problemu ekstrakcije bioaktivnih komponenti, pa time i polifenolnih jedinjenja (Delgrado-Andrade i saradnici, 2010; Minekus i saradnici, 2014; Durazzo i saradnici, 2015).

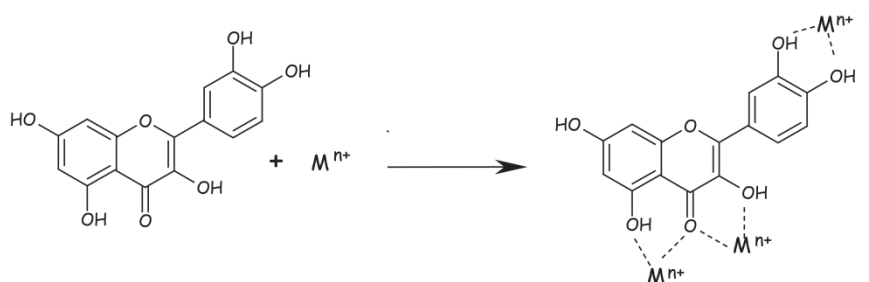
### 1. Transfer atoma vodonika



### 2. Transfer elektrona



### 3. Heliranje prelaznih metala



**Slika 13:** Mehanizmi antioksidativne aktivnosti polifenolnih jedinjenja (Leopoldini i saradnici, 2011)

### 2.3. Proso (*Panicum miliaceum* L.) - bezglutensko žito

Proso predstavlja žito prošlosti, skoro zaboravljeno, koje ponovo nalazi svoju primenu u savremenoj ishrani. U literaturi postoje podaci o tome da je tokom XVI veka proso skladišteno čak i po dvadeset godina. Davne 1378. godine, Venecija se od opsade Đenovljana spasla upravo zahvaljujući prosu i njegovoj karakteristici dugog opstanka u skladišnim uslovima. Značajna upotreba prosa u Evropi beleži se naročito u severnoj Italiji, gde je posebno poznato i tipično jelo bila palenta od prosa koja se vekovima konzumirala u Veneciji, Lombardiji i Trentinu. U srednjem veku, za vreme velikih postova, proso se smatralo odličnom zamenom za meso. Postoje podaci značajnog uzgoja prosa i u drugim delovima Evrope - Poljskoj, Španiji, južnoj Francuskoj, Nemačkoj, Austriji, Mađarskoj, Ukrajini (*Pedrotti, 2003*).

Proso je žito koje prirodno ne sadrži gluten. Hrana koja sadrži gluten danas se povezuje sa tri klinička stanja uključujući celijakiju, necelijačnu senzitivnost na gluten i alergiju na pšenicu. Jedini tretman ovakvih stanja je hrana bez glutena. Tržište proizvoda bez glutena raste upravo zbog porasta obolelih od navedenih stanja (*Foschia i saradnici, 2016*). Brašna od pirinča, kukuruza i krompira se najčešće koriste u bezglutenskoj proizvodnji, iako je nutritivna vrednost ovih brašana niska (*O'Shea i saradnici, 2014*).

Sa porastom ljudske populacije i smanjivanjem zaliha vode, proso se smatra jednom od žita budućnosti. Smatra se dobrim izvorom ugljenih hidrata (70-74 g/100 g) i ima visok sadržaj proteina (12-14 g/100 g), i bogatiji je izvor esencijalnih aminokiselina od pšenice (*Kalinova i Moudry, 2006*). Pozitivan uticaj prosa se ogleda i u nutritivnom značaju i poboljšanju metabolizma holesterola (*Nishizawa i Yoshiharu, 1995*); kao i u bioaktivnosti i koristi po zdravlje koje potiču od fenolnih jedinjenja (*Shahidi i Chandrasekara, 2013*). Ovi podaci upućuju na zaključak da bi proso moglo da bude odlična zamena za već poznata bezglutenska žita siromašnijeg nutritivnog sastava.

Danas je prilično rasprostranjeno u Aziji i Africi, dok se u Evropi njegov uzgoj postepeno smanjivao zbog sve češćeg korišćenja kukuruza, koji je donet iz Amerike. Pošto kukuruz zahteva slične uslove kao i proso, u jednom trenutku je proso potpuno potisnuo. U Francuskoj je čak kukuruz prisvojio i ime prosa. Interesantno

je da prema mišljenju mnogih historičara, proso verovatno predstavlja preteču svih žita, čak je moguće da je hranilo čovečanstvo do otkrića samog pluga (Pedrotti, 2003).

### 2.3.1. Arheobotanička pripadnost prosa

Proso (*Panicum miliaceum* L.) predstavlja jedno od retkih žita koje prirodno ne sadrži gluten, prijatnog slatkastog ukusa što ga čini veoma interesantnim za implementaciju u humanoj ishrani. Dobro se prilagođava različitim zemljištima i klimatskim uslovima i može da se gaji na visokim nadmorskim visinama.



**Slika 14:** Proso

Smatra se prvim žitom starih Slovena. Najstarije nalazište je u severnoj Kini i datira još od pre 10000 godina (Lu i saradnici, 2009), a postoji zatim arheološko nalazište Čok na Kavkazu koje datira još iz početka šestog milenijuma pre nove ere (Lisitsina, 1984), pretpostavlja se da je to reon primodometifikacije prosa. Postoje nalazišta koja potvrđuju da je gajenje prosa pre petog milenijuma pre nove ere zabeleženo u Sorokiju, u jugo-zapadnoj Rusiji (Janushevich, 1976). Nešto kasnije, nalazišta iz centralne Evrope pokazuju njegovo prisustvo iz perioda 4400-4000 godina pre nove ere (Rothmaler i Natho, 1957; Tempir, 1969, 1979; Klichowska, 1976).

**Tabela 14:** Karakteristike strnih i prosolikih žita

<b>Grupe razlika:</b>	<b>Strna žita</b>	<b>Prosolika žta</b>
<b>Morfološke karakteristike</b>		
Plod, zrno – <i>Caryopsis</i>	Zrno sa trbušne strane ima brazdicu, a na vrhu zrna bradicu	Zrno nema ni brazdicu a ni bradicu
Broj klicinih korenčića	Klijaju sa više klicinih korenčića	Klijaju sa samo jednim klicinim korenčićem
Razvijenost cvetova u klasu	U klasku su obično razvijeni donji cvetovi, dok je gornji često neplodan	U klasku su obično dva cveta, donji je nerazvijen i neplodan a vršni je plodan
Stablo	Na poprečnom preseku okruglo i šuplje	Okruglo i ispunjeno parenhimom
<b>Ekološke razlike – u zahtevima za faktorima sredine</b>		
Toplota	Manji zahtevi – Min. temperatura za klijanje je 1-2 °C. Otpornija su na niske temperature.	Veći zahtevi – Min. temperatura za klijanje 8-10 °C. Manja otprnost na niske temperature.
Voda	Veći zahtevi za vodom.	Manji zahevi za vodom. Bolje podnose suše.
Svetlost	Biljke su dugog dana – više od 12 do 14 h neophodno za prelazak iz vegetativne faze u generativnu	Biljke su kratkog dana – manje od 12 do 14 h
<b>Biološke razlike</b>		
Vreme setve	Imaju ozime i jare forme	Postoje samo jare forme
Tempo početnog razvića – od klijanja do bokorenja	Ubrzan	Usporen

Izvor: *Dorđević*, (1948)

Prema *Dorđeviću* (1948), proso, botanički, spada u žita – zrnene skrobne biljke *Cerealiae*. Žita pripadaju klasi *Monocytolae*, red *Poales*, porodica *Poaceae*. Na osnovu morfoloških i bioloških grupa, žita se dele u dve podgrupe:

- A. Prava žita (strna žita) – žita prve grupe, podfamilija - *Pooideae* (*klasaste trave*):
  - a) Pšenica – *Triticum* sp.
  - b) Raž – *Secale cereale*

- c) Ječam – *Hordeum sativum*
  - d) Ovas – *Avena sativa*
- B. Prosolika žita – žita druge grupe, podfamilija *Panicoidae* (prosolika žita):
- a) Kukuruz – *Zea mays*
  - b) Sirak – *Sorghum vulgare*
  - c) Proso – *Panicum* sp.**
  - d) Pirinač – *Oryza sativa*

Prosolika i strna žita se međusobno razlikuju po morfološkim, biološkim, ekološkim osobinama i samom načinu gajenja.

### 2.3.2. Globalna proizvodnja, rasprostranjenost i gajenje prosa

Oko dvadeset različitih vrsta prosa je kultivisano u celom svetu kroz različita vremenska razdoblja (Fuller, 2006). Najčešće kultivisane vrste prosa uključuju proso (*Panicum miliaceum* L.), biserno proso (*Pennisetum glaucum* L.R. Br.), finger proso (*Eleusine coracana*), kodo proso (*Paspalum setaceum*), foksteil proso (*Setaria italica* L. Beauv.), mali proso (*Panicum sumatrense*), i barnjard proso (*Echinochloa utilis* (Rachie, 1975; Bouis, 2000; Wen i saradnici, 2014). Ove vrste prosa zauzimaju šesto mesto u svetu među najznačajnijim žitima, koje koristi više od jedne trećine svetske populacije (Patel, 2012; Changmei i Dorothy, 2014). Azijske i Afričke zemlje su danas najveći proizvođači prosa. Proso predstavlja najvažniji izvor proteina i energije za milione ljudi u Kini, Japanu, Africi i Indiji, posebno za populaciju koja živi u vrelim i suvim delovima sveta (Rachie, 1975; Amadou i saradnici, 2013).

Proso može da bude veoma produktivno čak i pod surovim uslovima gajenja, naročito u regionima kao što su Indija, subsaharska i zapadna Afrika, gde prosečne padavine iznose manje od 500 mm i zemljišta su peskovita i blago kisela (Changmei i Dorothy, 2014).

**Tabela 15:** Prikaz proizvodnje prosa u pojedinim zemljama Azije i Afrike

Država	Proizvodnja u tonama
Indija	11420000
Niger	3321753
Kina	1780000
Mali	1715044
Nigerija	1384900

Izvor: FAOSTAT, 2014 (<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>)

Prerađen izvor: FAOSTAT, 2014 (<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>)

Suša i nedostatak sistema za navodnjavanje konstantni su izazov agrikulturnoj proizvodnji u mnogim zemljama u razvoju, i ponekad su rezultat gubitaka prinosa i u razvijenim zemljama (*Ceccarelli i Grando, 1996*). Efikasna strategija rešavanja uzgoja useva na zemljištu koje je u deficitu sa vodom je, upravo uzgajanje useva koji su manje zahtevni i otporni na sušu (*Seghatoleslami i saradnici, 2008*) umesto gajenja useva koji zahtevaju više vlage. Pošto je proso adaptirano i dobro podnosi sušu, ono može da bude ključni usev koji će pomoći da se reši pitanje gladi i gajenja pod teškim uslovima (*Amadou i saradnici, 2013*).

### 2.3.3. Fizičke karakteristike zrna prosa

Proso ima relativno kratak period rasta, proizvodi seme u razmaku od 60 do 100 dana posle sejanja (*Baltensperger, 2002*). Zahtevi za vlagom kod prosa su veoma mali, može da toleriše i sušne periode. Predstavlja alternativni usev kada drugi usevi ne uspeju, obično se seje u proleće i jesen. Proso ima plitak sistem korena, i predstavlja žito koje najefikasnije uklanja vodu iz površinskih delova zemljišta pretvarajući je u suhu materiju (*Smith, 1979*).



**Slika 15:** Zrna prosa - varijeteti

Izmeljavanje zrna bez omotača iznosi 79% brašna na račun zrna.

Sama biljka dostiže visinu od 100 cm. Zrno prosa može značajno da varira u boji od bež, žute, crvene, braon do crne (Baltensperger, 2002).

Oblik zrna je sferičan, a ponekad i ovalan. Dužina zrna u proseku iznosi oko 3 mm a širina 2 mm.

Težina 1000 zrna iznosi oko 7,1 g.

#### **2.3.4. Hemijske i nutritivne karakteristike zrna prosa**

Sve vrste prosa imaju visoku nutritivnu vrednost u poređenju sa dominantnijim žitaricama u svetu kao što su pšenica, pirinač i kukuruz (Amadou i saradnici, 2013; Saleh i saradnici, 2013). Sve vrste prosa čine jedinstvenu grupu žita koja se u hemijskom sastavu značajno razlikuju od pšenice po visokom sadržaju kalcijuma, gvožđa, kalijuma, magnezijuma, fosfora, cinka, dijetnih vlakana, polifenola i sadržaja proteina (Hulse i saradnici, 1980; Devi i saradnici, 2014; Gupta i saradnici, 2014). Proso je takođe žito koje prirodno ne sadrži gluten što ga čini odličnom namirnicom u kvalitetnoj ishrani osoba obolelih od različitih oblika intolerancije na gluten i pšenicu.

Sve vrste prosa spadaju u lako svarljiva žita. Sadrže visok procenat lecitina, koji je neophodan za pravilno funkcionisanje nevnog sistema tako što omogućava poboljšanje i očuvanje funkcije nervnih ćelija, regeneriše mijelinska vlakna i pojačava metabolizam ćelija mozga. Proso je takođe bogato mikronutrijentima kao što su niacin, B-kompleks vitamina, Vitamin B6 i folna kiselina (Hulse i saradnici, 1980; Pathak, 2013). Proso sadrži značajne količine aminokiselina, posebno onih koje sadrže sumpor (metionin i cistein). Saleh i saradnici (2013) su pokazali da su vrste prosa odličan izvor esencijalnih aminokiselina, i da osim lizina i treonina imaju i visok procenat metionina. Proso ima veći sadržaj lipida od kukuruza, pirinča i sirka (Obilana i Manyasa, 2002).

Zhang i saradnici (2014) su izučavali sadržaj fitohemikalija, antioksidativnu aktivnost i anti-proliferativne sposobnosti tri varieteta prosa. Antiproliferativne aktivnosti su izučavane *in vitro* protiv MDA ljudskog raka dojke i HepG2 raka ćelija jetre. Rezultati pokazuju različite i selektivne moguće anti-proliferativne sposobnosti prosa.

Konzumiranje prosa može da smanji holesterol i fitate, koji su povezani sa kardiovaskularnim oboljenjima i rizikom oboljevanja od raka. Lignani, esencijalni fitonutrijenti prisutni u prosu deluju protiv različitih tipova hormon-zavisnih oblika raka, kao što je rak dojke i pomažu u smanjenju rizika oboljenja srca (Coulibay i saradnici, 2011). Konstantnom upotrebom prosa može da se smanji visok krvni pritisak i visok nivo holesterola kod žena u postmenopauzi (Shahidi i Chandrasekara, 2013). Proso može da uspori proces starenja (Pathak, 2013; Shahidi i Chandrasekara, 2013) i može da štiti od oboljenja indukovanih starenjem (Pathak, 2013).

Takođe, dokazano je da proteini prosa imaju pozitivan uticaj na metabolizam holesterola (Nishizawa i Fudamo, 1995). Nishizawa i saradnici (2002) su ispitivali uticaj dijetetskog proteina prosa (*Panicum miliaceum* L.) na nivoe HDL holesterola u plazmi, kod pacova. Pokazali su da se digestijom proteina prosa podižu nivoi HDL-holesterola u plazmi. Kada se uzme u obzir anti-aterogenska funkcija HDL, dolazi se do zaključka da bi zbog funkcije regulisanja metabolizma holesterola proteini prosa bili odlični za uključivanje u ljudsku ishranu. Takođe je ukazano da konzumiranje prosa može da bude korisno u prevenciji oboljenja jetre (Nishizawa i saradnici, 2002).

Proso uglavnom sadrži slobodne i konjugovane forme fenolnih kiselina, koje uključuju derivate hidroksibenzoeve i hidroksicimetne kiseline. Takođe, nekoliko flavonoida, uglavnom antocijanidina, flavanola, flavona, flavanona, halkona i aminofenolnih jedinjenja je pronađeno u raznim vrstama prosa. Fenolna kiselina i flavonoidi su nađeni u različitim delovima zrna i sadržaj i kompozicija variraju od vrste do vrste prosa (Shirley, 1998; Chandrasekara i Shahidi, 2011).

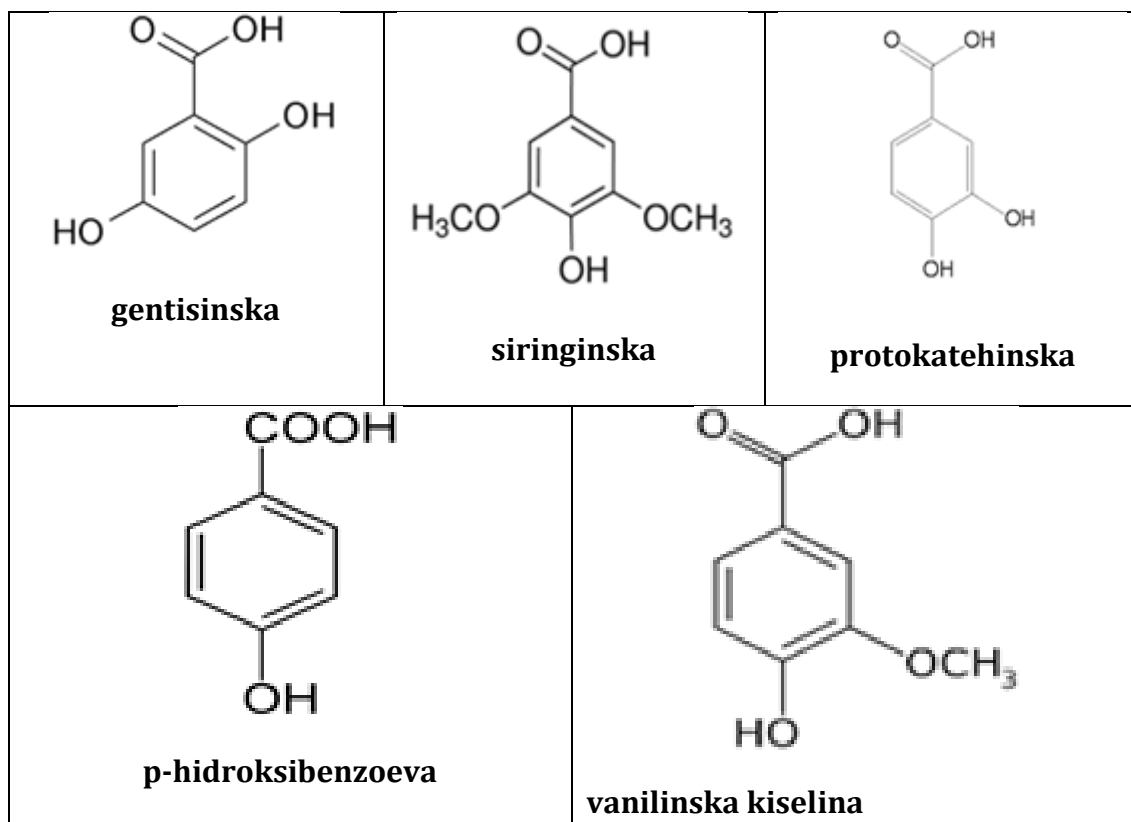


**Tabela 16:** Sastav različitih vrsta prosa

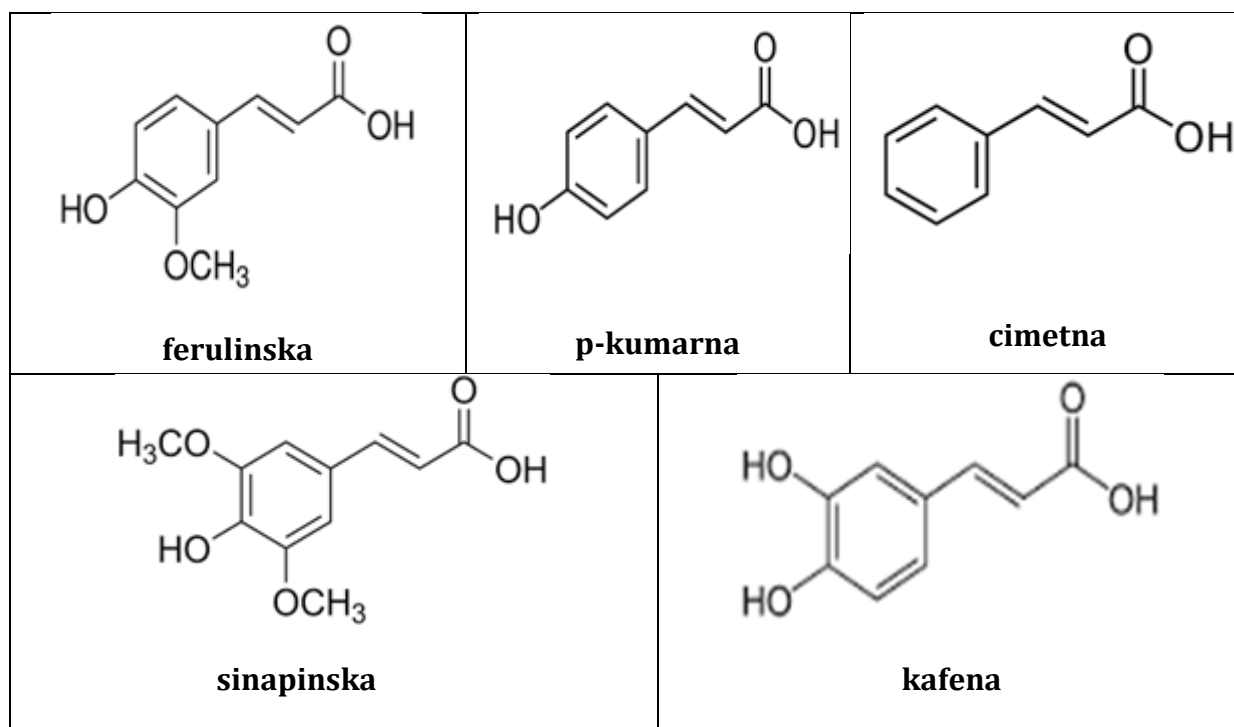
Usev	Protein (g)	Ugljeni hidrati (g)	Masti (g)	Dijetalna vlakna (g)	Mineralne materije (g)	Kalcijum (mg)	Fosfor (mg)	Gvožđe (mg)
Proso millet ( <i>Panicum miliaceum</i> L.)	12,5*	70,4	3,1	14,2	1,9	14	206	10,0
Finger millet ( <i>Eleusine coracana</i> L. Gaertn.)	7,3	72,0	1,3	18,8*	2,7	344*	283	3,9
Kodo millet ( <i>Paspalum scrobiculatum</i> L.)	8,3	65,0	1,4	15,0	2,6	27	188	12,0
Foxtail millet ( <i>Setaria italica</i> L. P. Beauv.)	12,3	60,9	4,3	14,0	3,3	31	290	5,0
Little millet ( <i>Panicum sumatrense</i> )	7,7	67,0	4,7	12,2	1,5	17	220	6,0
Barnyard millet ( <i>Echinochloa esculenta</i> )	6,2	65,5	2,2	13,7	4,4*	11	280	15,0*
Pšenica ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	11,8	71,2	1,5	12,9	1,5	41	306	3,5

Izvor: Adaptirano od *Saha i saradnici* (2016)

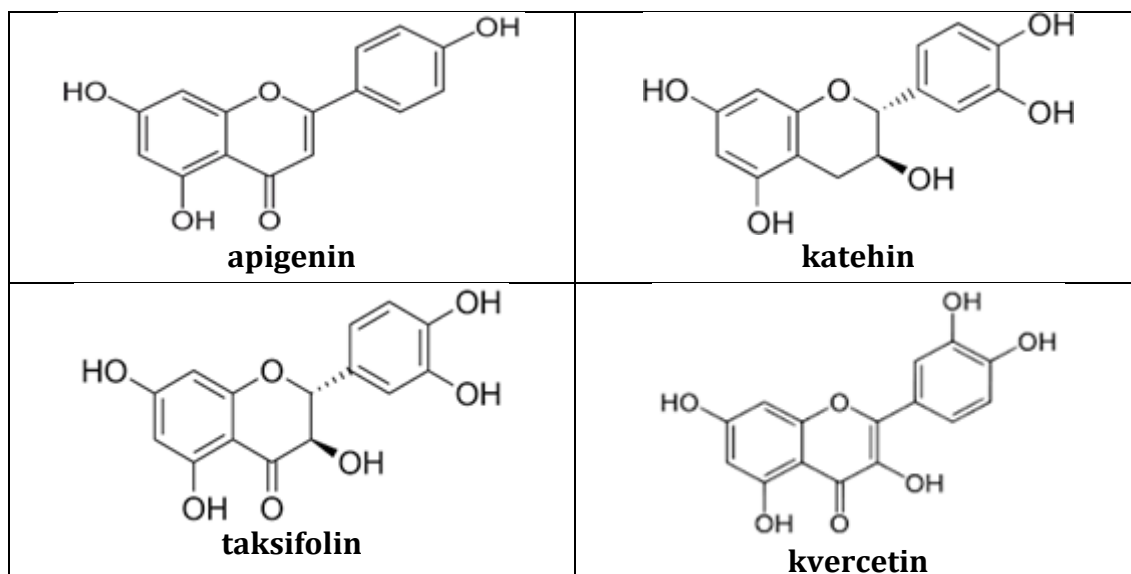
\*Veće vrednosti od poznatijih cerealija i pšenice



**Slika 16:** Hidroksibenzoeve kiseline u prosu (*Shahidi i Chandrasekara, 2013*)



**Slika 17:** Hidroksicimetne kiseline identifikovane u zrnima prosa (*Shahidi i Chandrasekara, 2013*)



**Slika 18:** Flavonoidi u zrnima prosa (*Shahidi i Chandrasekara, 2013*)

### 2.3.5. Načini upotrebe i proizvodi od prosa

Proso može da se kuva i priprema na različite načine. Zrna mogu da budu kuvana, naparena za pravljenje salate, ili pripremana kao pirinač. Zajedno sa drugim sastojcima od prosa može da se pravi i kaša (*Santra, 2013*). Zbog svog blagog ukusa, svetle boje, bezglutenskog sastava i korisnih zdravstvenih efekata, za prosom vlada rastuća potražnja u Evropi i Americi (*Santra, 2013*).

Takođe, proso može da se koristi kao zamena u destilovanim pićima i koristi se za spravljanje fermentisanih pića trenutno u Africi i Aziji. Može da zauzme mesto i u razvijenim zemljama u delu alkoholne industrije i spravljanja bezglutenskih piva (*Santra i sradnici, 2015*).

Nedostatak primene prosa se oseća u pekarskoj, mlinskoj i konditorskoj industriji gde su neophodna dalja ispitivanja i ispitivanje mogućnosti da se uvedu novi proizvodi.

## 2.4. Trajni pekarski proizvodi - specijalna vrsta hleba

### 2.4.1. Dvopek - prepečen hleb

Pravilnik o kvalitetu žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo smrznutih testa ("Sl. list SRJ", br. 52/95 i "Sl. list SCG", br 56/2003 - dr. pravilnik, 4/2004 - dr. pravilnik i "Sl. glasnik RS", br. 43/2013 - dr. pravilnik) definiše dvopek kao specijalnu vrstu hleba. Član 105 tačno propisuje da se pod nazivom "dvopek" može stavljati u promet pekarski proizvod dobijen od testa umešenog od brašna, masti, kvasca i vode. Za proizvodnju dvopeka mogu se upotrebiti šećer, jaja, mleko, masnoća, sladni ekstrakt, so, suvo voće, pšenični gluten i drugi sastojci predviđeni ovim pravilnikom.

Dvopek svoju istoriju beleži još od antičkih vremena, dok je u Italiji dobio naziv *biscoctus* što u bukvalnom prevodu sa latinskog znači dva puta pečen hleb (Davidson, 1999). Ovaj specijalni hleb je bio neizostavan kod rimskih ratnika, istraživača, putnika, mornara i sl. Pre svega svoju upotrebu je pronašao zbog trajnosti i malog rizika od kvarenja. U Engleskoj ga zovu *rusk*, u Nemačkoj *zwieback*, Jevreji kažu *mandelbrot*. U *Larousse Gastronomique* nazivaju ga u XIX veku "hlebom putnika".



**Slika 19:** Dvopek

Dvopek se često preporučuje u dijetetskim režimima ishrane, u Nemačkoj kao prva hrana za decu kojoj niču zubi. Koristi se u vojsci zbog dugog roka trajanja.

U stručnoj i naučnoj literaturi ne postoji veliki broj radova na temu tehnologije proizvodnje dvopeka, njegovih kvalitetnih i nutritivnih svojstava.

## 2.5. *In vitro* digestija i hemijske interakcije u matriksu proizvoda

Osim što danas vlada veliko interesovanje za podacima o sadržajima bioaktivnih komponenti koje hrani daju funkcionalnost; sve je veće interesovanje i za podacima o njihovoj biodostupnosti, apsorpciji, metabolizaciji i izlučivanju. *In vivo* istraživanja, obavljena na ljudima ili životinjama pružaju najtačnije podatke bilo da se radi o hrani ili lekovima. Međutim, ove metode, osim što su skupe i zahtevaju dugo vreme; takođe dovode i do etičkih dilema. Stoga se danas sve češće primenjuju *in vitro* metode koje simuliraju digestiju u ustima, gastričnom i intestinalnom delu, dok ređe uključuju fermentacione procese u debelom crevu. Ovi postupci vrše se u uslovima koji su što sličniji fiziološkim uslovima *in vivo*, što znači da se vodi računa o prisustvu specifičnih enzima, njihovoj čistoći kao i o njihovim koncentracijama, pH, koncentracijama soli i vremenu trajanja digestije (Minekus i saradnici, 2014). U literaturi se uglavnom sreću publikovani podaci iz *in vitro* eksperimenta izvršenih u statičkim uslovima, mada postoje i kompjuterizovani sofisticirani uređaji kakve su razvili francuska INRA (Ménard i saradnici, 2014), Institut za istraživanje hrane Engleske (Wickham i saradnici, 2009), ili holandska institucija TNO (Minekus, 2015). Eksperimenti *in vitro* digestije, iako uglavnom izvedeni u statičkom modelu, a budući da se vrše u fiziološki relevantnim uslovima, omogućavaju da se dođe do podataka o svarljivosti i biodostupnosti (to jest, do količine nekog jedinjenja koje je oslobođeno iz nekog matriksa i može se smatrati dostupnim za apsorpciju u stomaku): lekova, mikotoksina i makronutrijenata (proteina, ugljenih hidrata i masti), ali takođe i mikronutrijenata kao što su minerali, karotenoidi ili polifenoli (Minekus i saradnici, 2014).

Iako podaci dobijeni *in vitro* digestijom nisu identični onima dobijenim iz *in vivo* studija, ovi postupci imaju niz prednosti: rezultati su ponovljivi jer se eksperimenti odigravaju u standardizovanim uslovima, do podataka se dolazi brže, eksperimenti koštaju manje i zahtevaju manje rada od *in vivo* studija a ne donose bioetičke dileme (Hur i saradnici, 2011; Minekus i saradnici, 2014; Shani-Levi i saradnici, 2017). Posebno je važno naglasiti da *in vitro* digestija, primenjena tokom dizajniranja novih proizvoda kao i tokom razvoja tehnoloških postupaka, donosi ogroman potencijal za dobijanje novih funkcionalnih proizvoda u industriji hrane.

### 2.5.1. Metabolizam ugljenih hidrata

Ugljeni hidrati predstavljaju najzastupljeniji deo dnevnog obroka u odnosu na masti i proteine kod većine populacije. Najvažnija uloga ugljenih hidrata u metabolizmu jeste proizvodnja energije neophodne za obavljanje normalnih fizioloških funkcija ćelije. Glukoza se putem krvi, posle resorpcije ili posle sinteze procesom glikogeneze, transportuje do svih ćelija. Kako ima važnu ulogu izvora energije za mnoga tkiva, njena količina u krvi se održava stalno u granicama od 3,55-5,55 mmol/l krvne plazme što se označava terminom *glikemija*. Delovanjem specifičnog nosećeg proteina, lokalizovanog unutar plazma membrane ćelije, po dolasku do tkiva glukoza na ovaj način ulazi u ćelije. Nosač transportuje glukozu naspram koncentracionog gradijenta procesom koji se naziva olakšana difuzija, koja za razliku od aktivnog transporta glukoze (koji se odigrava na nivou intestinuma) ne zahteva utrošak metaboličke energije u vidu ATP-a.

Prva reakcija po ulasku glukoze u ćeliju jeste njeno fosforilisanje, dejstvom heksokinaze (u jetri i glukokinaze), utroškom jednog molekula ATP-a, u glukozo-6-fosfat. Glukozo-6-fosfat se uključuje u više metaboličkih puteva: razlaže se glikolizom, procesom direktne oksidacije glukoze, to jest, pentoznim putem, koristi se za sintezu glikogena, glikogenezu za sintezu glukuronske kiseline, za sintezu amino šećera i dr. (*Koraćević i saradnici, 1996*).

### 2.5.2. *In vitro* digestija skroba, interakcije - uticaj na glikemijski indeks

Pojam glikemijskog indeksa (GI) uveden je 1981 godine (*Jenkins i saradnici, 1981*), sa ciljem uvođenja preporuka pacijentima obolelim od dijabetesa tipa 2. Naime, prethodno je bilo uočeno da fiziološki efekti hrane zavise od faktora kao što su: prisustvo dijetetskih vlakana i priroda ugljenih hidrata. U osnovi koncepta GI jeste ideja da se prevencija hiperglikemije može ostvariti konzumiranjem hrane koja dovodi do niskog glikemijskog odgovora posle konzumiranja.

Zvanično je od strane združenog tima stručnjaka Svetske zdravstvene organizacije (World Health Organization – WHO) i Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija (Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO)

glikemijski indeks definisan kao površina ispod krive odgovora glukoze u krvi na porciju od 50 g ugljenih hidrata hrane koja služi kao test izraženo kao procenat odgovora na istu količinu ugljenih hidrata od standardizovane hrane uzete od istog subjekta (FAO/WHO, 1998).

Glikemijski dostupni ugljeni hidrati se računaju kao ukupni ugljeni hidrati minus dijetetska vlakna. Kao stanradna hrana mogu da se koriste ili beli hleb ili glukoza. Vrednosti glikemijskog indeksa su, ako se koristi beli hleb kao standard, oko 1,4 puta viši od onih ako je glukoza korišćena kao standardna hrana. Može da se koristi i druga hrana kao standard ali je lakše zbog manipulacije podacima da to budu glukoza ili beli hleb (FAO/WHO, Poglavlje 5, 1998).

Dakle, glikemijski indeks je podatak koji razvrstava hranu koja je izvor ugljenih hidrata na skali od 0 do 100 prema brzini podizanja šećera (glukoze) u krvi posle obroka. Hrana sa visokim GI je ona koja se brzo vari, apsorbuje i metaboliše, što rezultuje značajnim fluktuacijama nivoa šećera u krvi. Uobičajeno se izvori ugljenih hidrata razvrstavaju u tri kategorije, prema vrednosti GI:

- **Nizak glikemijski indeks** = GI vrednost 55 ili manja.
- **Srednja vrednost glikemijskog indeksa** = GI vrednost interval 56 – 69.
- **Visoka vrednost glikemijskog indeksa** = GI 70 ili više ([www.diabetes.org](http://www.diabetes.org)).

Preporučeno je konzumiranje hrane sa niskim i srednjim vrednostima GI (< 70); za šta se smatra da je povoljno po zdravlje, posebno u prevenciji kardiovaskularnih bolesti kao i dijabetesa oba tipa (Fardet i saradnici, 2006; Riccardi i saradnici, 2008). Pored vrednosti glikemijskog indeksa uveden je i pojam opterećenosti glukozom - GL (Glycemic Load), koji ukazuje na količinu onih ugljenih hidrata u hrani koji dovode do visoke vrednosti GI. Vrednost GL dobija se množenjem specifične vrednosti GI količinom ugljenih hidrata u prosečno konzumiranoj porciji (Foster-Powell i saradnici, 2002; Riccardi i saradnici, 2008). Dakle, ovaj podatak kombinuje podatke o kvalitetu i kvantitetu ugljenih hidrata. Računanje se vrši formulom:

$$GL = (GI \times \text{količina ugljenih hidrata})/100 \quad (4)$$

U slučaju jabuke koja ima GI = 40 i sadrži 15 grama ugljenih hidrata, dobija se da je vrednost opterećenja glukozom:  $GL = 40 \times 15/100 = 6$  g; dok je vrednost GL za kuvani krompir koji ima GI=80 i sadrži 15g ugljenih hidrata:  $GL = 80 \times 15/100 = 12$  g. U svetu je sve više zahteva da industrijski proizvedena hrana ima obeleženu vrednost glikemijskog indeksa, koju bi dobila posle neophodnih testiranja.

Skrob i skrobna hrana mogu da se klasifikuju upravo prema njihovoj svarljivosti, koja se obično definiše nivoom i trajanjem glikemijskog odgovora. Predviđanje i kontrolisanje absorpcije glukoze koje zavisi od digestije skrobne hrane je od velikog interesa za zdravlje ljudi, i stoga je vrlo važno poznavati vrednosti GI i GL za hranu koja sadrži skrob; odnosno za pekarske proizvode. Većina skrobova sadrži deo koji se brzo razgradi (brzo razgrađujući skrob), zatim deo koji se sporije razgrađuje (sporo razgrađujući skrob) i deo koji je rezistentan na digestiju (rezistentni skrob) (*Englyst i saradnici*, 1999).

Rezistentni skrob se definiše kao deo skroba koji nije podlegao hidrolizi od strane enzima u tankom crevu i koji kao takav prelazi u debelo crevo. Najšire korišćena metoda za klasifikovanje skrobova na osnovu brzine *in vitro* digestije su dali *Englyst i saradnici* (1992). Metod je zasnovan na *in vitro* digestiji skroba uz simulaciju stomaćnih i intestinalnih uslova i na merenju oslobođene glukoze u različito vreme. Različite frakcije skroba su definisane kao:

- Brzo razgrađujući skrob (eng. *Rapidly Digestible Starch* -RDS): količina glukoze koja se oslobodi nakon 20 min.
- Sporo razgrađujući skrob (eng. *Slowly Digestible Starch* -SDS): količina glukoze koja se oslobodi između 20 i 120 min *in vitro* digestije.
- Rezistentni skrob (eng. *Resistant starch* - RS): ukupni skrob minus količina glukoze koja se oslobodi u okviru 120 min *in vitro* digestije što može da se oslobodi sledećom jednačinom:

$$RS = TS - (RDS + SDS) \quad (5)$$

gde je TS ukupni skrob (eng. *Total Starch*) (*Englyst i saradnici*, 1992).

Tačno određivanje glikemijskog indeksa za proizvode i njegovo korišćenje u deklarisanju omogućava potrošačima da formiraju svoju ishranu vodeći računa upravo o ovom parametru, odnosno, o konzumiranju hrane koja može da utiče na



nivo glukoze u krvi.

Postoji nekoliko radova koji pokazuju dobru korelaciju sa *in vitro* metodama određivanja glikemijskog indeksa. Ovakve studije imaju za cilj da olakšaju deklarisanje proizvoda i predstave potencijalnu korist za osobe sa dijabetesom (Singh i saradnici, 2010; Hur i saradnici, 2011; Minekus i saradnici, 2014).

U zavisnosti od botaničke vrste, fizičko-hemijske karakteristike skroba mogu značajno da variraju (Singh i saradnici, 2007; Singhi saradnici, 2009). Nekoliko studija je pokazalo veze između karakteristika i vrste skroba sa razlikama u svarljivosti. Postoji takođe razlika u svarljivosti nativnog skroba i hemijski modifikovanog, koja potiče od razlika u delovanju amilaze koje je sporije u slučaju hemijski modifikovanog skroba (Han i BeMiller, 2007).

Na enzimsku digestiju skroba značajno utiče više faktora:

- teksturne i reološke karakteristike proizvoda;
- prisustvo ostalih komponenti u hrani, kao što su proteini, lipidi i neskrobnii polisaharidi;
- promene i interakcije koje se odvijaju tokom tehnološke prerade hrane.

Razgradivi skrob je uglavnom hidrolizovan od strane enzima u glukozu kroz nekoliko koraka. Pljuvačna amilaza ima intenzivno dejstvo na razlaganje skroba, međutim brzo se razgrađuje u kiseloj sredini stomaka i zbog toga ima manju ulogu u celokupnoj digestiji skroba. Najveći deo hidrolize skroba se odvija od strane pankreatične amilaze koja se oslobađa u tankom crevu kroz kanal pankreasa. Alfa amilaza (1,4 alfa-D-glukanohidrolaza) katalizuje hidrolizu alfa-(1-4) glikozidne vezeu amilozi i amilopektinu skroba (Lehmann i Robin, 2007). Konačni proizvod hidrolize (digestije) amiloze su uglavnom maltoza, maltotrioza i maltotetroza. Međutim, alfa amilaze iz određenih mikrobioloških izvora mogu da proizvedu maltoheksozu i maltoheptozu zajedno sa maltotriozom (Yook i Robyt, 2002). Alfa amilaze nemaju specifičnost za alfa-1,6 granu vezivanja u amilopektinu, stoga je njihov kapacitet da raskinu alfa-1,4 vezesusedne tački grananja umanjena uglavnom zbog prostornih ometanja. Rezultati dobijeni analizom intestinalnog sadržaja ljudisugeriše da se produkti hidrolize amilopektina uglavnom sastoje od dekstrina ili razgranatih oligosaharida (Kuriki i Imanaka, 1999).

U literaturi postoje podaci koji pokazuju da hidroliza skroba sledi jednačinu kinetike

prvog reda:

$$C = C_{\infty}(1 - e^{-kt}) \quad (6)$$

u kojoj je C koncentracija skroba hidrolizovanog za vreme t,  $C_{\infty}$  je ravnotežna koncentracija skroba, k je kinetička konstanta a t je izabrano vreme. Razmatranjem vrednosti hidrolizovanog skroba primećeno je da skrob iz mahunarki hidrolizuje u manjoj meri u odnosu na onaj iz žitarica. Termin indeks hidrolize su predložili *Goni i saradnici* (1997), ovi autori smatraju da indeks hidrolize predstavlja dobar prediktor glikemijskog odgovora. Oni predstavljaju krive hidrolize kao procenat ukupnog skroba koji je hidrolizovao u funkciji vremena, i računaju površinu ispod krive hidrolize (AUC – area under the curve) uz pomoć sledeće jednačine:

$$AUC = C_{\infty}(t_f - t_0) - (C_{\infty}/k)[1 - \exp[-k(t_f - t_0)]] \quad (7)$$

gde  $C_{\infty}$  odgovara ravnotežnom procentu hidrolizovanog skroba posle 180min,  $t_f$  je konačno vreme (180 min),  $t_0$  je inicijalno vreme (0 min) a k je kinetička konstanta. Brzina hidrolize pri niskim koncentracijama skroba može da se objasni jednostavnom Michaelise - Menten –ovom jednačinom; dok je modifikovani oblik kinetičke jednačine prvog reda neophodan pri visokim koncentracijama (*Komolprasent i Ofoli, 1991*). Michaelise - Menten kinetika objašnjava brzinu oslobađanja redukujućih šećera kao funkciju koncentracija inicijalnog skroba, iako koncentracija alfa-1,6 vezivanja takođe ima uticaja u određenom udelu. Maksimalna brzina ( $V_{max}$ ) oslobađanja redukujućih šećera iz šećera se smanjuje dok se vrednost Michaelise - Menten konstante ( $K_m$ ) povećava sa smanjujućom molekularnom težinom skrobova (*Heitmann i saradnici, 1997*). Strukturne razlike između skrobova, kao što su molekularna težina i stepen grananja, može da utiče na reološke karakteristike njihovih rastvora što značajno utiče na brzinu hidrolize skroba. Indeks hidrolize skroba (HI) izračunava se konačno kao procenat vrednosti AUC (area under the curve – površina ispod krive hidrolize) u odnosu na vrednost AUC dobijenu za referentni material, to jest, beli hleb (*Granfeldt i saradnici, 1992; Goni i saradnici, 1997; Shumoy i Raes, 2017*).

*Sanroma'n i saradnici* (1996) su proučavali uticaj strukture skroba na hidrolizu glukoamilazom koristeći dva tipa skroba koji se razlikuju u viskozitetu. U jednom

slučaju se vidi da kinetika hidrolize skroba odgovara Mihaelis Menten - ovoj jednačini:

$$(V = V_{\max} S / (K_m + S)) \quad (8)$$

gde je  $V$  brzina hidrolize skroba,  $V_{\max}$  maksimalna brzina oslobađanja redukujućih šećera,  $K_m$  je Mihaelis Menten-ova konstanta,  $S$  inhibitorski efekat substrata, a  $K_i$  inhibiciona konstanta (*Sanromań i saradnici, 1996*); dok se u drugom slučaju nivo hidrolize skroba povećavao sa koncentracijom do maksimuma a zatim je pad primećen kada je određena koncentracija premašena. Zatim je primećen inhibitorski efekat substrata ( $S$ ) shodno sa njegovim višim vrednostima viskoznosti postavljenim u modelu:

$$(V = V_{\max} S = (K_m + S + K_i S)) \quad (9)$$

gde je  $K_i$  inhibiciona konstanta. Ograničenje transfera mase se javlja u zavisnosti od visokznih/reoloških karakteristika skroba, što takođe može da utiče na nivo hidrolize različitih skrobova. Veći stepen grananja dozvoljava povećan broj dostupnih tačaka za napad enzima (*Sanromań i saradnici, 1996*). Smanjenje hidrolize skroba može da se posmatra i kroz limit transfera mase. U prilog tome, molekularna težina i raspoređenost iste utiče na hidrolizu skroba.

Morfološke karakteristike skrobova iz različitih botaničkih izvora variraju u zavisnosti od genotipa. Varijacije u morfologiji kao što su veličina i oblik skrobnih granula se pripisuju biološkom poreklu (*Singh i saradnici, 2006; Singh i saradnici, 2007*). Najpre su *Langworthy i Deuel (1922)* zabeležili očiglednu negativnu vezu velikih granula skroba i svarljivosti. Mnoge naredne studije su potvrdile ovu vezu. *Lindeboom i saradnici, (2004)* su zabeležili da male ječmene i pšenične skrobne granule hidrolizuju brže od velikih granula. *Kaur i saradnici (2007)* su primetili da postoje značajne razlike u vrednostima enzimske hidrolize za različite prirodne skrobove krompira i za njihove izdvojene male, srednje i velike frakcije. Među prirodnim skrobovima, krompirov skrob sa višim procentom malih granula pokazuje viši nivo hidrolize od onih koje sadrže velike ili srednje veličine granula skroba. Izdvojena frakcija većih granula pokazuje manji nivo hidrolize od frakcija sa malim ili srednjim veličinama skroba. Slabija podložnost velikih granula enzimskoj

hidrolizi je primećena i pripisuje se manjoj specifičnoj površini vezivanja enzima što utiče na lošiju razgradivost u odnosu na manje granule skroba (*Tester i saradnici*, 2006). *Capriles i saradnici* (2008) su proučavali svarljivost skroba iz amaranta i njihovi rezultati pokazuju da je svarljivost *in vitro* efikasna zahvaljujući malim granulama dijametara između 1 i 3 mm. Kao što se i vidi iz tabele postoje značajne razlike u razgradivosti skroba u odnosu na izvor i način tehnološke obrade skroba.

**Tabela 17:** Karakteristike skroba i njihov efekat na digestiju skroba

Karakteristike skroba	Digestija skroba
<b>Morfologija granula</b>	
Nativni krompirov skrob	0.86 <sup>a</sup>
Velike skrobne granule krompira	0.83 <sup>a</sup>
Srednje skrobne granule krompira	1.12 <sup>a</sup>
Male skrobne granule krompira	1.35 <sup>a</sup>
<b>Sadržaj amiloze</b>	
Voskasti kukuruzni skrob (kuvan)	96 <sup>b</sup>
Obični kukuruzni skrob (kuvani)	86 <sup>b</sup>
Visoko amilozni kukuruzni skrob (kuvani)	77 <sup>b</sup>
Voskasti pirinač (kuvani)	80 <sup>c</sup>
Obični pirinač (kuvani)	71 <sup>c</sup>
Voskasti skrob sirka (sirovi)	90 <sup>d</sup>
Običan skrob sirka (sirov)	81 <sup>d</sup>

Izvor: *Wolf i saradnici*, 1999; *Hu i saradnici*, 2004; *Kaur i saradnici*, 2007; *Sang i saradnici*, 2008;

<sup>a</sup> Izraženo kao nivo hidrolize (%) skrobnih granula.

<sup>b</sup> Izraženo kao svarljivi skrob (%).

<sup>c</sup> Izraženo kao svarljivi skrob (%).

<sup>d</sup> Izraženo kao brzo i sporo razgradivi skrob (%).

Takođe je dokazano da karakteristike površine skrobnih granula utiču na enzimsku digestiju. *Li i saradnici* (2001) su primetili prisustvo rupica i ekvatorijalnih brazdica u velikim granulama skroba. *Singh i saradnici* (2006) su takođe zabeležili prisustvo malih čvorića i izbočina, zatim fragmentaciju površine, na granulama krompirovog skroba. Analizu različitih nativnih skrobova koji nisu kuvani objavili su *Dreher i saradnici* (1984). Autori sugerišu veću svarljivost skrobova iz žitarica u odnosu na one iz leguminoza i mahunarki. Smatra se da su prisutne rupice, izbočine i brazde

odgovorne za lakše prodiranje i razgradnju kod skrobnih granula žitarica, kao kod kukuruza na primer. Pore na granulama olakšavaju ulaz amilaza u granule i samim tim i razgradnju. Ovaj tip hidrolitičkog napada može da se nazove endokorozija.

Mesta razgradnje enzimskog delovanja na granulama skroba direktno zavise i od izvora skroba. Skrob iz kukuruza, sirka i prosa formira nasumične okrugle jame na površini granule što prati unutrašnja hidroliza dok voskasti skrobovi žitarica pokazuju tačkastu hidrolizu (*Dreher i saradnici, 1984*). Nativni ili nekuvani krompirov skrob i njegove granule koje imaju glatku površinu, pokazuje visoku otpornost prema enzimskim hidrolizama. Prve studije koje ispituju enzimsku otpornost nekuvanih krompirovih skrobova zabeležili su *Langworthy i Deuel (1920)* koristeći ljudske ispitanike. Posle toga mnoge studije pokazuju svarljivost i fermentaciju nekuvanog krompirovog skroba (*Tester i saradnici, 2006*). Krompirov skrob se tokom enzimske hidrolize eksokorozijom preseca praktično celom površinom granule.

Prisustvo određenih ne-skrobnih jedinjenja kakvi su proteini po površini granule mogu takođe da limitiraju nivo enzimske hidrolize. Površina granule može da bude zasićena proteinima i lipidima i može da se smanji dostupnost površine tako što se blokiraju adsorpciona mesta i blokira se vezivanje enzima (*Oates, 1997*). U slučaju pirinčanog skroba, pojedinačne granule formiraju klastere, poznate kao grupacije granula, koje popunjavaju većinu centralnog prostora u okviru ćelija endosperma. Da se inicira hidrolitički napad, amilaze moraju funkcionalno da vežu lance glukana kroz nekoliko glukoznih jedinica do njihovih podmesta, koja su locirana u aktivnom centru i imaju mogućnost interakcije sa jednim glukoznim ostatkom u substratu. Broj aktivnih mesta u okviru aktivnog centra varira od 4 do 9. Postoje određene polimerne forme skroba A, B i C koje se razlikuju prema načinu pakovanja dvostrukih heliksa amilopektina. Molekularna struktura skroba posebno u formi A ili B tipa, utiče na šemu njihove hidrolize. A tip polimorfnih rezidua je manje otporan na amiloznu hidrolizu u odnosu na B tip. Kraći dvostruki heliksi i unutrašnji kristaliti prisutni u A tipu skroba su podložniji enzimskoj hidrolizi od dužih lanaca koji su otporniji na hidrolizu (*Lehmann i Robin, 2007*).

Amilozni sadržaj skrobnih granula varira u odnosu na botaničko poreklo skroba, što takođe doprinosi i različitim varijacijama u hidrolizi skroba. Sadržaj amiloze u

skrobu varira od 14 do 31 % za normalne genotipe. Sirovi skrobovi sa visokim procentom amilopektina pokazuju bržu svarljivost od onih sa većim sadržajem amiloze. Leguminoze sadrže 30-40% amiloze i 60-70% amilopektina u njihovim skrobnim granulama, dok ostali skrobovi iz hrane sadrže 25-30 % amiloze i 70-75 % amilopektina (Hoover i Zhou, 2003). Amilopektin predstavlja mnogo veći molekul od amiloze sa prosečnom molekulskom težinom  $10^5$  i  $10^6$ , dok je prosečna težina amiloze  $10^4$ . Zbog ovoga amilopektin ima mnogo veću površinu po molekulu od amiloze, što ga čini pogodnijim substratom za amilolitički napad. Dokazano je da se sirovi skrob leguminoza sa visokim sadržajem amiloze sporije razara od kukuruznog skroba, i nivo hidrolize *in vitro* je manji kod skroba leguminoza u odnosu na skrob iz kukuruza kod testiranja na pacovima (Thorne i saradnici, 1983). Leguminoze sadrže duplo više proteina i antinutrijenata od cerealijskih, što utiče na digestiju skroba. Lanci glukoze u amiloznom skrobu su kompaktnije povezani jedni sa drugim vodoničnim vezama što ih čini manje dostupnim za amilolitički napad u odnosu na amilopektin koji ima mnogo razgranatih lanaca glukoze. Zbog svih navedenih razloga poreklo skroba u ugljeno hidratnoj hrani je važno zbog razmatranja glikemijskog odgovora posle unosa hrane u organizam. Viši amilozni sadržaj smanjuje razgradnju skroba zbog postojanja pozitivne korelacije između sadržaja amiloze i formacije rezistentnog skroba.

Važnu funkcionalnu ulogu u skrobu kao ne ugljohidratna komponenta ima fosfor (Singh i saradnici, 2008). Fosfor je prisutan kao fosfat monoestara i fosfolipida u različitim skrobovima. Fosfolipidi prisutni u skrobu imaju tendenciju da formiraju kompleks sa amilozom i dugačkim lancima amilopektina, što za rezultat ima ograničeno bubrenje.

#### 2.5.2.1. Prerada hrane i uticaj na digestiju skroba

Postoje različiti načini prerade sirovina u cilju dobijanja finalnog prehrambenog proizvoda sa određenim karakteristikama. Ovi procesi dovode do različitih promena u hemijskoj i fizičkoj strukturi hrane što na kraju dovodi i do različite razgradnje skroba. Literaturni podaci ukazuju na vezu različitih procesa proizvodnje hrane i njihovog efekta na digestiju skroba. Kada se molekuli skroba zagrevaju i to u vodi, dolazi do značajne promene kristalne strukture skroba i do vezivanja vode i bubrenja,

a sve to jer su eksponirane hidroksil grupe amiloze i amilopektina što izaziva rastvorljivost skroba i samo bubrenje. Dokazano je da tehnološka prerada sirovina dovodi do povećanog stepena hidrolize skroba sa vrednostima većim od 90% (na kraju inkubacije sa pankreatinom) za pšenicu, ječam i ovas (*Anguita, Gasa, Martin-Oru'e i Perez, 2006*).

Osnovni metod za povećanje prihvatljivosti skroba za delovanje  $\alpha$ -amilaze je kuvanje na 100 stepeni tokom nekoliko minuta. Kuvanje povećava nivo hidrolize skroba i stvara pogodnu sredinu za enzimski napad. Suprotno tome, digestija skroba i oslobađanje glukoze u krv su veoma spori nakon konzumiranja leguminoza (*Bravo i saradnici, 1998*).

Ekstrudiranjem se značajno povećava *in vitro* digestija skrobova (*Alonso i saradnici, 2000; Altan i saradnici, 2009*). Uobičajeni načini prerade hrane i njihov uticaj na digestiju skroba su poređeni sa procesom ekstruzije na primeru pasulja (*Alonso i saradnici, 2000*). Ekstruzijom se stvaraju uslovi za bržu digestiju skroba u odnosu na druge metode pripreme hrane.

Načini prerade kao što su napanje, potapanje i klijanje dovode do povećanja rastvorljivosti skroba zbog gubitka fitinske kiseline, tanina i polifenola koji inače inhibiraju aktivnost alfa amilaze i samim tim smanjuju, to jest, usporavaju njegovu digestiju. Smatra se da uklanjanjem tanina i fitinske kiseline nastaje veliki prostor u matriksu, koji povećava osetljivost prema enzimskim napadima i posledično povećava digestiju skroba (*Rehman i Shah, 2005*).

Tokom želatinizacije skroba, kristalna struktura iz amilopektina se dezintegriše i polisaharidni lanac zauzima nasumičnu konfiguraciju izazivajući bubrenje i rupturu granule (*Singh i saradnici, 2007*). Posle želatinizacije i hlađenja kvanog skroba, počinje da se odvija rekristalizacija skroba. Agregacija i kristalizacija amiloze u kvanom skrobu iz pasti se završava u roku od par sati nakon kuvanja, a agregacija i kristalizacija amilopektina se dešava nešto kasnije tokom skladištenja u frižiderskim temperaturama (*Singh i saradnici, 2006; 2008*). Linearni lanci amiloze unakrsno se povezuju vodoničnim vezama dok razgranati amilopektin počinje nešto kasnije sa rekristalizacijom. Na svojstva retrogradacije skroba takođe utiču strukturni rasporedi lanaca skroba u okviru amorfnih i kristalnih regiona granule koja nije želatinizirala, jer strukturni raspored utiče na nivo razgradnje granule u

toku želatiniziranja i takođe utiče na interakcije koje se odvijaju u skrobu tokom skladištenja (*Kaur i saradnici, 2007*). Formiranje rezistentnog skroba u kuvanim skrobovima koji su čuvani pod frižiderskim temperaturama zavisi od nivoa retrogradacije. Retrogradirana amiloza iz graška, pšenice i krompira je veoma otporna na enzimatske hidrolize. Dokazano je da skladištenje kuvanog pirinča pod temperaturama u frižideru može da vodi do smanjenja svarljivosti i da utiče na vrednosti glikemijskog indeksa (*Frei i saradnici, 2003; Hu i saradnici, 2004*).

Pored nekoliko faktora koji mogu da utiču na enzimsku razgradnju skroba i na glikemijski odgovor, određeni uticaj ima i viskozitet matriksa hrane. Fizička struktura hrane može da utiče na razgradnju skroba i absorpciju proizvoda hidrolize. *Ellis i saradnici (1995)* su proučavali uticaj dodavanja guar gume u različitim koncentracijama u hranu za prasad na glikemijski odgovor. Konzumiranjem hrane sa dodatkom guar gume utvrđeno je da se zbog povećanja viskoznosti digestivnog trakta smanjuje absorpcija glukoze u krvi. Ovo se dešava zbog uvećanja potpuno hidratisanih lanaca galaktomanana. Ceo fenomen smanjuje nivo digestije i absorpcije ugljenih hidrata i zbog toga smanjuje postprandialno povećanje nivoa glukoze u krvi. Prisustvo galaktomanana ometa reakcije bubrenja skroba i na taj način čine skrob nedostupnim za enzimatske reakcije (*Kaur i saradnici, 2008*).

*Brennan i saradnici (1996)* su proučavali dodavanje guar gume u beli hleb i analizirali su njegovu mikrostrukturu zajedno sa *in vitro* i *in vivo* digestijom. Utvrđeno je sporije otpuštanje glukoze u krv zbog fizičke barijere koja nastaje kao i zbog veće viskoznosti u gastrointestinalnom sistemu. *Chaisawang i Suphantharika (2005)* su pokazali da je ksantan inhibirao bubrenje i curenje amiloze iz skroba, dok guar guma nije imala ovakav uticaj. Jonske interakcije između skroba i guma imaju važan uticaj na viskozitet i viskozno elastične osobine. Jaka elektrostatička interakcija između katjonskog skroba i anjonske gume rezultuje momentalnom agregacijom granula, gde ne jonska guma formira film i obuhvata granulu skroba (*Chaisawang i Suphantharika, 2005*).

*Koh i saradnici (2009)* su proučavali dodavanje alginata i njegov efekat na *in vitro* digestiju pirinčanog testa i došli su do rezultata da se dodavanjem natrijum alginata smanjuje hidroliza. Alginati formiraju kontinuiranu mrežu tako što sa granulama



skroba formiraju koherentni gel koji se ponaša kao barijera kada enzimi pokušavaju da dopru do skroba.

#### 2.5.2.2. Proteini u hrani i uticaj na digestiju skroba

Prisustvo proteina u matriksu hrane može da utiče na nivo digestije skroba. Svarljivost skroba i proteina iz različitih žitarica umnogome zavisi od njihove međusobne reakcije. Funkcionalne karakteristike i rastvorljivost skroba pokazuju vezu i sa prisustvom male količine proteina u žitaricama ili drugoj hrani (*Ezeogu i saradnici*, 2008). Proteini kao što su albumini, globulini i glutenini potpomažu lepljenju proteina u matriksu i na taj način okružujući granule skroba imaju barijernu funkciju i omogućavaju manju razgradnju skroba (*Hamaker i Bugusu*, 2003). Kuvanje ili drugi načini pripreme hrane ponekad mogu da redukuju svarljivost skroba menjanjem konformacione strukture proteina što omogućava formiranje polimera povezanih disulfidnim vezama (*Oria i saradnici*, 1995). *Choi i saradnici* (2008) su objavili povećanje *in vitro* digestije skroba kada je dodat natrijum sulfid tokom kuvanja brašna od sirka. Redukujuća sredstva kao što su natrijum sulfid ili bisulfid mogu da ometaju formaciju enzimski rezistentnih disulfidnih biljnih polimera što omogućava lakši pristup amilolitičkih enzima.

#### 2.5.2.3. Lipidi u hrani i uticaj na digestiju skroba

Uticaj slobodnih masnih kiselina (laurinske, miristinske, palmitinske, stearinske i oleinske kiseline, lizolecitina i holesterola) na hidrolizu skroba, amiloze i amilopektina korišćenjem  $\alpha$ -amilaze i amiloglukozidaze su pokazali *Crowe i saradnici* (2000). Oko 60% amiloze je pretvoreno u glukozu u roku od 1 h, posle 6 h čak 90%. Dodavanje laurinske, miristinske, palmitinske i oleinske kiseline smanjuje enzimsku hidrolizu amiloze za čak 35%. Međutim ni stearinska kiselina a ni holesterol nisu doveli do inhibicije. Laurinska kiselina nije imala nikakvog efekta na enzimsko raspadanje amilopektina, dok je raspadanje ukupnog skroba inhibirano za 12% uz pomoć laurinske kiseline. Ovi eksperimenti ukazuju da je samo hidroliza amilozne frakcije (31% ukupnog skroba) imala vezu sa laurinskom kiselinom. Amiloza predstavlja helikoidnu konformaciju i može da formira inkluzione komplekse sa malim hidrofobnim molekulima. Kompleksi između masnih kiselina

kao što su laurinska kiselina i amiloza mogu brzo da se formiraju pod fiziološkim uslovima koji doprinose stvaranju rezistentnog skroba (*Seligman i saradnici, 1998*). Formiranje takvih kompleksa sa lipidima može da rezultira promenama u ponašanju skroba, uključujući smanjenu rastvorljivost, povećanu temperaturu želatinizacije i odloženu retrogradaciju i otpor ka degradaciji skroba od strane enzima. Amiloza može da veže jedan molekul laurinske kiseline na 20 glukoznih jedinica u glukoznom lancu, ali suprotno tome veoma malo laurinske kiseline se veže, pod istim uslovima, za amilopektin i druge razgranate glukane (*Crowe i saradnici, 2000*). Postoje takođe radovi koji pokazuju enzimatsku otpornost čistih amiloznih i lipidnih kompleksa (*Holm i saradnici, 1983; Gelders i saradnici, 2005*).

#### 2.5.2.4. Inhibitori $\alpha$ -amilaze, antinutrijenti i digestija skroba

Određeni oligosaharidi dobijeni iz mikroba mogu da proizvedu inhibitore koji mogu da inhibiraju aktivnost amilaze. Amilostatin i akarboza su dva inhibitora  $\alpha$ -amilaze koje proizvodi gljivica *Streptomyces* i bakterije iz familije *Actinoplanaceae* respektivno. Mnogi molekuli koji postoje u biljnim izvorima imaju mogućnost inhibicije  $\alpha$ -amilaze. Kliničke studije su pokazale da prirodni inhibitori izolovani iz belog pasulja značajno redukuju pik postprandialne glukoze kod zdravih i ispitanika sa dijabetesom tipa 2 (*Boivin i saradnici, 1988*). Takođe polifenoli iz zelenog čaja inhibiraju  $\alpha$ -amilazu ili umanjuju postprandialnu hiperglikemiju (*McDougall i saradnici, 2005; He i saradnici, 2006*).

Dijetalna vlakna se smatraju primarnim faktorom koji utiče na sporije oslobađanje glukoze u krv zbog visoke viskoznosti koja usporava absorpciju produkata u tankom crevu (*Jenkins i saradnici, 1980*). Visoke koncentracije antinutrijenata kao što su fitinska kiselina, lektini, enzimi i inhibitori u mahunarkama takođe igraju važnu ulogu u brzini otpuštanja glukoze u krvi (*Thorne i saradnici, 1983*).

Fitinska kiselina predstavlja najvažniju rezervu fosfata u mnogim biljkama. Može da formira komplekse sa proteinima, jonima metala i tako umanja njihovu bioprihvatljivost. Najefikasniji tretman za redukciju fitinske kiseline je klijanje u trajanju od 72 h. Ekstrudiranjem se takođe umanjuje procenat fitinske kiseline (*Rehman i Shah, 2005*).

### 3. CILJ RADA

Moderna nauka o hrani pokazala je da pojedini prehrambeni proizvodi i njihovi sastojci mogu da imaju povoljan uticaj na ljudsko zdravlje i da služe kao prevencija različitih tipova oboljenja obezbeđujući na taj način više od zadovoljenja osnovnih nutritivnih potreba i energetske vrednosti. Stvoren je koncept funkcionalne hrane koja kao takva može da obezbedi određene pozitivne aspekte na zdravlje ljudi kroz ishranu. Razvoj tehnologije hrane, a pre svega razvoj analitike hrane, pruža mogućnosti kreiranja i razvoja takvih proizvoda. Ogroman potencijal funkcionalne hrane će biti omogućen kroz njeno kreiranje za posebne grupe ljudi sa definisanim faktorima rizika oboljevanja od alergija, dijabetesa, gojaznosti i kardiovaskularnih bolesti.

Cilj ove doktorske disertacije je ispitivanje upotrebe prosa (*Panicum miliaceum* L.), bilo u formi celih naparenih zrna ili u formi brašna dobijenog od celog zrna da se kao izvor upotrebi za povećanje funkcionalnosti trajnog pekarskog proizvoda – dvopeka, koji je poznat po povoljnim osobinama kao što su laka svarljivost i dugi rok trajanja bez dodavanja hemijskih konzervanasa, što je omogućeno niskim sadržajem vlage.

Kako se hemijski sastav različitih varijeteta prosa razlikuje, prvi cilj ovog rada jeste detaljna analiza hemijskog sastava prosa (*Panicum miliaceum* L.) i utvrđivanje povoljnih karakteristika ove žitarice.

Sledeći cilj je razvoj tehnoloških postupaka proizvodnje dvopeka po standardnoj recepturi pri čemu je količina pšeničnog brašna procentualno umanjena u korist brašna od celog zrna prosa ili u korist zrna prosa za 10, 20 ili 30%. Cilj navedenih procentualnih zamena je utvrđivanje povoljne formulacije kod koje će biti dobijen proizvod sa optimalnim funkcionalnim učešćem prosa koje neće narušiti senzorni kvalitet proizvoda, kao i precizno definisanje tehnoloških faza izrade trajnih pekarskih proizvoda, dvopeka. Da bi ovaj cilj bio postignut izvršena su ispitivanja iz oblasti reologije, zatim teksture gotovog proizvoda kao i testa i gotovog proizvoda skenirajućom elektronskom mikroskopijom.

Naredni cilj ove disertacije jeste utvrđivanje funkcionalnih osobina dobijenih

proizvoda. Ovaj cilj biće ostvaren detaljnom hemijskom analizom proizvoda u smislu utvrđivanja relevantnih parametara koji ovom tipu proizvoda daju funkcionalnost, kao što su sadržaji: mineralnih materija, ukupnih polifenola, tokoferola i aminokiselina. Posebno izdvojen cilj je utvrđivanje antioksidativnog kapaciteta proizvoda. Zbog sve veće potrebe za obeležavanjem proizvoda namenjenih za ishranu osoba obolelih od dijabetesa poseban cilj ove disertacije jeste određivanje glikemijskog indeksa dvopeka primenom metode *in vitro* enzimske digestije.

Kako je dvopek multikomponentni sistem u kome funkcionalne osobine potencijalno određuju komponente koje ostvaruju međusobne interakcije, cilj ovog rada je i detaljno razmatranje uticaja mogućih interakcija između: polifenolnih jedinjenja i makromolekula (skroba i proteina), na dobijene podatke o antioksidativnoj aktivnosti, glikemijskom indeksu ali i na reološke i teksturne osobine.

U vezi sa proizvodnjom dvopeka, finalni cilj je iznalaženje najpovoljnije formulacije dvopeka koja obezbeđuje proizvod sa najboljim teksturnim i senzornim osobinama, prikazivanje i diskusija funkcionalnih osobina tog dvopeka. Krajnji cilj rada jeste primena standardnih, spektrofotometrijskih i hromatografskih tehnika, ali takođe i primena najnovijih metoda fizičko-hemijske analize (kao što je elektronska mikroskopija) koje omogućavaju nove uvide u osobine od interesa.

## 4. MATERIJALI I METODE

### 4.1. Materijali

U cilju istraživanja i u izradi dvopeka sa prosom korišćeno je pšenično brašna T - 400 kao i brašno od prosa. Brašno korišćeno u ovom radu (pšenično i ono od prosa) imalo je čestice dijametara manjih od 150  $\mu\text{m}$ ; kako bi se postigla što kvalitetnija međusobna homogenizacija. Za utvrđivanje veličine čestica korišćena su sita standardizovanih promera. Dobijanje obe vrste brašna je obezbeđeno u mlinovima kompanije Aleksandrija Fruška Gora, Čurug, Srbija.

Za dobijanje brašna od prosa korišćena je vrsta *Panicum miliaceum* L. koja je gajena u Rusiji. Brašno dobijeno mlevenjem prosa u laboratorijskom mlinu je svetlo žute boje. Takođe, korišćena su zrna prosa koja su prethodno potopljena u vodu na temperaturi od 50°C tokom 40 minuta i zatim korišćena u daljoj recepturi za izradu dvopeka.

U radu su dobijeni i detaljno okarakterisani gotovi proizvodi – dvopeci koji su označeni na sledeći način:

**Tabela 18:** Oznake uzoraka

Uzorak (gotov pekarski proizvod)	Oznaka
Kontrolni dvopek od pšeničnog brašna	D-0
Dvopek od pšeničnog brašna sa dodatkom 10% brašna od prosa	D-10-b
Dvopek od pšeničnog brašna sa dodatkom 20% brašna od prosa	D-20-b
Dvopek od pšeničnog brašna sa dodatkom 30% brašna od prosa	D-30-b
Dvopek od pšeničnog brašna sa dodatkom 10% zrna prosa	D-10-z
Dvopek od pšeničnog brašna sa dodatkom 20% zrna prosa	D-20-z
Dvopek od pšeničnog brašna sa dodatkom 30% zrna prosa	D-30-z

Za potrebe planiranih analiza, dvopeci su samleveni na laboratorijskom mlinu Brabender, brzine 665  $\text{min}^{-1}$  (50 Hz) / 820  $\text{min}^{-1}$  (60 Hz). Uzorci su prosejani, dobijeni su samleveni uzorci dvopeka sa česticama dijametara manjih od 9  $\mu\text{m}$ . U

samlevenim uzrocima dvopeka, kao i u brašnima, određena je vlaga gravimetrijski primenom referentne metode SRPS EN ISO 712 :2012 (detekcioni minimum 0.01%). Svi reagensi korišćeni u radu su bili odgovarajućeg kvaliteta: enzimi, žučne soli, Folin-Čikalteov reagens, Trolox, DPPH i ABTS reagensi su proizvodi Sigma Aldrich kompanije analitičke čistoće, alkoholi (etanol i metanol) su proizvodi kompanije J.T.Baker spektroskopske čistoće, dok su sve ostale primenjene hemikalije proizvodi kompanije Merck, analitičke čistoće.

## 4.2. Metode

### 4.2.1. Proizvodnja dvopeka

#### 4.2.1.1. Proizvodnja dvopeka od pšeničnog brašna

Pri izradi dvopeka od pšeničnog brašna pristupa se sledećim fazama:

1. Prva faza - prijem i odmeravanje sirovina neophodnih za izradu testa dvopeka. U ovu fazu ulaze sledeće sirovine: pšenično brašno T - 400, voda, biljna mast (palmina), svež kvasac i so.
2. Druga faza - izrada zamesa. Sirovine se sipaju u planetarni mikser proizvođača FIMAR i homogenizacija testa traje 15 minuta.
3. Treća faza - posle homogenizacije vrši se odvaga testa i oblikovanje na veknarici proizvođača SIMPLEX.

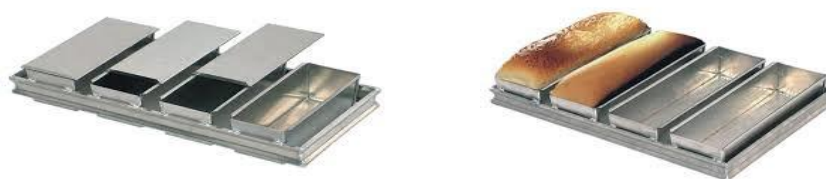


**Slika 20:** Planetarni mikser FIMAR



**Slika 21:** Veknarica proizvođača SIMPLEX

4. Četvrta faza - dobijene vekne testa se stavljaju u kalupe.



**Slika 22:** Kalupi za vekne

5. Peta faza - vekne testa smeštene u kalupe nose se u fermentacionu komoru gde se odvija proces fermentacije na temperaturi od 40°C u trajanju od 30-40 minuta.

6. Šesta faza - posle fermentacije kalupi se postavljaju u etažnu peć prema sledećem režimu: na 250°C u trajanju od 40-45 minuta.



**Slika 23:** Fermentaciona komora



**Slika 24:** Etažna peć

7. Sedma faza - posle pečenje sledi vađenje pečenog hleba i faza stabilizacije u trajanju od 8 h.

8. Osmo faza - predstavlja sečenje hleba na ujednačene kriške.

9. Deveta faza - smeštanje isečenih parčića hleba i stavljanje na plehove.

10. Deseta faza - sušenje kriški hleba u rotacionim pećima na 180 stepeni u trajanju od 35 minuta.



**Slika 25:** Rezalica za hleb



**Slika 26:** Rotaciona peć proizvođača MAC. PAN

11. Jedanaesta faza - hlađenje i stabilizacija u trajanju od 3 h pre pakovanja.

12. Dvanaesta faza - pakovanje se vrši prvo u PP foliju na horizontalnoj pakerici a zatim se proizvod postavlja u kartonske kutije.

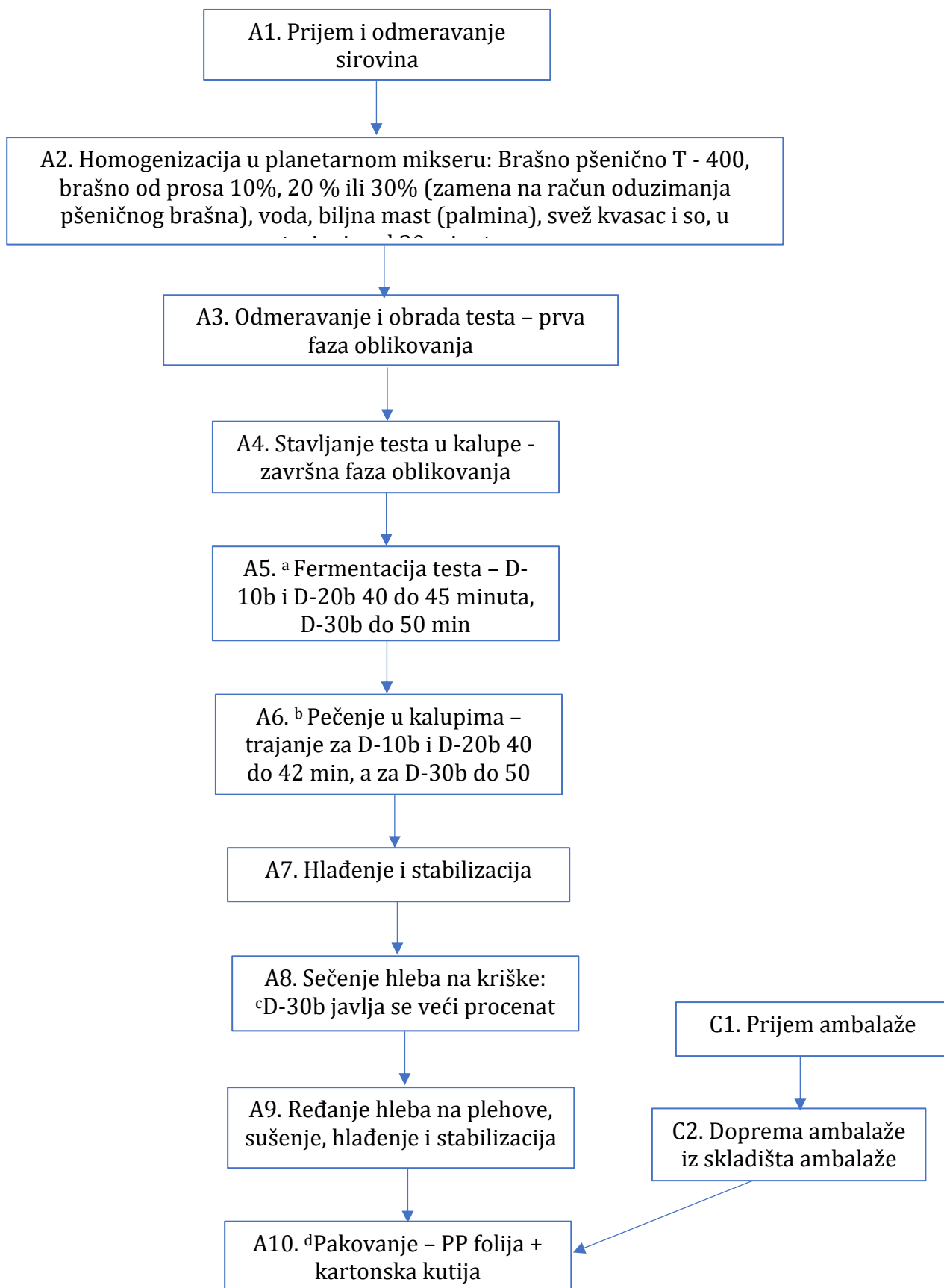


**Slika 27:** Horizontalna pakerica proizvođač GSP

4.2.1.2. Proizvodnja dvopeka sa dodatkom brašna od prosa

Proizvodnja dvopeka sa 10% (D-10b), 20% (D-20b) ili 30% (D-30b) brašna od prosa se odvija prema navedenoj šemi:





<sup>a</sup> Razlika u trajanju fermentacionog procesa u odnosu na kontrolni pšenični dvopek.

<sup>b</sup> Razlika u trajanju pečenja u odnosu na kontrolni pšenični dvopek.

<sup>c</sup> Razlika u procentu loma tokom sečenja hleba - proizvod sa zamenom od 30% u korist brašna od prosa pokazuje veću sklonost lomljenju kriški hleba tokom sečenja.

<sup>d</sup> Razlika tokom procesa pakovanja - prilikom pakovanja na horizontalnoj pakerici u foliju vidljiv je veći procenat loma parčića dvopeka, što znači da je struktura narušena, sa 30% brašna od prosa u odnosu na ostale vrste.

Postupak proizvodnje je identičan kao kod dvopeka samo od pšeničnog brašna sa sledećim izmenama:

- dodavanje brašna od prosa se vrši tako da se od ukupnog pšeničnog brašna koje ide u zames zameni 10%, 20% ili 30% brašnom od prosa;
- proces fermentacije je kod dvopeka sa 10% i 20% brašna od prosa trajao 5 minuta duže, dok je kod dvopeka sa 30% brašna od prosa trajao 10 minuta duže nego u slučaju običnog pšeničnog dvopeka kako bi oni postigli željeni volumen hleba;
- pečenje je ostalo nepromenjeno kod dvopeka sa 10% brašna od prosa, kod dvopeka sa 20% brašna od prosa trajalo je 7-10 minuta duže, a kod dvopeka sa 30% brašna od prosa trajalo je 12 minuta duže u odnosu na pšenični dvopek;
- prilikom sečenja dvopeka sa 30% brašna od prosa pojavio se veći procenat škarta (izlomljenih parčića dvopeka) što znači da je tekstura narušena i zbog toga brašno od prosa nije dodavano u većem procentu.

#### 4.2.1.3. Proizvodnja dvopeka sa dodatkom zrna prosa

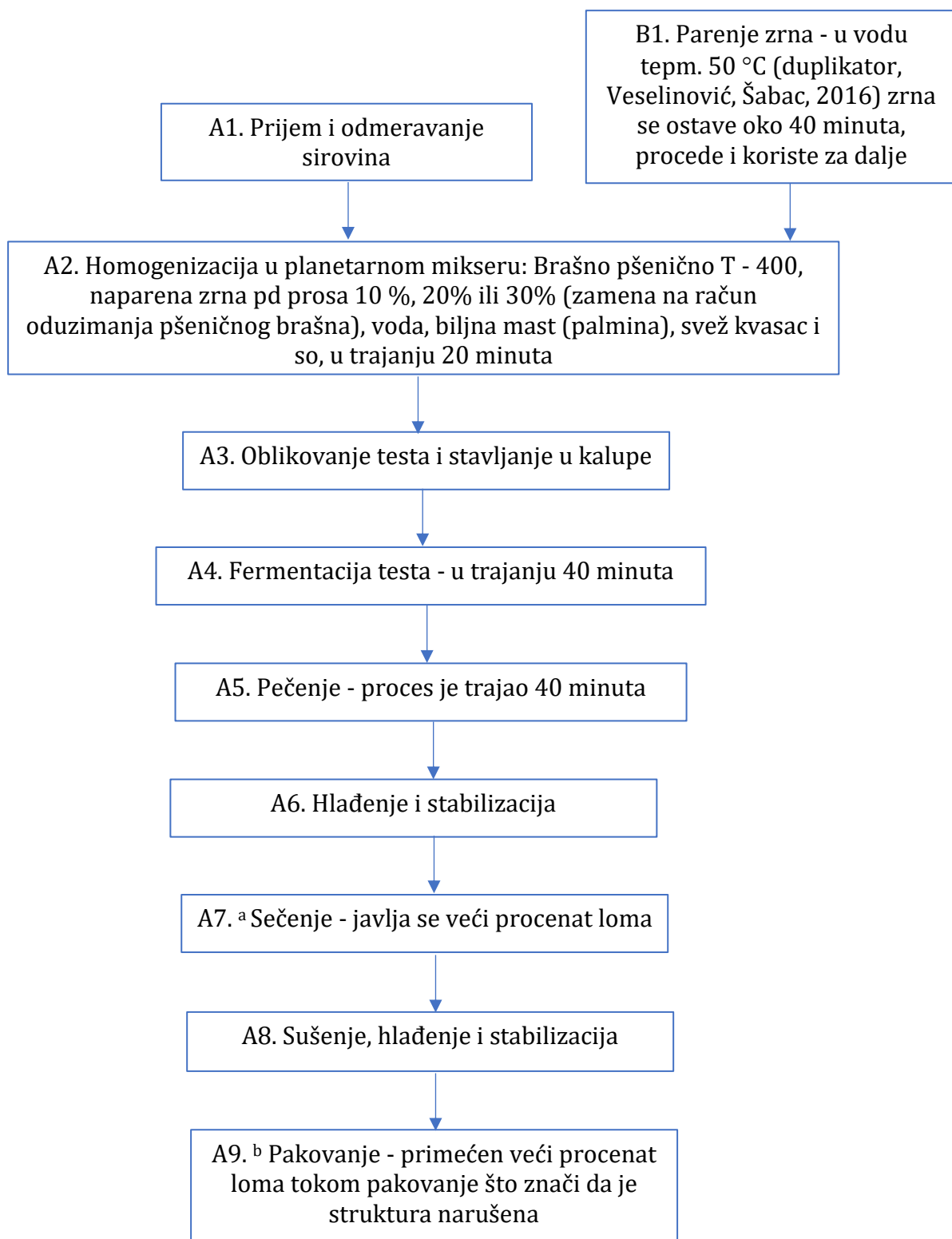
U fazi dodavanja sirovina deo od 10% (D-10-z), 20% (D-20-z) ili 30% (D-30-z) pšeničnog brašna je zamenjen prethodno naparenim zrnom prosa. Ostale faze su ostale nepromenjene, osim što se prilikom sečenja javlja otpadanje zrna prosa koja se nisu adekvatno inkorporirala u strukturu hleba.

Tokom izrade dvopeka sa dodatkom naparenog zrna prosa uočava se konstantna devijacija u vidu ispadanja zrna prosa u svim procentima dodatog zrna.

Pored ispadanja zrna prosa tokom sečenja, dolazi i do povećane lomljivosti samog proizvoda kod uzorka D-30-z tokom pakovanja, a i u toku samog skladištenja.

Ove činjenice ukazuju da je dvopek sa dodatkom naparenog zrna prosa teško prihvatljiv i upotrebljiv za redovnu proizvodnju i plasiranje na tržištu.

Šema proizvodnje dvopeka sa 10 %, 20% ili 30% naparenih zrna prosa:



<sup>a</sup> Kod tehnološkog procesa sečenja dolazi do razlike u odnosu na kontrolni pšenični dvopek u vidu ispadanja zrna prosa iz strukture dvopeka.

<sup>b</sup> Tokom procesa pakovanja uočena anomalija u vidu ponovnog ispadanja zrna prosa iz strukture samog dvopeka.

#### 4.2.2. Karakterizacija fizičkih osobina brašna, testa i gotovih proizvoda

4.2.2.1. Reološke karakteristike brašna i testa dobijenih od kombinacija navedenih procenata

4.2.2.1.1. Karakteristike testa

Za proučavanje reoloških karakteristika testa, korišćeni su Brabender farinograf i ekstanzograf (Duisburg, Nemačka) u skladu sa standardom ICC metoda (114/1, 115/1).

Termo-mehanička svojstva testa su ispitivana uz pomoć Mixolab uređaja (*Chopin Technologies*, Francuska, Slika 28) koji simultano snima viskozitet testa tokom procesa homogenizacije na konstantnoj temperaturi, kao i tokom perioda konstantnog zagrevanja do 90 °C, potom držeći temperaturu na 90°C i hladeći na 50°C. Merenja su rađena u skladu sa protokolom Mixolab "Chopin+".



Mixolab – uslovi rada:

- Težina testa: 75 g
- Temperatura rezervoara: 30°C
- Brzina mešanja: 80°/minut
- Trajanje mešenja: 8 minuta (30°C)
- Vreme zagrevanja: 15 minuta
- Održavanje na 90°C: 7 minuta
- Hladjenje na 50°C: 10 minuta
- Održavanje procesa na 50°C: 5 minuta

**Slika 28:** Mixolab, proizvođač *Chopin Technologies*, Francuska

4.2.2.1.2. Analiza teksture dvopeka

Analiza teksture dvopeka je rađena na uređaju Texture Analyzer (*Stable Micro Systems*, Surrey, Engleska) primenjujući tri tačke test krivljenja gde se primenjuje

sila pritiska na centar uzorka sondom dok ne dođe do pucanja. Što je udaljenost veća, lomljivost uzorka je manja.



Uslovi i podešavanje aparata tokom merenja:

Merna ćelija: 30 kg

Nastavak: 3-point bending ring

Način merenja: Kompresija

Brzina sonde za vreme merenja:  
5,00 mm/s

Udaljenost: 8 mm

Razmak između tačaka oslonca:  
36 mm

**Slika 29:** Uređaj za analizu teksture TA-TX plus (*Stable Micro Systems, Surrey, UK*)

Sila okidanja: 50 g

#### 4.2.2.2. Analiza fizičkih karakteristika brašna, testa i dvopeka upotrebom skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM)

Za analizu fizičke strukture brašna od prosa, pšeničnog brašna T - 400, testa i dvopeka korišćena je skenirajuća elektronska mikroskopija SEM (*Scanning Electron Microscopy* - SEM, JEOL JSM-6390 LV, Slika 30). Pre analize uzorci su prekriveni zlatom koristeći raspršivač Baltec scd 005 dodatak. Vreme raspršivanja je bilo 100 ms koristeći struju jačine 30 mA.



**Slika 30:** Skenirajući elektronski mikroskop - SEM - JEOL JSM-6390 LV

#### **4.2.3. Senzorna analitika dvopeka**

Ocena senzornih svojstava dvopeka izvršena je metodom bodovanja (ocene od 1 do 5) sledećih svojstava kvaliteta: oblik, broj poroznosti po Dalman- u, ravnomernost pora, finoća pora, miris, ukus, aroma, žvkljivost sredine. Senzornu ocenu je uradilo pet ocenjivača a rezultati su dati kao prosečne vrednosti.

#### **4.2.4. Hemijske osobine brašna i gotovih proizvoda**

##### **4.2.4.1. Sadržaj minerala i pepela u brašnjima i gotovim proizvodima**

Sadržaj gvožđa, cinka i bakra utvrđen je metodom IHM-03-AAS 01 koja je bazirana na SRPS EN 13805:2008 Prehrambeni proizvodi – Određivanje elemenata u tragovima i posle razaranja pod pritiskom. Sadržaj kalcijuma, kalijuma, natrijuma i magnezijuma utvrđen je metodom IHM-03-AAS 02 koja je bazirana na SRPS EN 13805:2008 i posle razaranja pod pritiskom.

Određivanje sadržaja pepela spaljivanjem vršeno je primenom referentne metode (gravimetrija, minimum detekcije 0,01%) SRPS EN ISO 2171:2012.

#### 4.2.4.2. Sadržaj dijetetskih vlakana i skroba u brašnima i gotovim proizvodima

Određivanje ukupnih sirovih vlakana izvršeno je gravimetrijski, primenom metode AOAC 985.29 (kombinovani enzimskikit "Megazim K-TDFR 12/05", minimum detekcije 0,1%). Određivanje sadržaja skroba vršeno je metodom po Ewersu polarimetrijski (ISO 10520). Sadržaj amiloze određen je spektrofotometrijski posle bojenja jodom, a sadržaj amilopektina kao razlika između sadržaja skroba i amiloze.

#### 4.2.4.3. Određivanje sadržaja ukupnih proteina i esencijalnih aminokiselina u gotovim proizvodima

Ukupni proteini određeni su prema Opštim uputstvima za određivanje azota, metodom po Kjeldhal-u (volumetrijski, minimum detekcije 0,1%) SRPS ISO 1871:2013, faktor preračunavanja 6,25.

Određivanje aminokiselinskog sastava je bazirano na standardnoj metodi SRPS EN ISO 13903:2011 Hrana za životinje – Određivanje sadržaja aminokiselina. Primenjena je jonska hromatografija sa elektrohemijским detektorom uz korišćenje srebrne referentne elektrode (Ag/AgCl) i zlatne radne electrode (Au). Jonski hromatograf sa elektrohemijским detektorom je model ICS 5000, proizvođača Thermo scientific, a hromatografska kolona je AminoPac PA10 (2x250mm) i predkolona AminoPac PA10 guard (2x50mm).

Priprema uzoraka vršena je tako što je odmeren homogenizovani uzorak (~50mg, odmereno na mikroanalitičkoj vagi) i prenet u reakcioni sud za hidrolizu. Automatskom pipetom je dodato 300µl 6M HCl. Reakcioni sud je zatvoren čepom tako da ostane mali prorez kroz koji je izvučen vazduh pomoću plastičnog šprica, a koji je nakon toga zatvoren do kraja. Reakcioni sud sa uzorkom je ostavljen u temperiranom termobloku 24h na 110°C. Posle završene hidrolize reakcioni sud je ohlađen do sobne temperature i hidrolizat kvantitativno prenet ultra čistom vodom u normalni sud od 25ml, koji je zatim dopunjen do crte. Tako pripremljen uzorak je profiltriran kroz RC membranski filter poroznosti 0,2µm u staklenu vialu i postavljen u autosempler jonskog hromatografa. Na ovaj način određen je zbir slobodnih aminokiselina i aminokiselina dobijenih hidrolizom proteina.

#### 4.2.4.4. Određivanje sadržaja $\alpha$ -tokoferola u gotovim proizvodima

Određivanje vitamina E ( $\alpha$ -tokoferola) rađeno je po standardnoj metodi SRPS EN 12822:2014 (Prehrambeni proizvodi – Određivanje vitamina E, korišćenjem tečnog hromatografa visoke performace (HPLC) sa PDA detektorom, proizvođača Thermo, i kolonom Hibar 250-4, LiChrosorb Si 60 (5  $\mu$ m). Određivanje sadržaja vitamina je vršeno nakon saponifikacije iz uzorka i ekstrakcije odgovarajućim rastvaračima (n-heksan), poređenjem retencionih vremena i UV spektara standardne supstance vitamina E ( $\alpha$ -tokoferola) i vitamina E iz uzorka. Određivanje je vršeno na talasnoj dužini od 292 nm. Uzorak je pripreman tako što je odmereno 5,00 g homogenizovanog uzorka, on je saponifikovan dodatkom metanola, askorbinske kiseline i kalijum-hidroksida, zagrevan uz refluks, a zatim ekstrahovan 4 puta n-heksanom. Sakupljene su heksanske frakcije, uparene do suva i potom izvršena rekonstitucija n-heksanom. Tako pripremljen uzorak je propušten kroz membranski filter od 0,45  $\mu$ m, i potom analiziran. Formiranje kalibracione krive je vršeno injektovanjem standardnih rastvora vitamina E u opsegu od 1 do 10  $\mu$ g/ml, u zapremini od 30  $\mu$ l, u pet tačaka. Uzorci su takođe injektovani u istoj zapremini.

#### 4.2.4.5. Određivanje sadržaja bioaktivnih komponenti i antioksidativne aktivnosti

##### 4.2.4.5.1. Ekstrakcija organskim rastvaračima

Ekstrakcija polifenola vršena je primenom različitih smeša etanola i vode, prema podacima nađenim u literaturi. Korišćene su smeše etanol (80%) – voda (20%) (Sedej, 2011), etanol (70%) – voda (30%) (Bruijn i saradnici, 2009), i etanol (70%) – voda (29,5%) – mravlja kiselina (0,5%) (Heimler i saradnici, 2010). Da bi bilo utvrđeno odgovarajuće trajanje ekstrakcije, najpre je vršena ekstrakcija samo iz uzorka kontrolnog dvopeka od pšeničnog brašna, D-0. U svim eksperimentima, 6 grama samlevenog uzorka dodato je u 25 ml ekstrakcione smeše; ovaj odnos čvrste i tečne faze u smesi za ekstrakciju je izabran na osnovu rada Heimler-a i saradnika (2010). U slučaju uzorka D-0, ekstrakcija je vršena 3, 6, 10, 16 i 24 sati 25°C. Kao pogodna dužina trajanja ekstrakcije iz ostalih uzoraka izabrano je 16 sati uz konstantno mešanje na magnetnoj mešalici, pri čemu je sadržaj ukupnih rastvornih polifenola u tečnoj fazi uzet za kriterijum efikasnosti ekstrakcije. Nakon toga, smeša



je centrifugirana 30 minuta (Mini centrifuga Minispin Eppendorf, broj rotacija 13400 po minuti) u cilju dobijanja čistih rastvora koji su potom do narednih eksperimenata čuvani na  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Utvrđeno je da je najefikasniji medijum za ekstrakciju smeša etanola, vode i mravlje kiseline. Da bi rezultati dobijeni iz ekstrakata nastalih *in vitro* digestijom bili uporedivi sa podacima dobijenim ekstrakcijom sa smešom etanol (70%) – voda (29,5%) – mravlja kiselina (0,5%), ekstrakcija ovom smešom je vršena i pod uslovima identičnim u *in vitro* digestiji (tokom 5 h, na  $37^{\circ}\text{C}$ , pri odnosu čvrste i tečne faze (g/ml) 1:40).

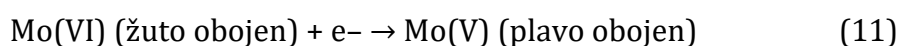
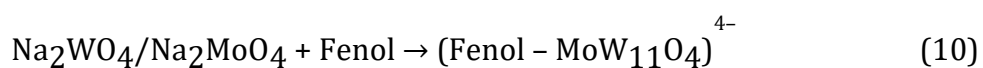
#### 4.2.4.5.2. *In vitro* digestija

U eksperimentima *in vitro* digestije dvopecu su tretirani na  $37^{\circ}\text{C}$ , u orbitalnom šejkeru pri broju rotacija 120 po minuti, sledeći proceduru opisanu u literaturi, a koja imitira uslove u humanom gastrointestinalnom traktu (*Chandrasekara i Shahidi, 2012*). Ukratko,  $\sim 1$  g uzorka odmereno je na analitičkoj vagi, stavljeno u erlenmajer sa šlifovanim grlom od 200 mL i posle dodavanja 15 mL destilovane vode i 10 mL 0,85% NaCl (g/L) mešano 10 minuta; posle čega je dodat 1 mL svinjske  $\alpha$ -amilaze (50 jedinica/mL, EC 232-565-6; rastvoreno u 20 mM natrijum fosfatnog pufera pH=6,9, a koji sadrži 1 mM  $\text{CaCl}_2$ ). Posle 5 minuta dodata je količina 0,15 M HCl koja je potrebna da se dobije pH < 2,5; a zatim je dodat svinjski pepsin (1 mL of 20 mg/mL, EC 232-629-3, rastvor u 20 mM HCl). Potom je smeša držana 2 sata pod istim uslovima. Ova faza odgovara gastričnim humanim uslovima. Na kraju ovog perioda dodate su žučne soli (4mL rastvora koji sadrži 150 mg/mL, rastvor u 0,15 M  $\text{NaHCO}_3$ ), 4 mL svinjskog pankreatina (18,75 mg/mL, EC 232-468-9 rastvor u 0,15 M  $\text{NaHCO}_3$ ) i 1 mL svinjskog mucina (75 mg/mL, EC 282-010-7, rastvor u destilovanoj vodi) potom je smeša mešana pod istim uslovima (na  $37^{\circ}\text{C}$ , u orbitalnom šejkeru pri broju rotacija 120 po minuti) tokom naredna 3 h. Dobijeni supernatanti su centrifugirani pri broju rotacija 11000 po minuti tokom 30 minuta i odmah zamrznuti na  $-20^{\circ}\text{C}$ , tokom najmanje 48 h pre nego što su rađene analize na ukupne polifenole i antiradikalnu aktivnost.

## 4.2.4.5.3. Određivanje sadržaja ukupnih polifenola

Sadržaj ukupnih polifenola (TPC) utvrđen je u uzorcima dobijenim posle ekstrakcije organskim rastvaračima kao i posle *in vitro* digestije. Za kvantitativno određivanje ovih vrednosti primenjena je kolorimetrijska metoda *Singleton-a i saradnika*, (1999) korišćenjem Folin-Čikalteovog (Folin-Ciocalteu) reagensa.

Rastvor Folin-Čikalte (FC) sadrži smešu fosfovolframove i fosfomolibdenske kiseline. Ovaj reagens oksidiše fenolna jedinjenja, a sam se redukuje u smešu volfram-oksida i molibden-oksida u alkalnoj sredini. Nastali fenoksidni anjon redukuje FC reagens iz žute boje do plavo obojenog jona (fenol – MoW<sub>11</sub>O<sub>4</sub>)<sup>4-</sup>.



Količina nastalog kompleksa je u korelaciji sa apsorbancijom rastvora na 765 nm. Ovde je korišćena modifikovana procedura predložena od strane *Cicco i saradnik*, (2009). Alikvoti of 100 µL prethodno odmrznutog uzorka mešani su sa 100 µL FC reagensa i 200 µL destilovane vode i promešani; smeše su potom stavljene na tamno mesto. Posle 2 minuta dodato je 1600 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5 % rastvor u vodi) da bi se stvorili alkalni uslovi (pH ~10) koji omogućavaju redoks reakciju između fenolnih jedinjenja i FC reagensa. Posle držanja reakcione smeše tokom 20 minuta na sobnoj temperaturi u mraku, apsorbanca rastvora je čitana na 765 nm u odnosu na slepu probu u kojoj je standardni rastvor ili uzorak zamenjen vodom. Standardna prava konstruisana je primenom galne kiseline kao standard, u koncentracijama: 0, 0,25, 0,50, 0,75 ili 1 mg/mL galne kiseline. Sadržaj ukupnih polifenola izražen je u ekvivalentima galne kiseline (GAE, mg GAE/100 g).

## 4.2.4.5.4 Utvrđivanje antioksidativne aktivnosti

Antioksidativni kapacitet svih uzoraka (ekstrakata dobijenih primenom organskih rastvarača, kao i supernatanta dobijenih posle *in vitro* digestije procenjen je primenom DPPH testa. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) je stabilni slobodni radikal koji se koristi za ispitivanje reakcija u kojima učestvuju slobodni radikali. Kao posledica prijema vodonika od donora, njegov rastvor menja karakterističnu tamno ljubičastu boju ( $\lambda_{\text{max}}$  515–517 nm) i postaje bledo žut. Postupak je sledio

protokol propisan od strane *Sanchez Moreno i saradnika*, (1998): 130  $\mu\text{L}$  uzorka pomešano je sa 1870  $\mu\text{L}$  rastvora DPPH u metanolu, apsorbancija je merena na 516 nm pošto su uzorci držani u mraku tokom 30 minuta na sobnoj temperaturi. Antioksidativna (antiradikalska) aktivnost je izražavana u ekvivalentima referentnog standardnog jedinjenja (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilthroman-2-karboksilna kiselina - Trolox), u  $\mu\text{mol/g}$  Trolox ekvivalenata.

Kod ABTS testa, nastanak radikalskog katjona od [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina)] daje mogućnost da se meri ukupna antioksidativna aktivnost rastvora. Izvorna ABTS metoda je bila zasnovana na aktivaciji metmioglobina vodonik peroksidom u prisustvu ABTS reagensa da bi tako bio proizveden radikalski katjon, u prisustvu ili odsustvu antioksidanata. Modifikovani pristup, koji je ovde primenjen, podrazumeva nastanak  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  radikala preko nastanka plavo-zelene hromofore koja nastaje u reakciji ABTS-a i kalijum persulfata. Sledeći proceduru preporučenu od strane *Re i saradnika* (1999) najpre je napravljen rastvor  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  radikala mešanjem 176  $\mu\text{l}$  140 mM rastvora  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  i 10 ml 7 mM rastvora ABTS-a. Posle vorteksiranja ovaj rastvor drži se u mraku na  $4^\circ\text{C}$  16h, potom se razblži metanolom tako da se dobije vrednost apsorbanije  $A = 0,7$  na  $\lambda = 734$  nm. Potom se u 10  $\mu\text{l}$  uzorka dodaje 990  $\mu\text{l}$  rastvora ABTS-a. Posle stajanja na sobnoj temperaturi, meri se absorbanca na  $\lambda = 734$  nm nakon 5, 10, 15, 20 min dok se ne dobiju dve sukcesivne vrednosti koje se poklapaju. U ovom radu to je bilo 15 minuta. Standardna prava dobija se primenom rastvora Trolox-a u metanolu (1  $\mu\text{M}$ , 5  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ , 20  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ ) očitavanja se vrše nakon 15 minuta (kao i prethodno, meša se 10  $\mu\text{l}$  Trolox-a sa 990  $\mu\text{l}$  rastvora ABTS-a). Antioksidativna aktivnost je izražavana u  $\mu\text{mol/g}$  Trolox ekvivalenata.

#### 4.2.4.6. Određivanje glikemijskog indeksa

Supernatanti dobijeni u procesu *in vitro* enzimske digestije (poglavlje 4.2.3.5.2) centrifugirani su na 14000 obrtaja po minuti tokom 10 minuta i korišćeni za određivanje glukoze. Određeni su procenti ukupnog hidrolizovanog skroba (TS) u različitim vremenima (20, 40, 60, 90, 120 i 150 minuta).

Ukupni skrob određen je nakon disperzije odgovarajuće količine uzorka (dvopeka) u 2M KOH i mešanja tokom 30 minuta na sobnoj temperaturi. U uzorak je potom

dodavan natrijum-acetatni pufer (pH = 4,75), uzorak je potom tretiran odgovarajućom količinom amiloglukozidaze (*Goni i saradnici*, 1997) tokom 45 minuta na 60°C u orbitalnom šejkeru.

U svim merenjima skrob je meren kao glukoza, koristeći analizu glukozo oksidaze (GOD-PAP reagens). Pretvaranje faktora iz glukoze u skrob je 0,9. Indeks hidrolize skroba (HI) izračunat je kao odnos između površine ispod krive hidrolize (AUC) za dvopek i AUC za beli hleb, pa se izražava kao procenat. GI je izračunat korišćenjem jednačine:  $GI = 0,862 + HI + 8,198$  (*Ferrer-Mairal i saradnici*, 2012).

#### 4.2.5. Statistička analiza

U ovom radu, sva eksperimentalna merenja rađena su u 3 ponavljanja.

Za upoređivanje statističke značajnosti razlike srednjih vrednosti svih sedamnaest amino kiselina korišćena je jednofaktorska multivarijaciona analiza varijanse (MANOVA). Ovaj model se može formulisati na sledeći način:

$$\mathbf{X}_{ik} = \boldsymbol{\mu} + \boldsymbol{\alpha}_k + \boldsymbol{\varepsilon}_{ik}, \quad i = 1, 2, \dots, n_i; \quad k = 1, 2, 3, 4. \quad (12)$$

gde je  $\mathbf{X}_{ik}$ -ta opservacija iz  $k$ -tog tretmana,  $\boldsymbol{\mu}$  je vektor opštih proseka,  $\boldsymbol{\alpha}_k$  je efekat  $k$ -tog tretmana, a  $\boldsymbol{\varepsilon}_{ik}$  su međusobno nezavisne slučajne greške sa multivarijacionom normalnom raspodelom.

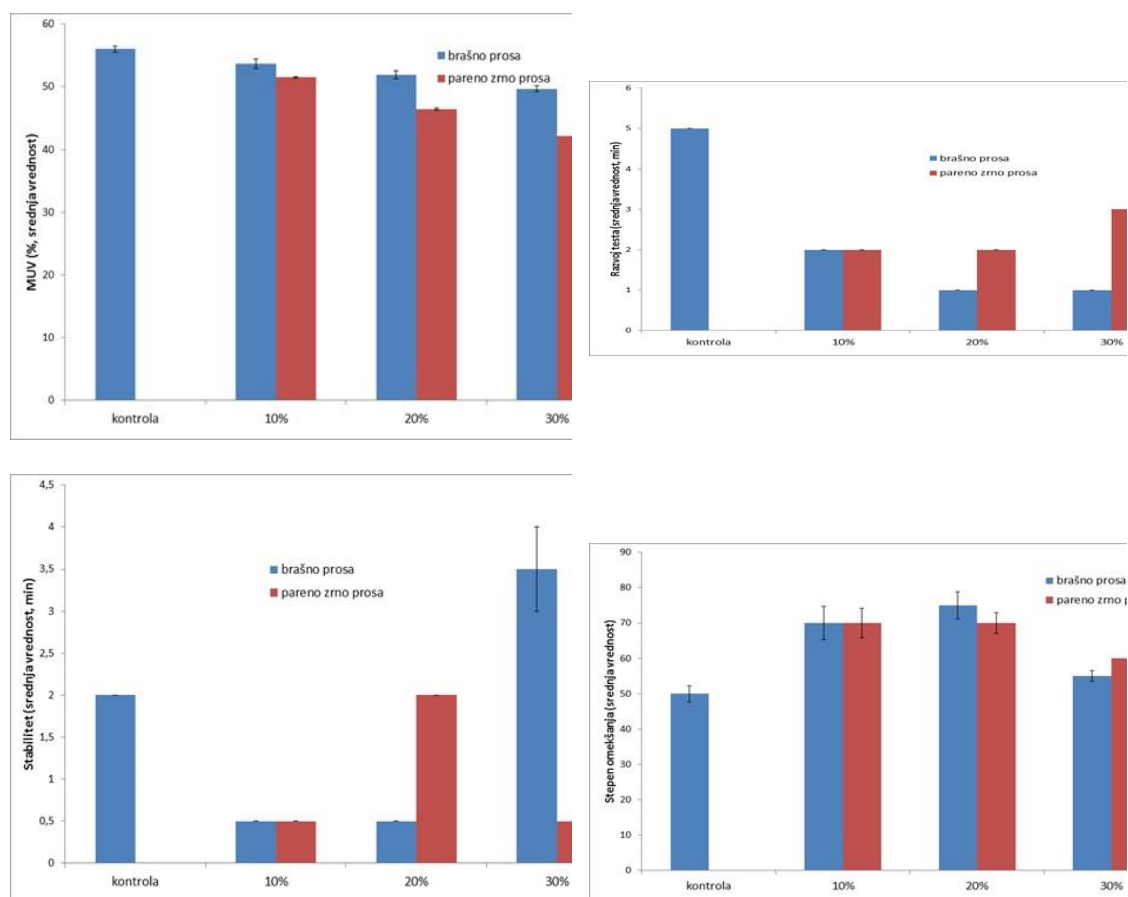
Preliminarnim ispitivanjima su proverene pretpostavke o netipičnim multivarijacionim tačkama, homogenosti kovarijacionih matrica, multikolinearnosti i nije primećeno narušavanje istih. Jednofaktorska MANOVA je pokazala prisustvo statistički značajnih razlika sledećih amino kiselina između pojedinih tretmana: arginina, alanina, treonina, serina, izoleucina, leucina, metionina, histidina, glutamata i tirozina. Za detaljnije analiziranje ovih razlika korišćene su jednofaktorska ANOVA i Dankanov test. U svim testiranjima korišćen je prag značajnosti od 5%.

Podaci o ukupnim polifenolima i antioksidativnoj aktivnosti analizirani su pomoću softvera KSLSTAT 2014. Dobijeni rezultati su dati kao srednje vrednosti  $\pm$  SD (standardna devijacija) i dalje podvrgnuti jednosmernoj analizi varijacija (ANOVA) kako bi se odredile razlike između višestrukih sredstava u kontinualnim varijablama. Post hoc analiza za utvrđivanje dodatnih uticaja izvršena je pomoću Tukey testa. Statistička značajnost izračunata je na nivou značaja  $p < 0.05$ .

## 5. REZULTATI I DISKUSIJA

### 5.1. Reološke karakteristike brašna

Rezultati farinografskih merenja (moć upijanja vode, razvoj testa, stabilitet i stepen omekšanja testa pokazani su na Slici 31).



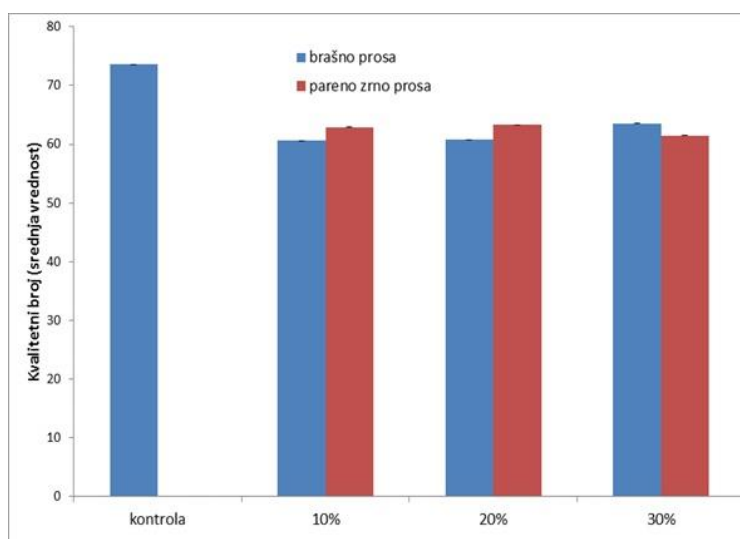
**Slika 31:** Rezultati dobijeni farinografskim merenjima za brašno koje se koristilo za dobijanje dvopeke: kontrolni, i dvopeke u kojima je procenat pšeničnog brašna zamenjen brašnom ili zrnom prosa. Gore levo: moć upijanja vode, gore desno – razvoj testa, dole levo – stabilitet testa i dole desno – stepen omekšanja testa.

Farinografska merenja su pokazala smanjenje absorpcije vode sa dodavanjem brašna ili zrna prosa. Kod dodatka brašna od prosa, absorpcija vode je umanjena za 4.1-11.2% dok se kod naparenih celih zrna prosa absorpcija vode smanjuje od 8-18%. Stabilitet testa takođe pokazuje smanjenje, a stepen omekšanja testa za kontrolni uzorak pokazuje vrednost od 50 B.U. Dodavanjem brašna od prosa i

naparenog zrna prosa u intervalu od 10-20% je izazvalo 40-50% porasta u omekšanju testa ali u nivou od 30%, vrednosti su slične kao kod kontrolnog uzorka. Na osnovu ovih rezultata i klasifikovanja prema kvalitetnom broju, dodeljen je kvalitetni broj svim uzorcima dvopeka. Najvišu ocenu ima kontrolni uzorak od pšeničnog brašna (A2) dok svi ostali uzorci pripadaju takođe prihvatljivoj B1 klasi. Ovo smanjenje kvalitetnog broja objašnjava se nedostatkom glutena u prosu što utiče na reološke karakteristike testa. Tabela 19 pokazuje vrednosti kvalitetnog broja vza sve uzorke brašna i smeša brašna sa prosom za proizvodnju dvopeka.

**Tabela 19:** Rezultati i klasifikacija uzoraka prema kvalitetnom broju

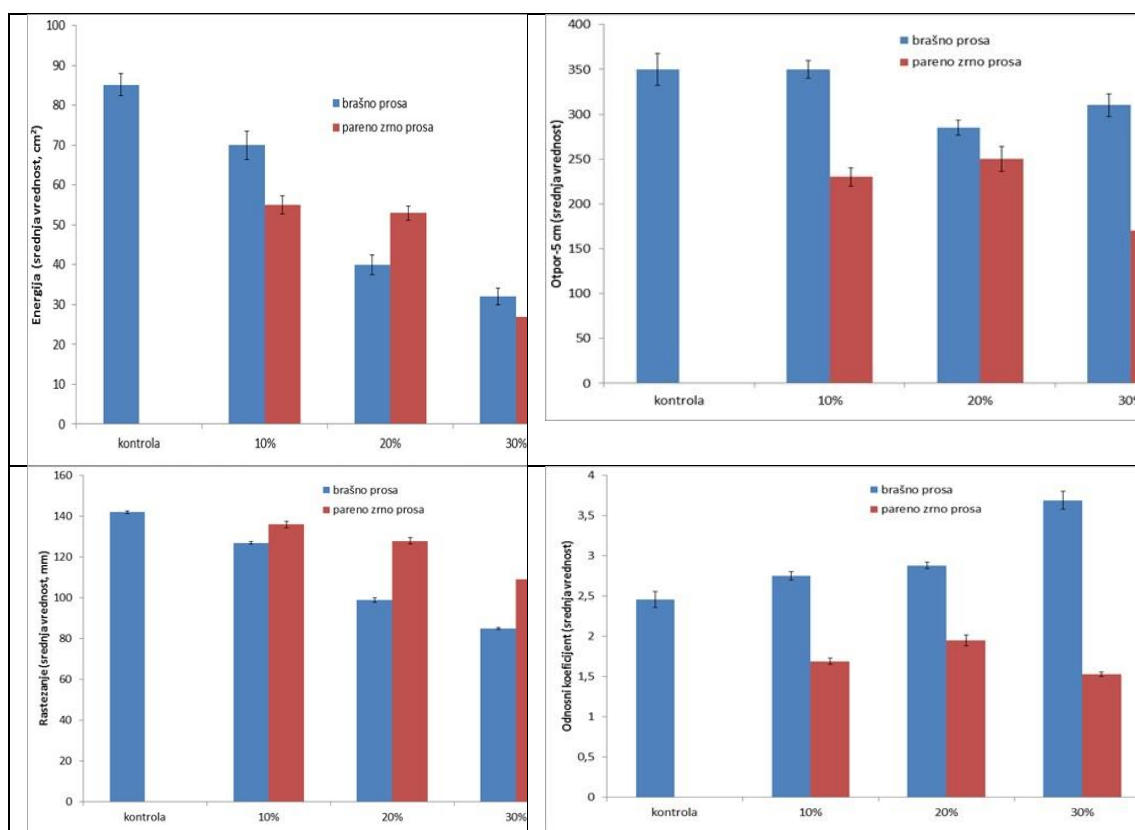
UZORAK	ŠIFRA UZORKA	KVALITETNI BROJ (KLASA)
Kontrolni	D-0	73,6 (A2)
10% brašna prosa	D-10-b	60,6 (B1)
20% brašna prosa	D-20-b	60,8 (B1)
30% brašna prosa	D-30-b	63,5 (B1)
10% parenog zrna prosa	D-10-z	62,9 (B1)
20% parenog zrna prosa	D-20-z	63,3 (B1)
30% parenog zrna prosa	D-30-z	61,5 (B1)



**Slika 32:** Vrednosti kvalitetnog broja za uzorke brašna i smeša sa prosom

Ekstenzogramski parametri opisuju viskoelastično ponašanje testa. Može se reći da je dodavanje brašna od prosa ili zrna prosa izazvalo smanjenje u jačini testa, što se uočava preko smanjenja vrednosti parametara ekstenzograma (energija, otpor, rastezanje). Međutim, naparena zrna prosa su pokazala da imaju manje određujući

efekat na rastezanje testa što je dovelo do boljih vrednosti otpora na nivo rastezanja. Prema Đakoviću (1997), otpor na nivo rastezanja oko 1,8 je neophodan za optimalan prinos volumena. Sa druge strane, brašno prosa pokazuje veći efekat na smanjenje rastezanje testa. Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima koje su dobili *Shimray i saradnici* (2012) i *Saha i saradnici* (2011). Pored razređenog glutena, uopšteno slabljenje strukture testa koje pokazuju parametri farinografa i ekstenzografa, mogu da potiču i od interakcije polisaharida iz prosa sa pšeničnim proteinima kao što su objasnili *Jones i Erlander* (1967). Podaci dobijeni ekstenzografom prikazani su na Slici 33.

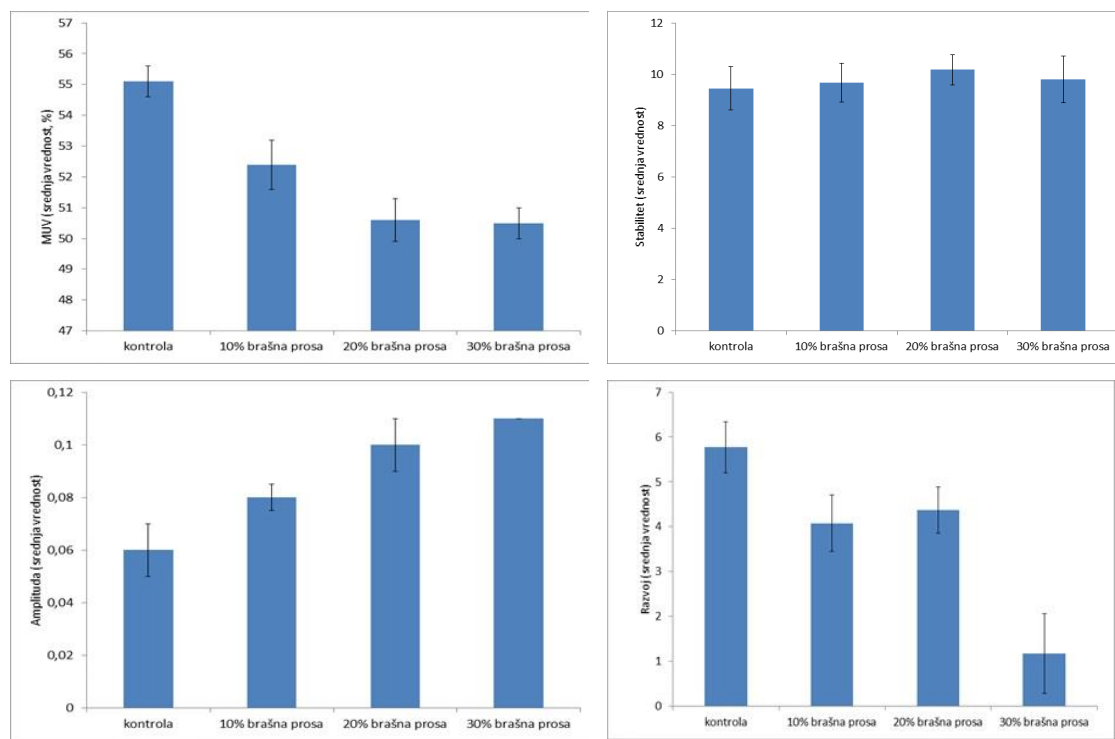


**Slika 33:** Ekstenzografski pokazatelji kontrolnog brašna i smeša sa prosom za proizvodnju dvopeka. Gore levo: energija, gore desno – otpor, dole levo – rastezanje i dole desno – odnosni koeficijent, srednja vrednost.

### 5.1.1. Termomehaničke karakteristike testa sa dodatkom brašna od prosa – Mixolab

Absorpcija vode i termomehaničke karakteristike testa su određene korišćenjem Mixolab-a. Dobijeni rezultati prikazani su na slikama 34 – 38. Ove vrednosti su izmenjene suplementacijom sa rastućim dozama prosa posledično zbog više faktora.

Jedan od faktora je razblaživanje glutena, što se i očekivalo jer je proso žitarica koja prirodno ne sadrži gluten. Drugi faktor je uticaj i interakcije sa polisaharidima iz prosa koji su specifične strukture.

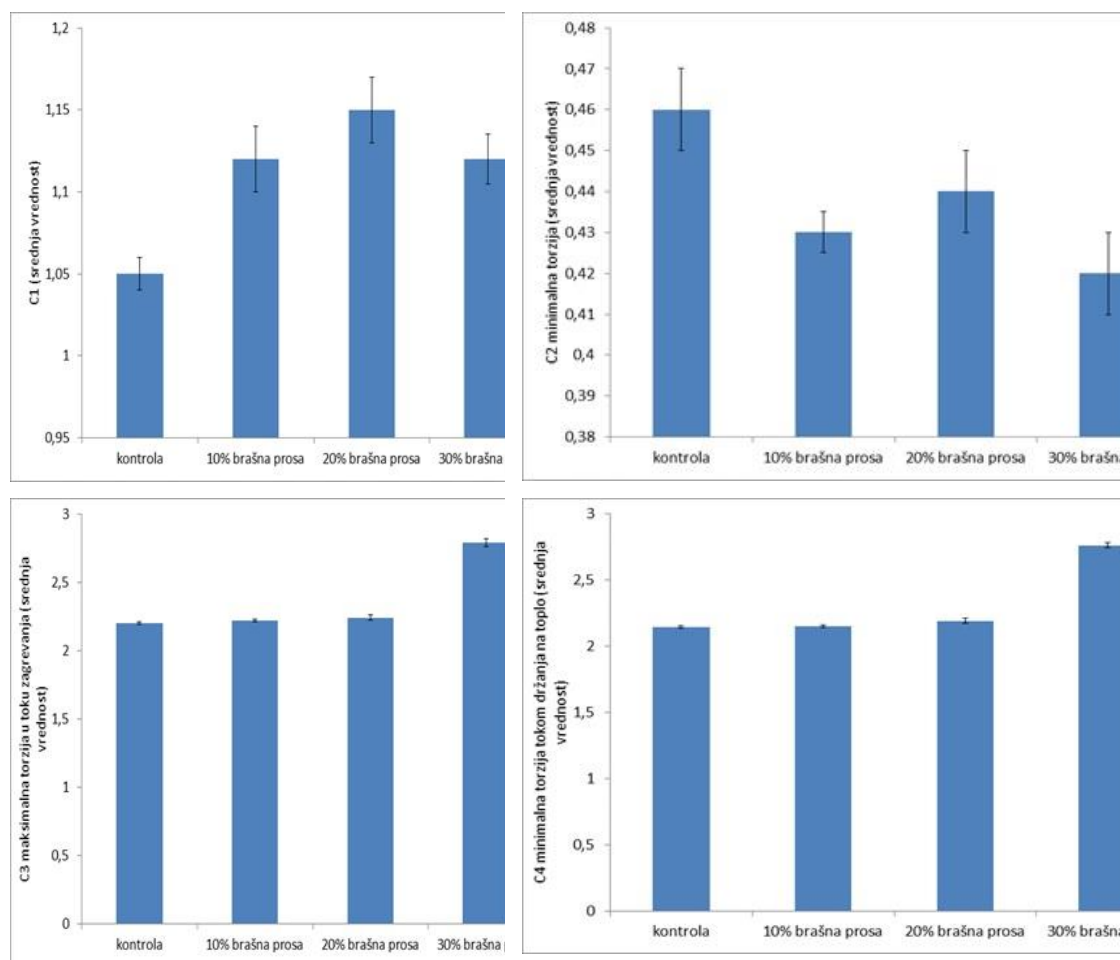


**Slika 34:** Mixolab parametri za kontrolno brašno i smeša sa prosenim brašnom za proizvodnju dvopeka. Gore levo: moć upijanja vode, gore desno – stabilitet, dole levo – amplituda i dole desno – razvoj, srednja vrednost.

Absorpcija vode se smanjuje što je saglasno sa farinografskim merenjima. Suprotno merenjima farinografa na stabilnost testa, ispitivanja Mixolab-om pokazuju dosledan trend rasta. Amplituda raste što znači da je elastičnost testa povećana (slika 34). Dodavanje prosa je redukovalo vrednosti C2 i C1-C2 koje ukazuju na slabljenje proteinske mreže tokom zagrevanja što je posledica razblaživanja gluten (slike 35 i 36). Međutim, gore navedeno povećanje stabilnosti testa nije posledica prisustva proteina već potiče od skrobnih komponenti testa. Ovo je u skladu sa povećanjem sadržaja amilopektina sa povećanjem sadržaja prosa (videti deo 5.3). Uzorci testa u kojima je povećana doza prosa su pokazali povećan viskozitet tokom zagrevanja i zadržavanja na istoj temperaturi. Testo koje sadrži proso je pokazalo veće vrednosti maksimalne i minimalne torzije (C3 i C4 vrednost, slika 35) u poređenju sa pšeničnim testom. Stabilnost kuvanja (C4/C3, slika 37) je bila nešto veća na suplementacionom nivou od 30%. Ovo se verovatno može pripisati



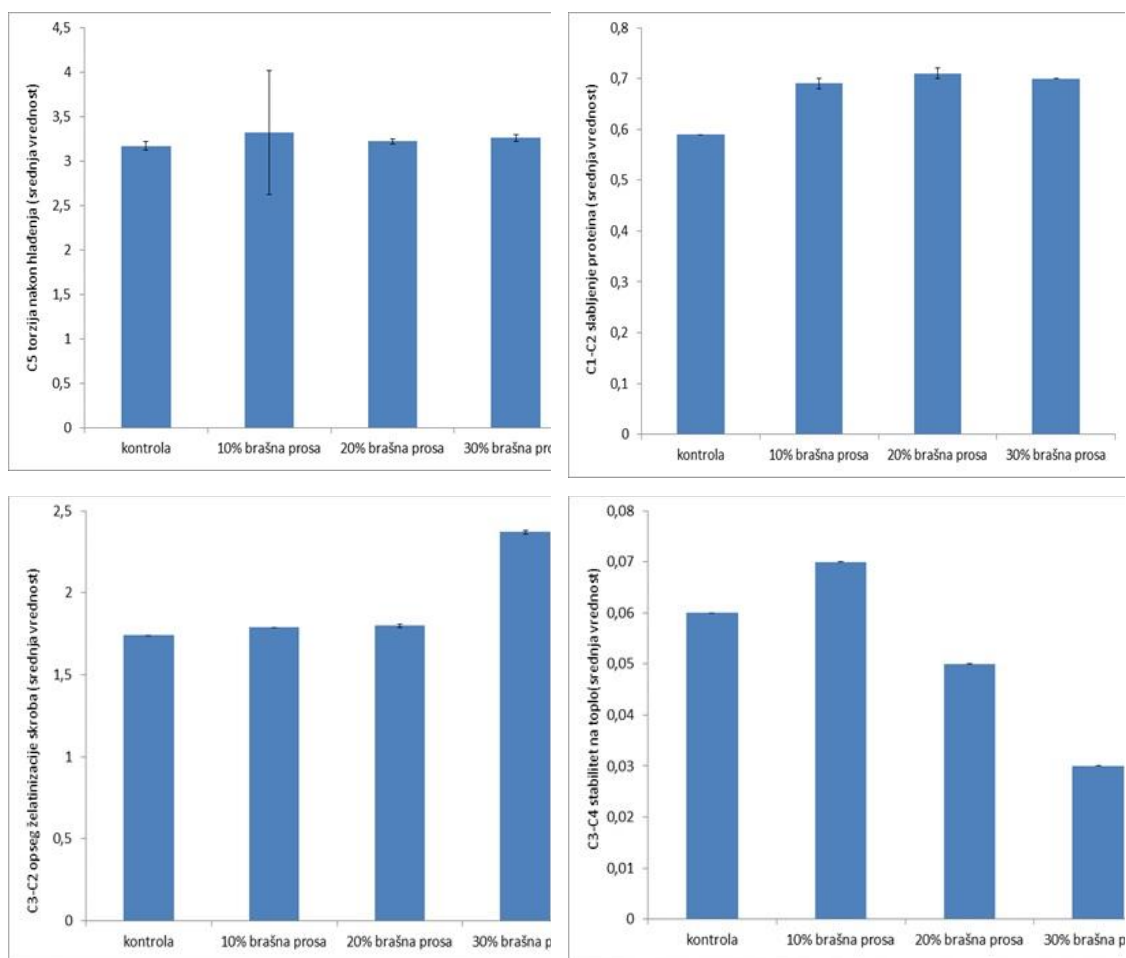
drugačijim karakteristikama skroba prosa. Povećanja viskoziteta reflektuju jače sile vezivanja unutar unutrašnjosti granula. Smanjenje stabiliteta na toplom (C4-C3) sa povećanjem udela prosa ukazuje na postojanje stabilnih gelova (slika 36) i manju podložnost degradaciji amilazom ili manju aktivnost amilaznog sistema u odnosu na kontrolno pšenično testo.



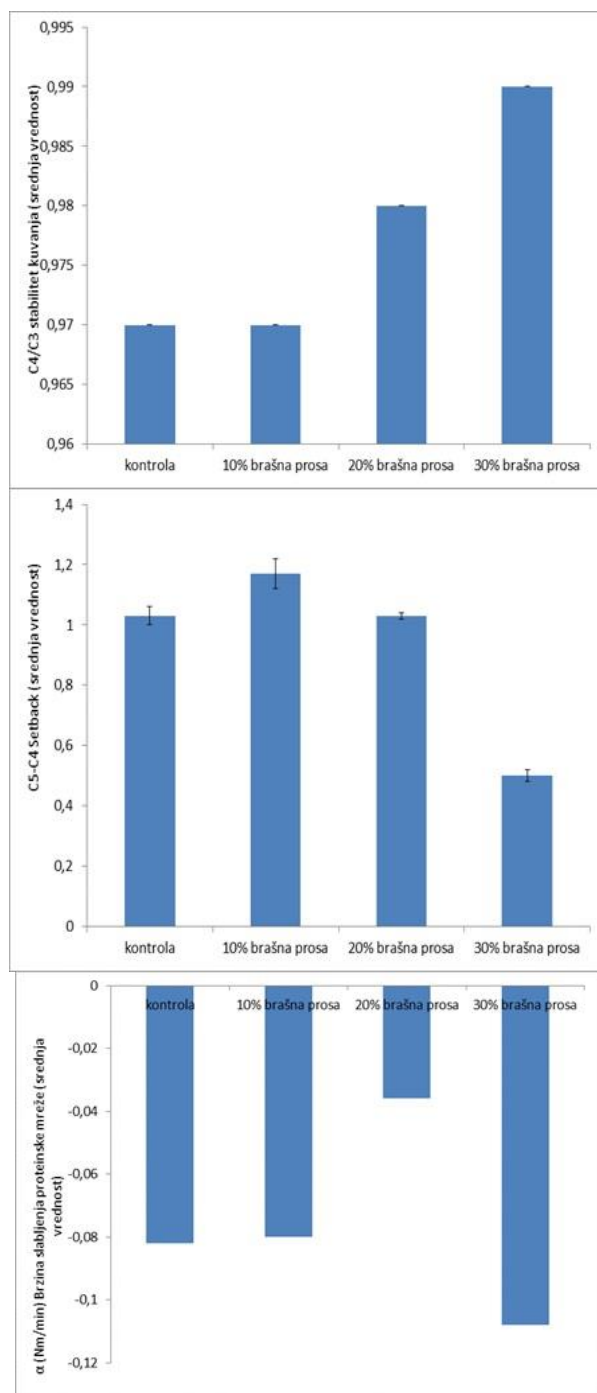
**Slika 35:** Rezultati dobijeni merenjima na Mixolab-u za kontrolno brašno i smeše za dvopek sa dodatkom prosenog brašna. Gore levo: vrednosti C1, gore desno, vrednosti C2 – minimalna torzija, dole levo – vrednosti C3- maksimalna torzija u toku zagrevanja, dole desno – minimalna torzija tokom držanja na toplom.

U ciklusu hlađenja, je C5 koja predstavlja torziju nakon hlađenja na 50°C. C5 vrednosti su bile veće za uzorke sa prosom u poređenju sa onima sa pšeničnim testom što znači da je dodavanje prosa vodilo ka reorganizovanju skrobnih komponenti što može da implicira veću sklonost ka retrogradaciji (slika 36). Ipak,

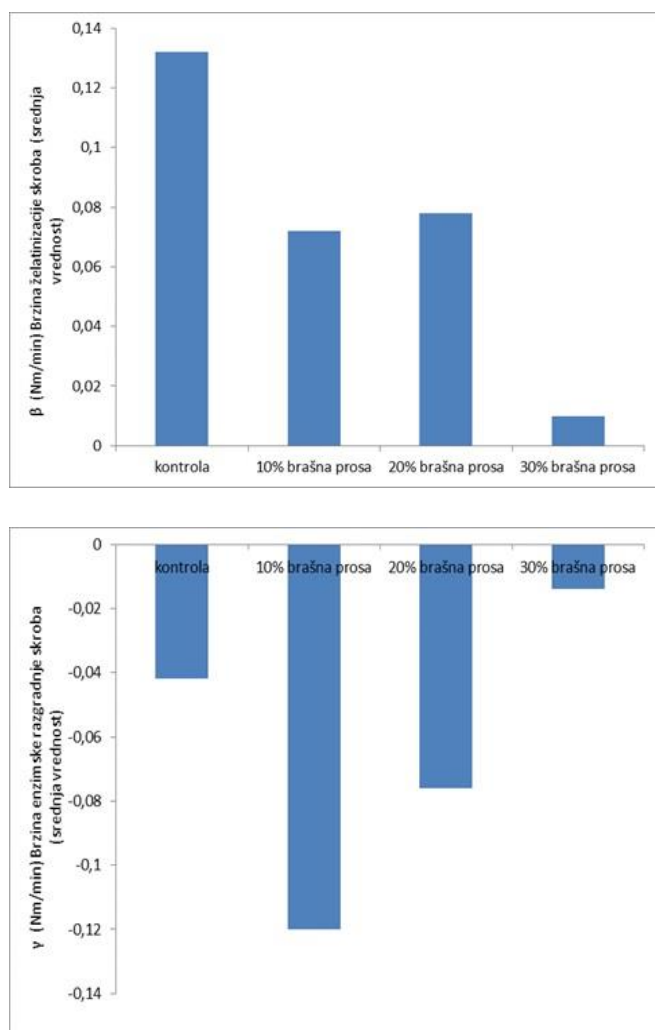
ukupne promene (C5-C4, slika 37) nisu pokazale jasan trend tendencija retrogradacije izazvanih suplementacijom prosa.



**Slika 36:** Rezultati dobijeni merenjima na Mixolab-u za kontrolno brašno i smeše za dvopeke sa dodatkom prosenog brašna. Gore levo: vrednosti C5 - torzija nakon hlađenja, gore desno - C1-C2 slabljenje proteina, dole levo - C3-C2 opseg želatizacije skroba, dole desno - C3-C4, stabilitet na toplom.



**Slika 37:** Rezultati dobijeni merenjima na Mixolab-u za dvopeke: kontrolni, i dvopeke u kojima je procenat pšeničnog brašna zamenjen brašnom prosa. Gore: vrednosti C4/C3 stabilitet kuvanja, u sredini – C5-C4 Setback, dole: brzina slabljenja proteinske mreže.



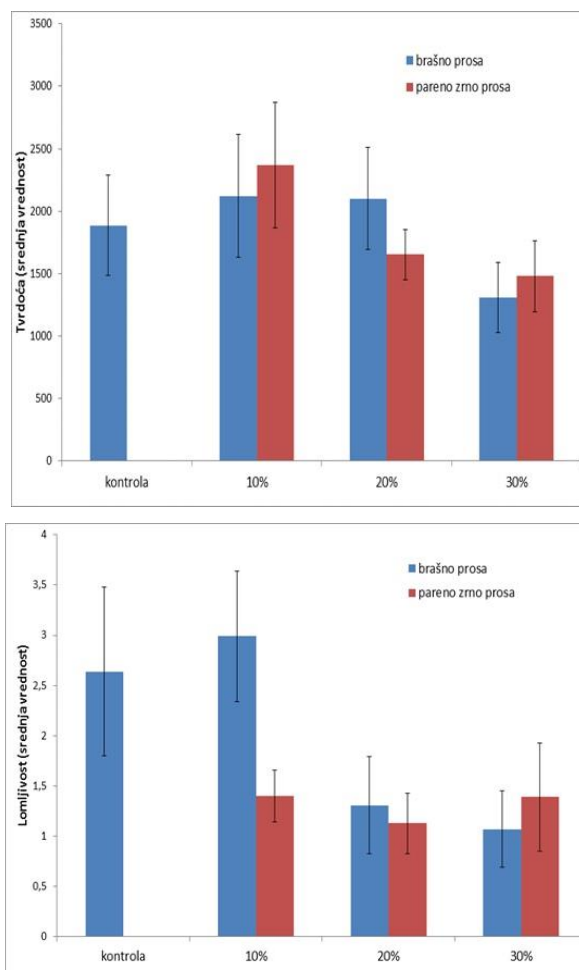
**Slika 38:** Rezultati dobijeni merenjima na Mixolab-u za dvopeke: kontrolni, i dvopeke u kojima je procenat pšeničnog brašna zamenjen brašnom prosa. Gore: Brzina želatinizacije skroba, dole: Brzina enzimske razgradnje skroba (u Nm/min.)

## 5.1.2. Teksturane karakteristike dvopeka

### 5.1.2.1 Određivanje teksture dvopeka merenjem tvrdoće

Rezultati analize teksture na teksturometru TA.XTplus Stable Micro Systems (Surrey, U.K.) su pokazali da su dvopeci sa suplementacijom prosa lomljiviji i manje tvrdi, posebno na nivou od 30% dodatka brašna od prosa (Slika 39). Slične tendencije ka povećanoj lomljivosti i manjoj tvrdoći su uočene kod dvopeka sa dodatkom naparenog prosenog zrna. U literaturi nema mnogo podataka na temu efekta suplementacije prosa na karakteristike dvopeka. Uglavnom postoje istraživanja vezana za dodavanje prosa na karakteristike svežih hlebova. Većina

radova objavljuje smanjeni kvalitet hleba sa povećanjem udela prosa, smanjeni volumen vekne, pogoršanje strukture pora itd. (Shalini i Lakshmi, 2005; Swec i Hruskova, 2010; Shimray i saradnici, 2012; Schoenlechner i saradnici, 2013).



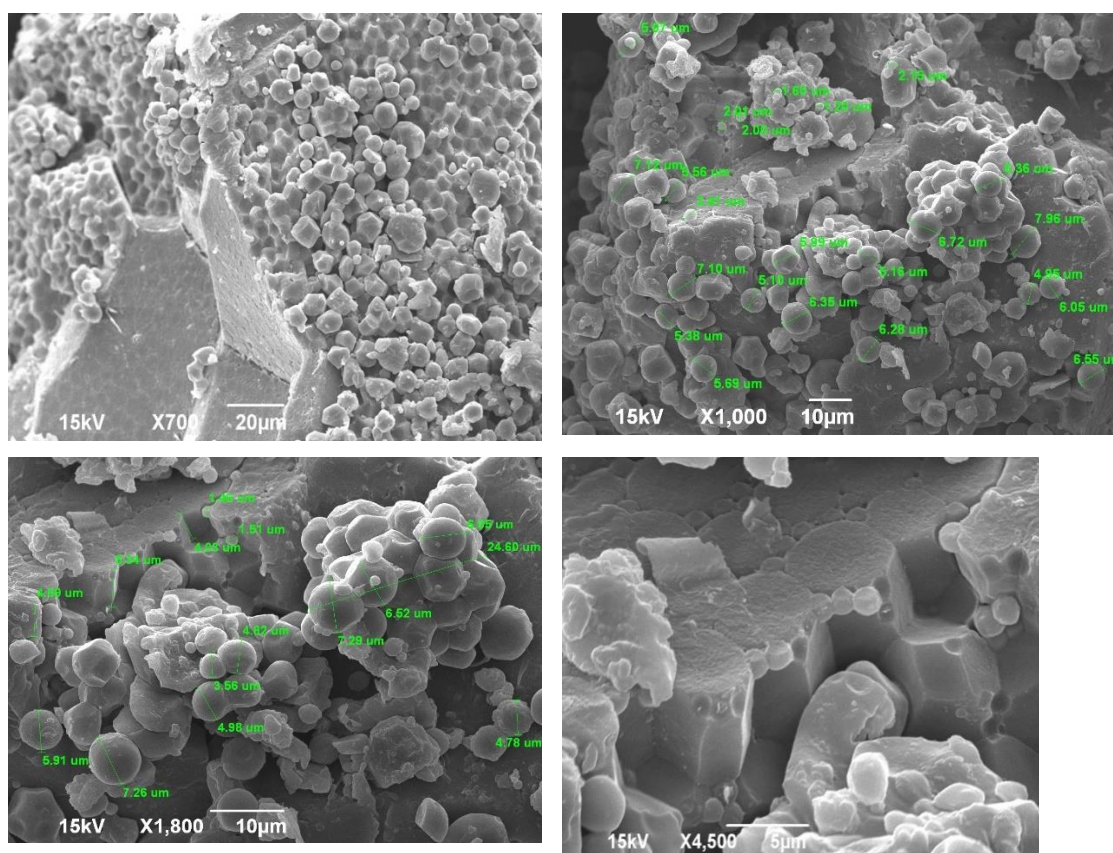
**Slika 39:** Merenje tvrdoće (gore) i lomljivosti (dole) za dvopeke ispitivane u radu.

Prilikom procesa sečenja a najviše sušenja i pakovanja istog dolazi do visokog procenta loma (30% od ukupne količine proizvedenog dvopeka). Cilj svakog naučnog rada je da isti može da proizvod bude primenljiv u industrijskoj proizvodnji.

### 5.1.2.2. Analiza mikrostrukturnih svojstava brašna, testa i dvopeka skenirajućom elektronskom mikroskopijom – SEM

Za potrebe boljeg razumevanja ponašanja i promena u okviru reoloških i hemijskih ispitivanja izvršeno je ispitivanje strukture brašna, testa i dvopeka skenirajućom elektronskom mikroskopijom (SEM).

Skenirajući elektronski mikrografski snimci brašna od prosa prikazani su slikom 40 i jasno pokazuju različite oblike i veličine granula skroba. Oblik granula skroba kod prosa se javlja ili u okruglastoj formi ili poligonalnoj, ali najčešće u kombinaciji oba oblika.

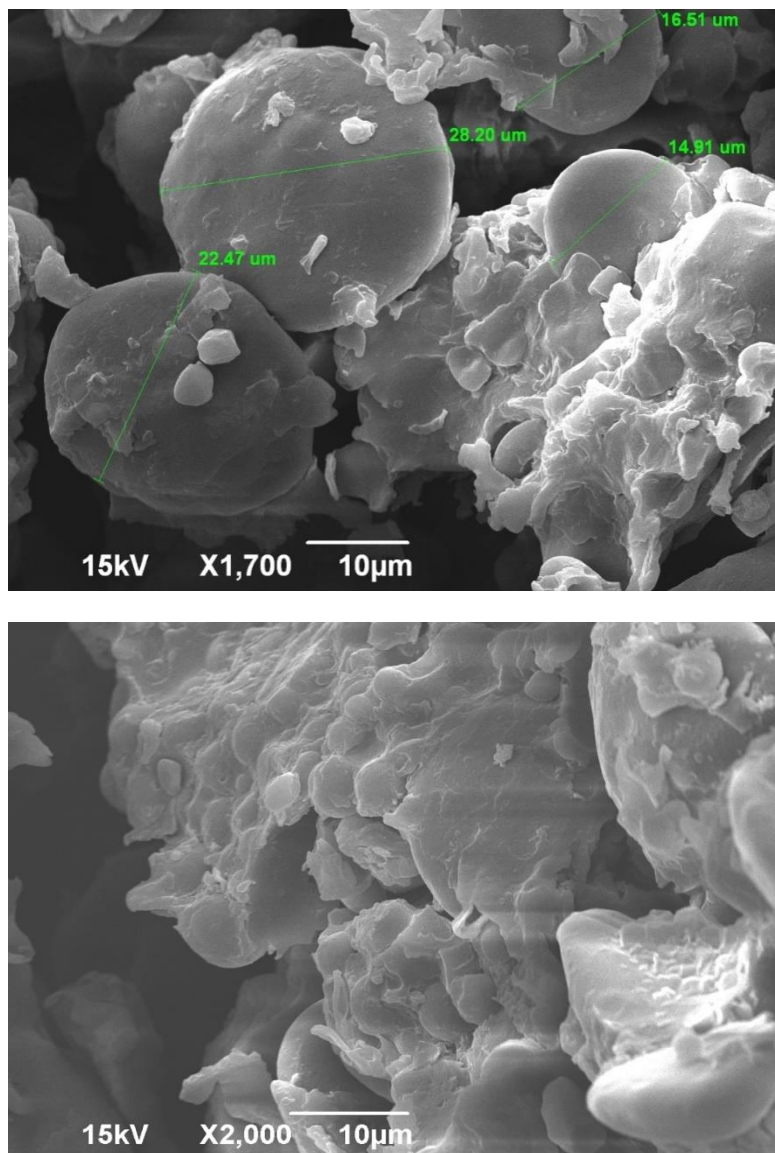


**Slika 40:** Skenirajući elektronski mikrografski snimci brašna od prosa. Gore levo – uvećanje 700x, gore desno – uvećanje 1000 x, dole levo uvećanje – 1800 x, dole desno – uvećanje 4500 X.

Slike pokazuju uređenu strukturu "saća" u kojoj su pravilno inkorporirane granule skroba. Veličina skrobnih granula prosa varira u intervalu od 2 μm do 10 μm i značajno su sitnije od granula skroba poreklom iz pšenice.

Skenirajući elektronski mikrografski snimci pšeničnog brašna T-400 jasno pokazuju

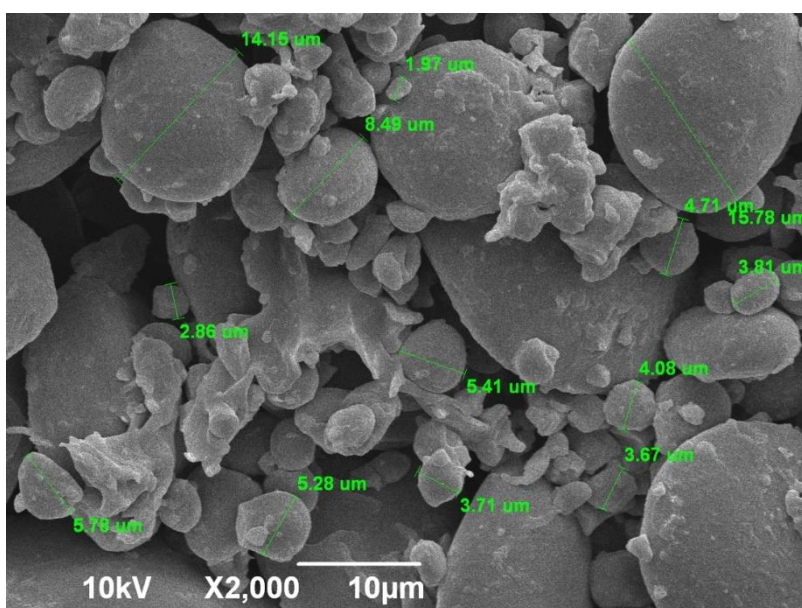
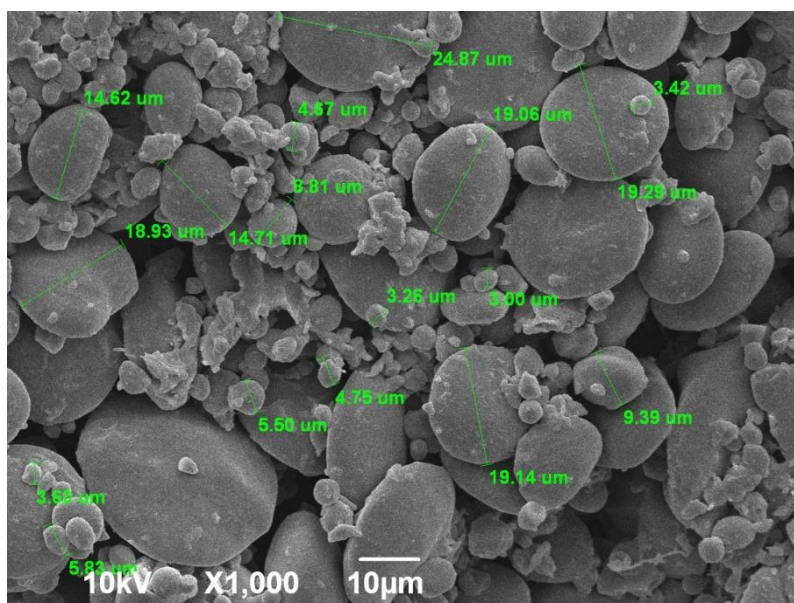
razliku u odnosu na brašno od prosa u vidu većih granula skroba dijametara u opsegu od 14  $\mu\text{m}$  do 30  $\mu\text{m}$ , uglavnom okruglastog oblika. Takođe se uočava poseban proteinski matriks (gluten) koji obuhvata granule skroba i ima izgled "gume za žvakanje" (Slika 41).



**Slika 41:** Skenirajući elektronski mikrografski snimci brašna od pšenice, T-400. Gore - uvećanje 1700 x; dole = pšenično brašno sa uvećanjem 2000 x; jasno vidljiv "lepljiv" proteinski matriks.

Takođe, urađeno je snimanje uzoraka testa od kojih se prave dvopeci. SEM kontrolnog uzorka (testa za dvopek od pšeničnog brašna) pokazuje izdvojene granule skroba i proteinski matriks koji ih povezuje.



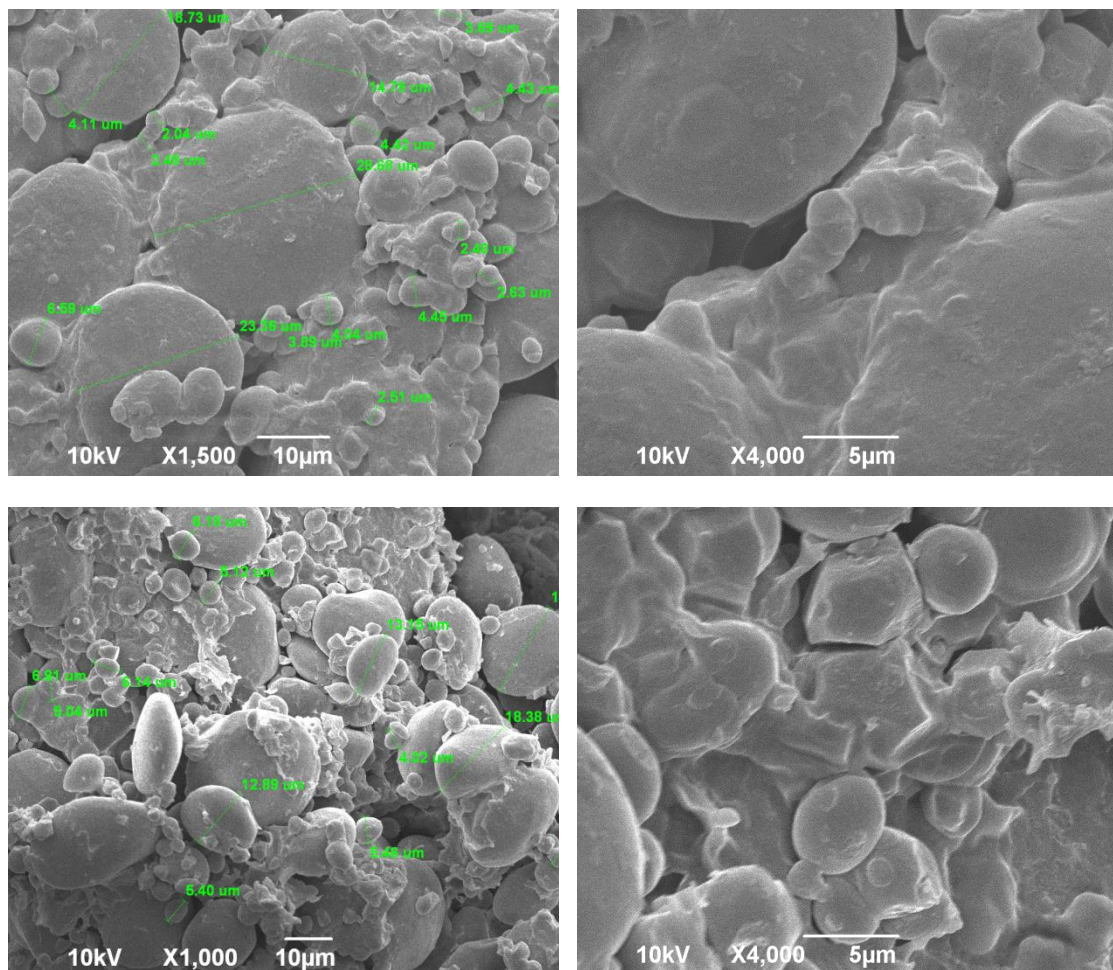


**Slika 42:** Skenirajući elektronski mikrografski snimci testa za kontrolni uzorak D-0, gore uvećanje 1000 x, dole uvećanje 2000 x.

Ovde treba napomenuti da su u literaturi publikovani rezultati SEM ispitivanja testa i gotovih pekarskih proizvoda (biskvita) u kojima se preporučuje odmašćivanje uzorka pre neparavanja zlatom i samog snimanja. Cilj odmašćivanja je sprečiti smetnje usled refleksije koje za rezultat imaju preterano osvetljene delove slike i nemogućnost da se neki delovi snimka vide. U ovom radu je odmašćivanje testa vršeno prema preporukama iz literature, primenom petrol-etra (*Papantoniou i*



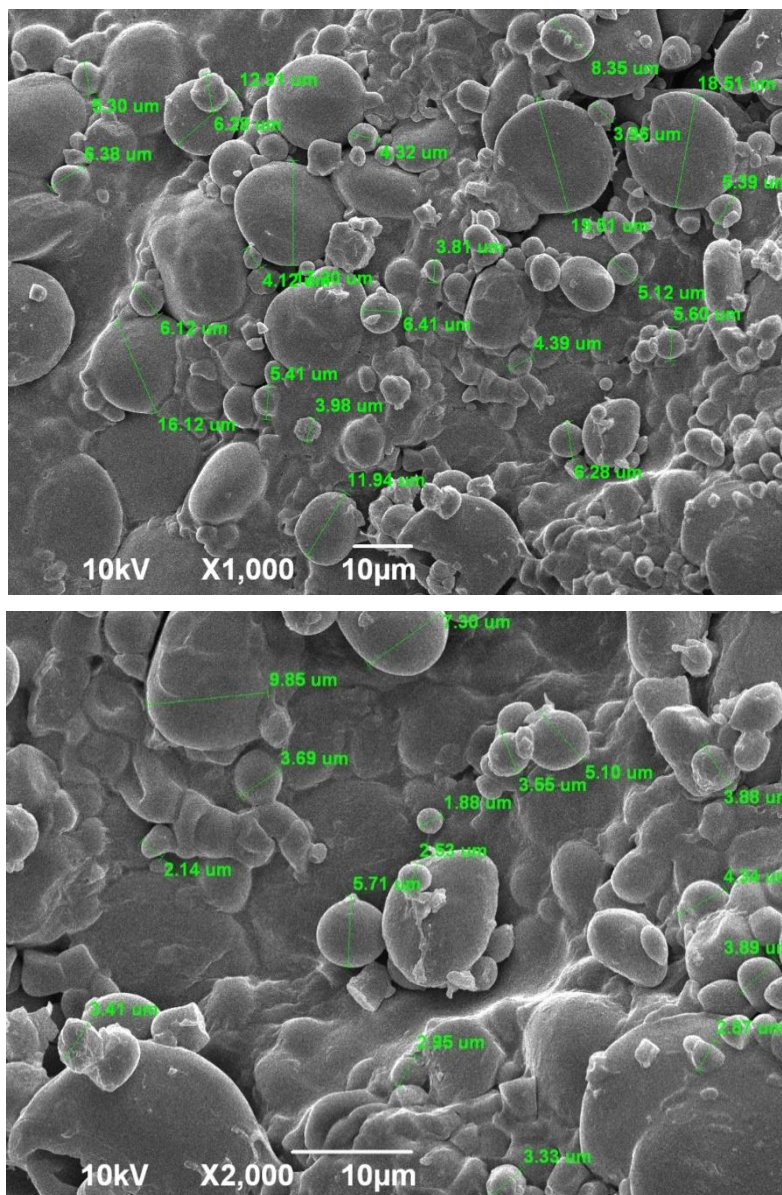
saradnici, 2003; *Crassina i saradnici*, 2012). Slika 43 pokazuje uporedno snimke dobijene sa i bez odmaščivanja na uzorku testa za dvopek sa 10% brašna od prosa (D-10-b).



**Slika 43:** Skenirajući elektronski mikrografski snimci testa za dvopek D-10-b. Gore: uzorci testa koji nisu odmaščeni, uvećanje 1500 x (levo) i 4000 x (desno); dole: odmaščeni uzorci, uvećanje 1500 x (levo) i 4000 x (desno).

SEM snimci testa sa 10% brašna od prosa jasno pokazuju mali procenat granula skroba poreklom iz prosa (malih dijametara), koje su proteinskim matriksom "zalepljene" za velike granule skroba pšeničnog brašna. Na slikama dobijenih sa odmaščenih uzoraka vidi se da neke od veza između granula skroba nestaju (granule su jasno ograničene i nisu međusobno povezane), što govori o tome da su u testu masnoće raspoređene preko granula skroba, međusobno ih povezujući. Kako su dobijeni zadovoljavajući snimci i kada uzorci testa nisu odmaščivani, i kako je očigledno da se uklanjanjem masnoća dobija slika proizvoda koji nije realan; u

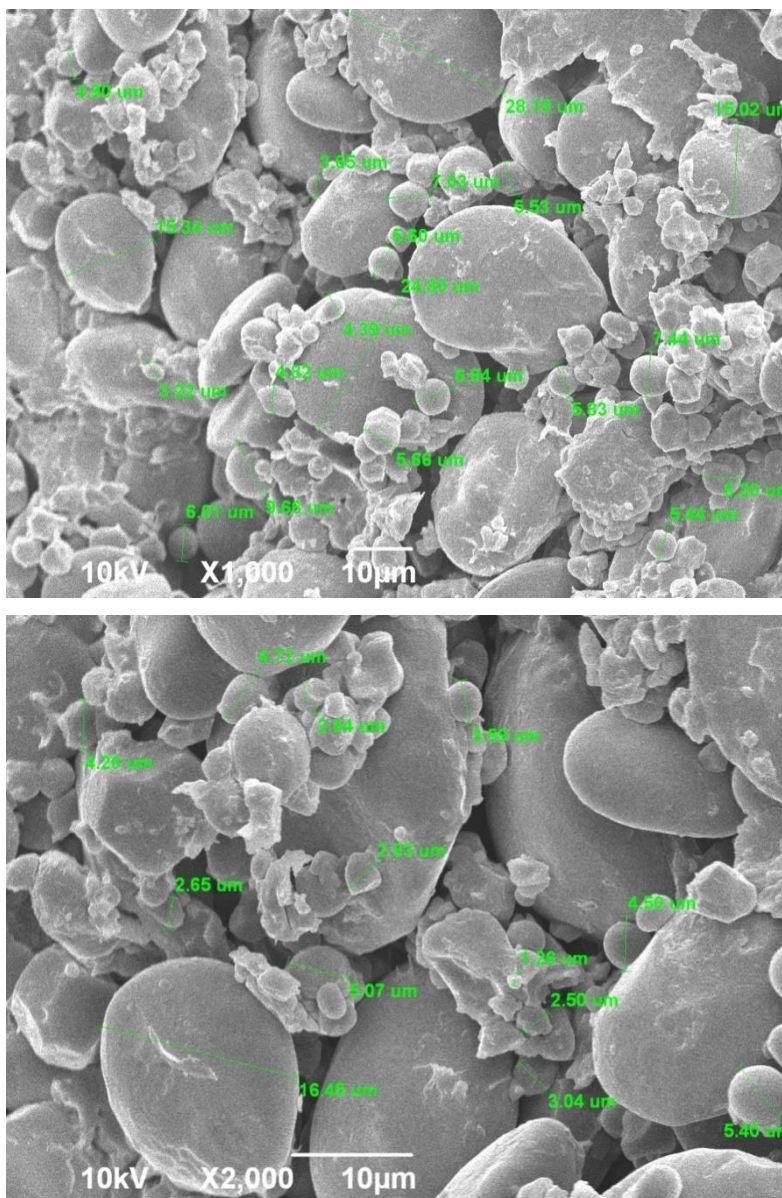
daljem radu (pri snimanju uzoraka dvopeka) nije vršena procedura odmašćivanja. U slučaju testa sa 20% brašna od prosa, uočava se veći broj sitnih granula skroba iz prosa, saglasno njegovoj većoj zastupljenosti u uzorku (Slika 44).



**Slika 44:** Skenirajući elektronski mikrografski snimci testa za dvopek D-20-b. Gore: slika odmašćenog testa, uvećanje 1000 x; dole: slika odmašćenog testa, uvećanje 2000 x.

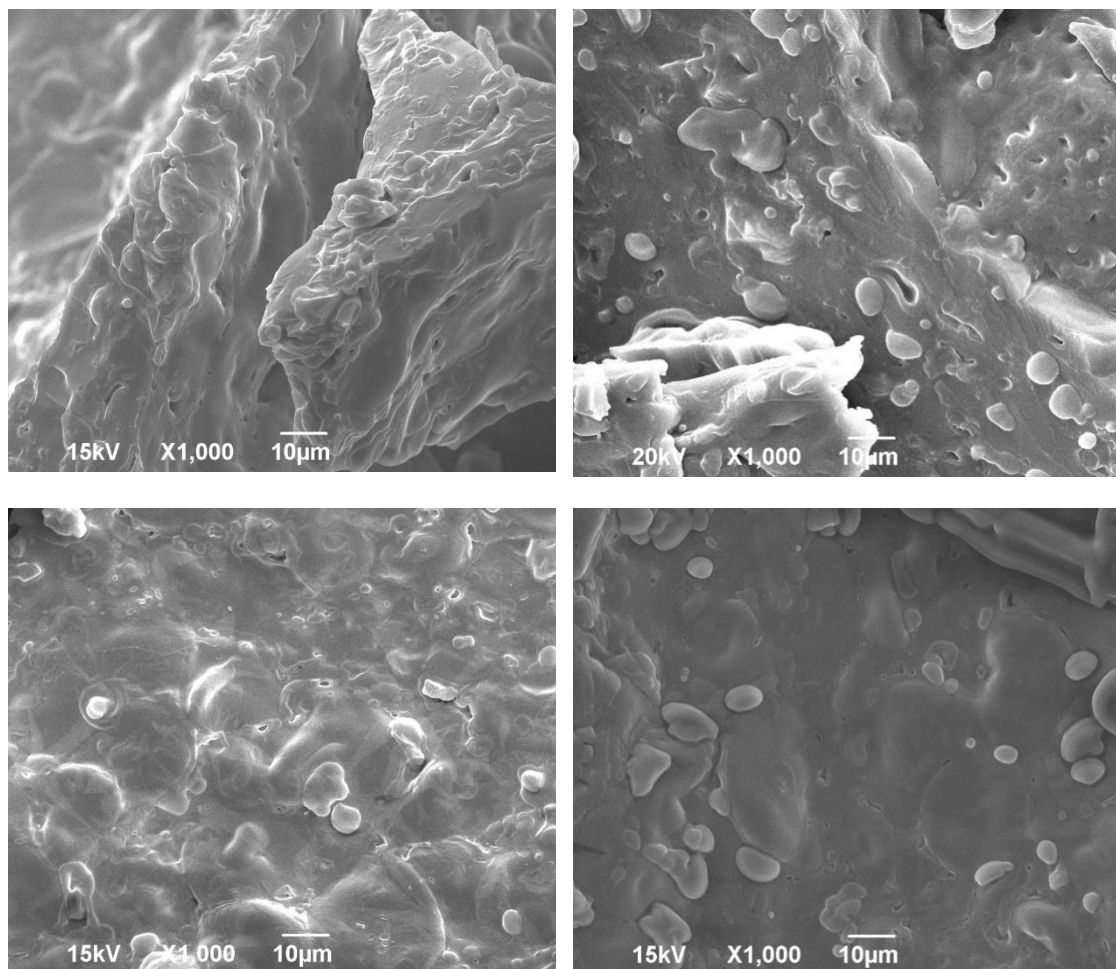
Kod SEM slika testa sa 30% brašna od prosa uočljiva je razlika u odnosu na prethodne uzorke, u vidu manjeg prisustva "lepljivih" proteinskih struktura, što je saglasno sa sastavom uzorka, odnosno, sa činjenicom da uzorak ima veći procenat prosa koje *prirodno ne poseduje protein gluten*.





**Slika 45:** Skenirajući elektronski mikrografski snimci testa za dvopek D-30-b. Gore: slika odmašćenog testa, uvećanje 1000 x; dole: slika odmašćenog testa, uvećanje 2000 x.

SEM snimci gotovih proizvoda – dvopeka, prikazani su na Slici 46. Na snimcima koji potvrđuju dobru homogenizaciju uzoraka uočavaju se granule skroba prosa utopljene u proteinski matriks pšeničnog brašna.



**Slika 46:** Skenirajući elektronski mikrografski snimci testa za dvopeke: gore levo D-0, gore desno D-10-b, dole levo D-20-b, dole desno D-30-b; uvećanje 1000 x.

## 5.2. Senzorna ispitivanja

U okviru disertacije urađena je senzorna analiza uzoraka dvopeka sa dodatkom različitih udela (10, 20 i 30%) brašna i zrna prosa, koji su proizvedeni u industrijskim uslovima, upakovani i čuvani u skladištu gotovih proizvoda na suvom i tamnom mestu.

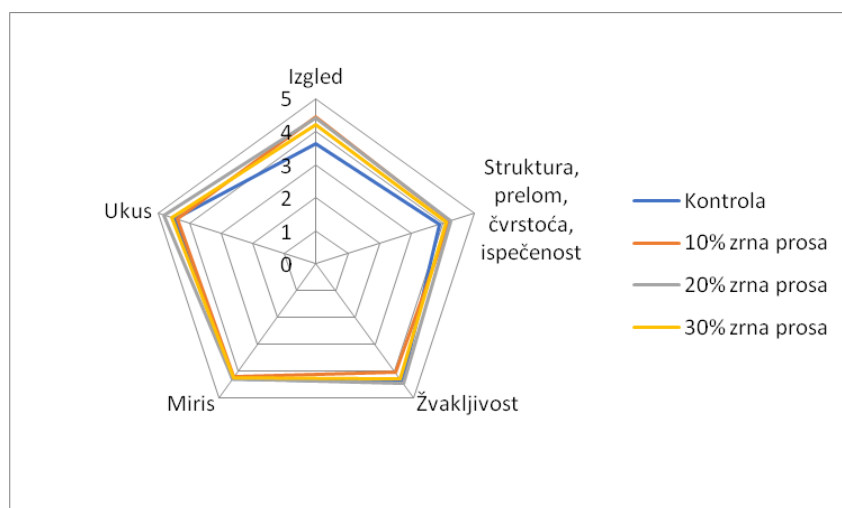
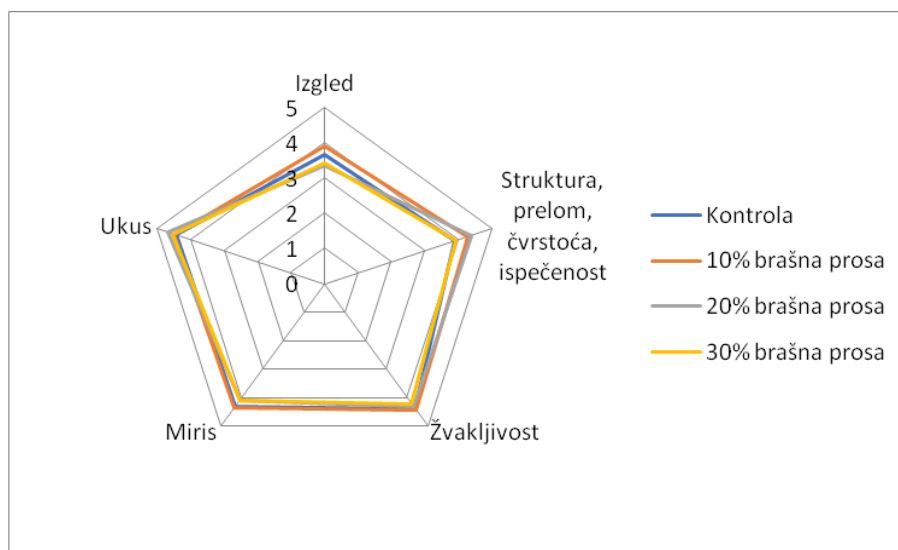
Posebna pažnja pri senzornom ocenjivanju posvećena je izgledu i teksturnim svojstva kao što su struktura preloma, čvrstoća i žvackljivost dvopeka, jer su u tom segmentu očekivane najizraženije promene. Nije zanemarljiv ni uticaj prosa na ukusno aromatska svojstva dvopeka s obzirom da su to dva glavna činioca koja opredeljuju prihvatanje proizvoda od strane potrošača.

**Tabela 20:** Rezultati senzornog ocenjivanja kvaliteta različitih vrsta dvopeka sa dodatkom prosa

Uzorak	Izračunati pokazatelj	IZGLED Boja, oblik, površina	TEKSTURA		AROMA		% max. mogućeg kvaliteta	Ponderisana srednja vrednost ocene
			Svojstva		Miris	Ukus		
			Struktura, prelom, čvrstoća, ispečenost	Žvakljivost				
	KV	2,00	3,00	4,00	4,00	7,00		
Kontrola	$X_{sr}$	3,65	3,9	4,4	4,3	4,45	84,95%	4,25
	$S_d$	0,1369	0,1369	0,2236	0,203	0,118		
	$C_v$	3,75	3,511	5,140	4,864	2,5124		
10% brašna	$X_{sr}$	3,9	4,3	4,45	4,35	4,5	87,4%	4,37
	$S_d$	0,1369	0,2091	0,1118	0,1369	0		
	$C_v$	3,5110	4,864	2,5124	3,1478	0		
20% brašna	$X_{sr}$	3,35	4,4	4,3	4,1	4,7	86,4%	4,32
	$S_d$	0,1369	0,2236	0,1118	0,1369	0,1118		
	$C_v$	4,0874	5,08197	2,60079	3,3397	2,3787		
30% brašna	$X_{sr}$	3,42	3,95	4,2	4,1	4,55	83,74%	4,19
	$S_d$	0,115	0,209	0,2738	0,1369	0,111		
	$C_v$	3,3657	5,295	6,520	3,3397	2,457		
10% zrna	$X_{sr}$	4,45	4,2	4,05	4,2	4,4	84,7%	4,23
	$S_d$	0,118	0,1118	0,118	0,209	0,1369		
	$C_v$	2,5124	2,6619	2,760	4,980	3,112		
20% zrna	$X_{sr}$	4,4	4,25	4,45	4,3	4,8	90,15%	4,50
	$S_d$	0,1369	0,1767	0,209	0,209	0,209		
	$C_v$	3,112	4,1594	4,7003	4,864	4,357		
30% zrna	$X_{sr}$	4,2	4,1	4,3	4,24	4,55	86,71%	4,33
	$S_d$	0,209	0,1369	0,1118	0,209	0,209		
	$C_v$	4,980	3,3397	2,600	4,980	4,597		

Na osnovu dobijenih rezultata (Tabela 20) uočava se da su svi uzorci dvopeka bez obzira na vid prosa u kome je dodat, ocenjeni visokim ocenama za senzorni kvalitet. Prema ponderisanoj srednjoj vrednosti ocene uzorci spadaju u kategoriju vrlo dobrog (sa ocenama većim od 4) a jedan uzorak u kategoriju odličnog kvaliteta. Brojčano najviše vrednosti srednje ocene kao i % od maksimalno mogućeg kvaliteta imao je uzorak dvopeka sa dodatkom 20% prosa u zrnu (4,50, odnosno 90,15% od maksimalno mogućeg kvaliteta). Ovaj uzorak je imao najviše srednje ocene za izgled, mehanička svojstva teksture (struktura, prelom, čvrstoća, ispečenost i žvakljivost), kao i za svojstvo arome to jest ukus. Uzorci dvopeka sa dodatkom 10 i 20% brašna prosa i 30% prosa u zrnu su bili sledeći po ukupnoj srednjoj vrednosti ocene (4,32-4,37, odnosno 86,4-87,4% od maksimalno mogućeg kvaliteta). Razlog ovakvog pozicioniranja uzoraka je u najvećoj meri zbog ocena za ukus ( $X_{sr}=4,50$  do 4,7) koji je bio veoma prijatan, slatkast. Visoke, prilično ujednačene, ocene dodeljene su od članova ocenjivačke komisije za svojstva mirisa i žvakljivosti, kao i prilično visoke ocene za strukturu, prelom, čvrstoću i ispečenost; dok je parametar koji je doprineo snižavanju ukupne srednje ocene ovih uzoraka (3,35 do 3,9) izgled dvopeka. Iako je u grupi vrlo dobrog kvaliteta, najslabije ocenjen je uzorak sa dodatkom 30% brašna

prosa ( $X_{sr}=4,19$  odnosno 83,74% od maksimalno mogućeg kvaliteta). To je posledica lošije ocenjenog izgleda, strukture, preloma, čvrstoće i ispečenosti.



**Grafik 1:** Senzorna ocena kvaliteta različitih vrsta dvopeka sa dodatkom prosa

Generalno se može konstatovati da su razlike u ocenama senzornih svojstava dvopeka veoma male (Grafik 1) i da su više posledica forme u kojoj je proso dodat nego udela koji je upotrebljen. Jedno od značajnih zapažanja ovog dela ispitivanja je da su uzorci sa dodatkom brašna prosa imali naprsline koje predstavljaju potencijalnu opasnost za pojavu veće količine loma kao i nešto manju zapreminu u odnosu na uzorake sa celim zrnima prosa. Potrebno je posebno istaći da je dodatak prosa kod svih uzoraka imao veoma pozitivan uticaj na ukus, dok je miris ostao gotovo nepromenjen u odnosu na standardni dvopek. Na osnovu svega navedenog,

može se zaključiti da dodatak različitih formi i udela prosa, ne dovodi do značajnijih promena senzornih svojstava dvopeka. To ujedno pruža velike mogućnosti za obogaćivanje ne samo dvopeka već i drugih pekarskih proizvoda. Dodatak prosa obezbeđuje dodatnu vrednost proizvodu što predstavlja dobar put ka formiranju novih potencijalno funkcionalnih proizvoda koji na odgovarajući način objedinjuju hedonističke i zdravstvene efekte.

U izradi ove disertacije, pošto su detaljno ispitane teksturne osobine dobijenih proizvoda kao i njihove senzorne osobine, usvojen je zaključak da dvopeci proizvedeni sa zrnem prosa ne zadovoljavaju kriterijume značajne u industrijskoj proizvodnji. Prilikom procesa sečenja a najviše sušenja i pakovanja istog dolazilo je do visokog procenta loma (30% od ukupne količine proizvedenog dvopeka). Kako je jedan od ciljeva ovog naučnog rada bio da se rezultati mogu koristiti u određenoj industrijskoj proizvodnji, posle ovih stadijuma istraživanja doneta je odluka da se na dalje ne nastavi ispitivanje ovih uzoraka. Takođe, analiza senzoričke pokazuje da kod dvopeka proizvedenih sa zrnem takođe postoji rasipanje i odvajanje od osnovne strukture proizvoda. Pored toga, uočeno je da se pri pokušaju hemijskog analiziranja uzoraka dvopeka sa zrnem prosa pojavljuju teškoće u homogenizaciji uzoraka, što je za posledicu imalo rezultate sa velikom divergencijom, odnosno činjenicu da se podaci nisu mogli dobiti sa zadovoljavajućom mernom sigurnošću.

## **5.3 Hemijske karakteristike brašna i gotovih proizvoda**

### **5.3.1 Hemijske karakteristike brašna**

U ovom radu utvrđeni su sadržaji vlage, pepela, ukupnih proteina, ukupnih dijetetskih vlakana, ukupnih fenolnih jedinjenja (TPC), skroba i amiloze u brašnima, primenom metoda koje su navedene u eksperimentalnom delu. Tabela 21 pokazuje dobijene rezultate.

**Tabela 21:** Hemijske karakteristike brašna\*

Uzorak	Voda (%)	Pepeo (%)	Proteini (%)	TPC (%)	Ukupna vlakna (%)	Ukupni skrob** (%)	Amiloza (%)
Pšenično brašno	11,2	0,45	11,51	66,7	1,86	72	13,6
Brašno od prosa	10,30	1,03	11,06	31,5	7,12	70	8,8

\* Granice detekcije svih navedenih veličina date su u poglavlju 4.2.4

\*\*Sadržaj amilopektina određuje se iz razlike sadržaja ukupnog skroba i amiloze

Očigledno, osim u sadržaju ukupnih proteina koji je sličan za oba brašna, prikazani rezultati jasno ukazuju na značajne razlike u hemijskom sastavu. Ukupna sirova vlakna nađena su u znatno većoj količini u brašnu od prosa, što je u saglasnosti sa literaturnim podacima publikovanim za više varijeteta ove žitarice. Objavljeni su podaci o sadržaju sirovih vlakana u opsegu od 3,2 do 4,7% (*Ravindran, 1991*), kao i znatno više vrednosti u novijoj literaturi (od 12,2 do 18,8% (*Habiyaremye i saradnici, 2017*)). Vrednosti variraju jer zavise ne samo od varijeteta prosa nego i od geografskog porekla i klimatskih uslova, ali su u svakom slučaju više u odnosu na one nađene kod pšenice ili pirinča, na primer (*Ravindran, 1991; Habiyaremye i saradnici, 2017*). Sadržaj ukupnog skroba je u brašnu od prosa manji za 2% u odnosu na pšenično brašno korišćeno u ovom radu, ali je važno uočiti značajnu razliku u sadržaju amilopektina, komponente skroba razgranatog molekula.

Iz Tabele 21 sledi da je procenat ukupnih polifenola duplo manji u brašnu od prosa u odnosu na pšenično brašno. Iz literature je poznato da je sastav polifenola različit kod ovih žitarica (*Hung, 2016*): glavna fenolna komponenta ekstrahovana iz pšeničnog brašna 80% etanolom je siringinska kiselina, dok se alkalnom ekstrakcijom dobija ferulna kiselina. U slučaju prosa, detektovane su galna, kumarinska, siringinska i vanilinska kiselina (*Hung, 2016; Viswanath i saradnici, 2009*). Zbog različitog fenolnog sastava, može se očekivati i različit antioksidativni kapacitet ovih žitarica.

Iz Tabele 21 ce takođe vidi znatno viši sadržaj pepela kod brašna od prosa, što je u saglasnosti sa vrednostima sadržaja mikroelemenata (Tabela 22). Sadržaj glavnih minerala kalcijuma, gvožđa, magnezijuma, kalijuma, natrijuma, cinka i bakra su određivani atomskom absorpcionom spektroskopijom, kako je objašnjeno u



poglavljju 4.2.4.1. Pšenično brašno bogatije je kalcijumom i natrijumom od brašna od prosa; međutim vrlo je važno uočiti da se u brašnu od prosa nalaze veće količine kalijuma i znatno veće količine magnezijuma, gvožđa, cinka i bakra. Ovi podaci su takođe u saglasnosti sa onima publikovanim u literaturi (Hung, 2016).

**Tabela 22:** Sadržaj glavnih minerala u brašnima\*

Minerali (mg/kg)	Kalcijum, Ca	Kalijum, K	Natrijum, Na	Magnezijum, Mg	Gvožđe, Fe	Cink, Zn	Bakar, Cu
Pšenično brašno	796	1520	190	431	1,55	4,67	7,30
Brašno od prosa	230	1668	176	1210	4,38	20,7	25,6

\* Granice detekcije svih navedenih veličina date su u poglavljju 4.2.4

### 5.3.2 Hemijske karakteristike dvopeka

Kao i u slučaju brašna, u dvopecima su analizirani sadržaj vlage, pepela, ukupnih proteina, ukupnih dijetetskih vlakana, ukupni skrob i amiloza. Tabela 23 pokazuje dobijene rezultate, dok su sadržaji ukupnih polifenola, sadržaj  $\alpha$ -tokoferola i aminokiselinski sastav prikazani u narednim poglavljima.

Prikazani rezultati ukazuju da se sa povećanjem procenta zamene pšeničnog brašna brašnom od prosa značajno povećavaju sadržaji ukupnih dijetetskih vlakana i amilopektina, što je od značaja za razumevanje rezultata dobijenih u ovom radu.

**Tabela 23:** Hemijske karakteristike dvopeka\*

Uzorak	Voda (%)	Pepeo (%)	Proteini (%)	Ukupna vlakna (%)	Ukupni skrob** (%)	Amiloza (%)
D-10-b	6,41	2,36	11	3,08	66	11,2
D-20-b	6,12	2,25	11,11	3,91	66	10,1
D-30-b	6,28	2,46	11,06	4,07	66	9,4

\* Granice detekcije svih navedenih veličina date su u poglavljju 4.2.4

\*\*Sadržaj amilopektina određuje se iz razlike sadržaja ukupnog skroba i amiloze

### 5.3.3. Sadržaj esencijalnih aminokiselina u dvopecima

Kako je prethodno objašnjeno u poglavljju 4.2.4., analiza dvopeka (kontrolnog i onih u kojima je deo pšeničnog brašna zamenjen onim od prosa) obuhvata određivanje sadržaja slobodnih aminokiselina kao i onih nastalih hidrolizom proteina.

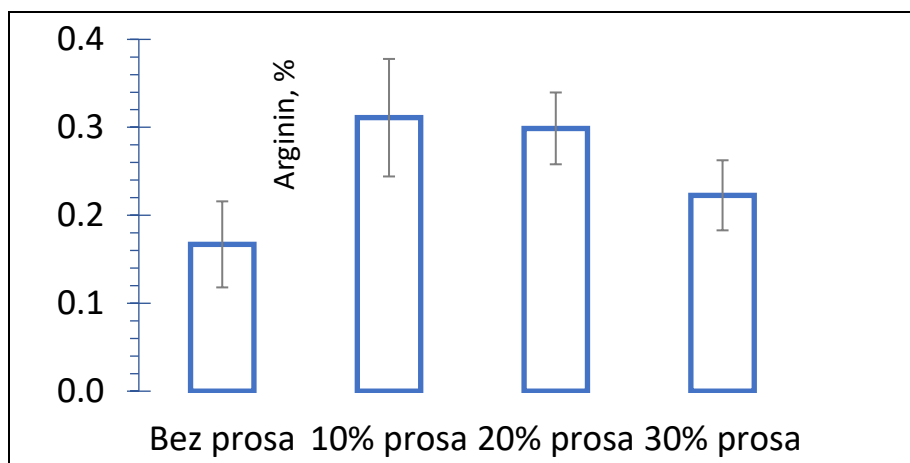
U narednim rezultatima, malim latiničnim slovima su označene pripadnosti grupama koje se međusobno ne razlikuju (ukoliko su dve vrednosti označene istim slovo to znači da se one statistički međusobno ne razlikuju).

U tumačenju dobijenih rezultata treba imati na umu činjenicu da je u brašnu od prosa detektovana značajno veća količina sirovih vlakana nego u slučaju pšeničnog brašna, a takođe i amilopektina, skroba razgranatog molekula. Prisustvo vlakana i amilopektina je značajno zbog interakcija koje se i inače dešavaju između makronutrijenata (skroba, proteina i lipida) i koje imaju značajan uticaj na mogućnost digestije ovih kategorija jedinjenja ili onih koje potencijalno sa njima ostvaruju interakcije (kakvi su polifenoli, na primer) (*Bhattarai i saradnici*, 2016). U slučaju uzoraka ispitivanih u ovom radu, prethodno pokazani rezultati pokazuju da porast supstitucije pšeničnog brašna onim od prosa donosi uvećanje procenta prisutnih dijetetskih vlakana u dvopecim, a isto važi i za amilopektin.

Tabela 24 i slika 47 prikazuju rezultate dobijene za arginin. Kod ove amino kiseline između pojedinih uzoraka postoji statistički značajna razlika srednjih vrednosti. U ovom slučaju, nema razlike između uzorka bez prosa i uzorka sa 30% prosa, kao i između uzorka sa 10 i 20% prosa, ali je važno da se uočava povećanje količine slobodnog arginina za uzorke D-10-b i D-20-b.

**Tabela 24:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za arginin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,167a	0,049	0,024	0,11	0,23	9,404	0,001
D-10-b	0,311b	0,067	0,033	0,25	0,37		
D-20-b	0,299b	0,041	0,017	0,25	0,35		
D-30-b	0,223a	0,040	0,014	0,19	0,31		



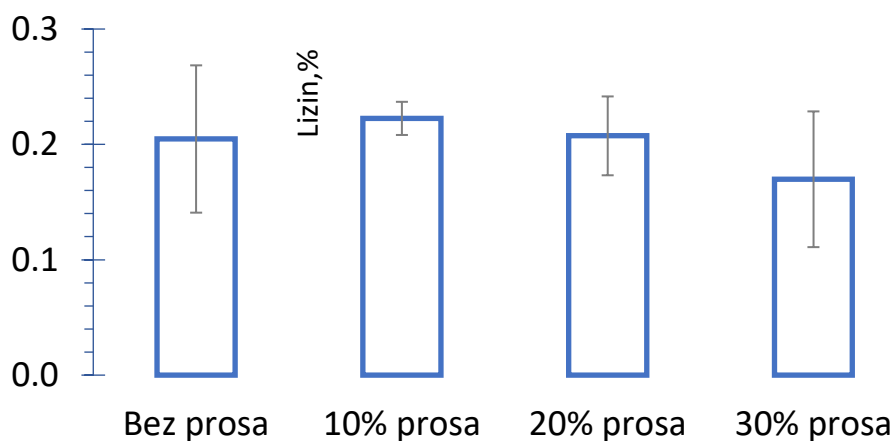
**Slika 47:** Sadržaj arginina u uzorcima dvopeka

Prikazani rezultati ukazuju da je prisustvo prosa u dvopecima dovelo do pojave veće količine slobodnog arginina. Pad vrednosti u uzorku sa 30% prosa najverovatnije potiče od interakcija sa vlaknima i “zarobljavanja” ove kiseline u njima.

U slučaju lizina, dodatak prosa u uzorke dvopeka nije doveo do statistički značajne promene u sadržaju slobodne amino kiseline (Tabela 25 i slika 48).

**Tabela 25:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse zalizin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,205a	0,064	0,032	0,13	0,29	1,314	0,301
D-10-b	0,223a	0,014	0,007	0,21	0,24		
D-20-b	0,207a	0,034	0,014	0,17	0,26		
D-30-b	0,170a	0,059	0,021	0,10	0,25		



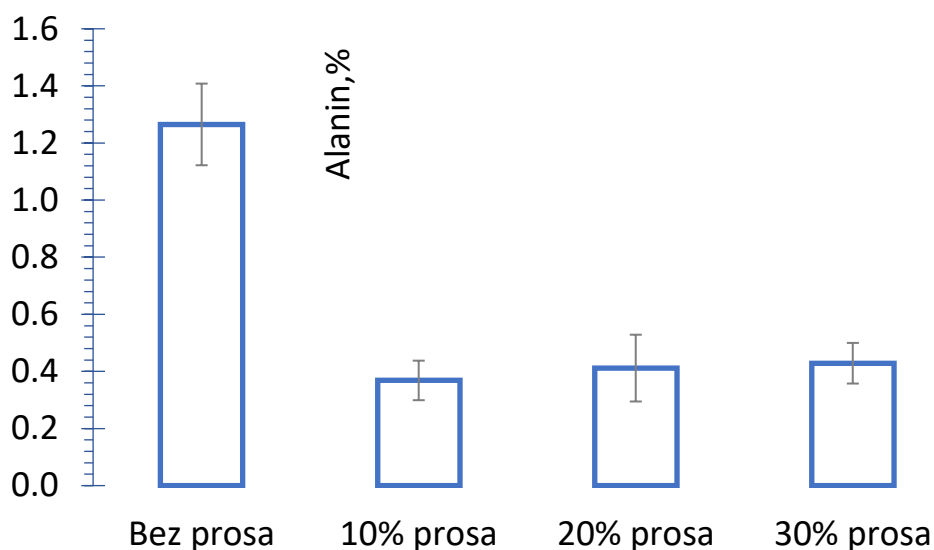
**Slika 48:** Sadržaj lizina u uzorcima dvopeka

U slučaju alanina, apolarne nereaktivne amino kiseline, značajan pad vrednosti u detekciji alanina u odnosu na kontrolni dvopek se pripisuje karakteristikama te

amino kiseline: ovaj mali apolarni molekul može da ostvari interakcije i zbog toga može da bude “zarobljen” u vlaknima.

**Tabela 26:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za alanin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	1,265b	0,143	0,071	1,11	1,45	80,358	0.00
D-10-b	0,368a	0,069	0,035	0,33	0,47		
D-20-b	0,412a	0,117	0,048	0,20	0,53		
D-30-b	0,429a	0,071	0,025	0,31	0,54		

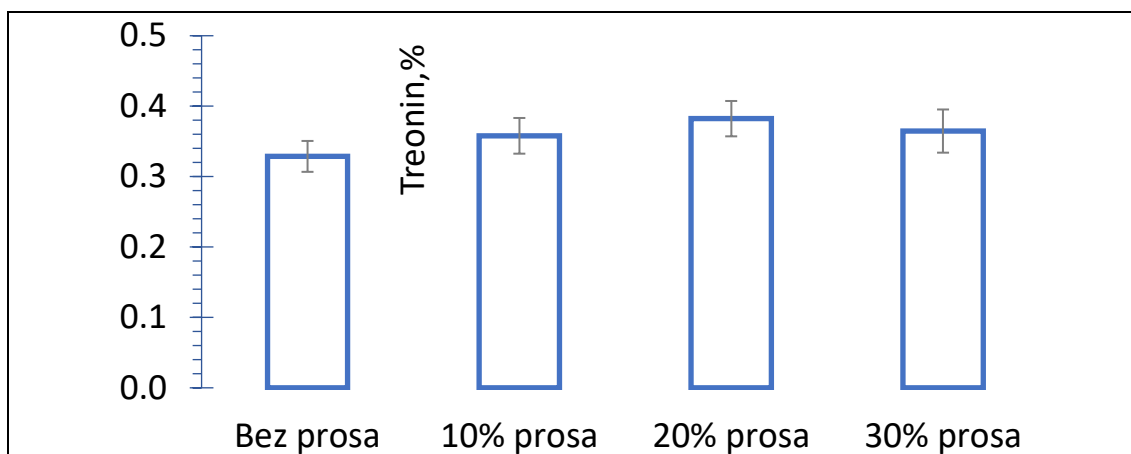


**Slika 49:** Sadržaj alanina u uzorcima dvopeka

**Tabela 27:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za treonin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,329a	0,022	0,011	0,31	0,36	3,219	0,047
D-10-b	0,358ab	0,025	0,013	0,33	0,38		
D-20-b	0,382b	0,025	0,010	0,36	0,42		
D-30-b	0,365ab	0,031	0,011	0,31	0,40		

U slučaju treonina, primećuje se da različitu (povećanu količinu) ove amino kiseline u slobodnoj formi ima dvopek D-20-b (Tabela 27 i slika 50).

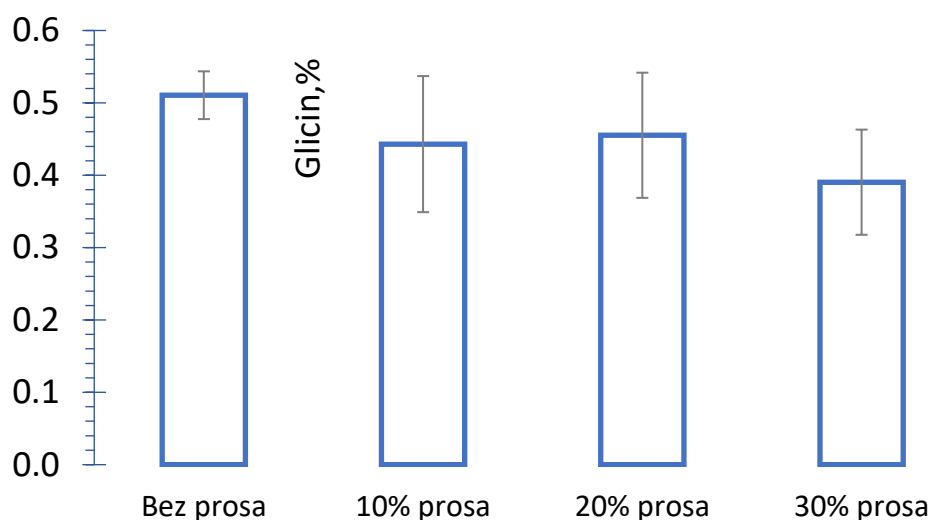


**Slika 50:** Sadržaj treonina u uzorcima dvopeka

**Tabela 28:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za glicin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,511a	0,033	0,017	0,47	0,54	2,365	0,105
D-10-b	0,443a	0,094	0,047	0,35	0,56		
D-20-b	0,455a	0,087	0,035	0,33	0,54		
D-30-b	0,390a	0,073	0,026	0,24	0,47		

Glicin, apolarna amino kiselina sa najmanjim molekulom, može da se adsorbuje na vlaknima. Tabela 28 i Slika 51 pokazuju da uvođenje prosa u sadržaj dvopeka nema uticaja na količinu slobodne amino kiseline.

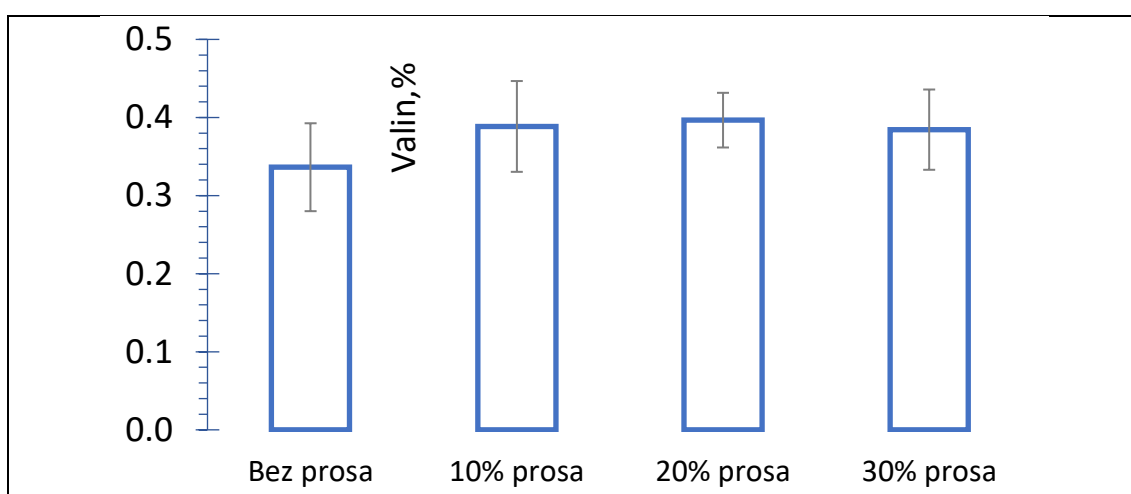


**Slika 51:** Sadržaj glicina u uzorcima dvopeka

Valin je amino kiselina malog molekula koji je apolaran i hidrofoban, i koji se može adsorbovati na vlaknima. Dodatak prosa u recepturu za dvopek ne dovodi do promene njegovog sadržaja (Tabela 29 i slika 52).

**Tabela 29:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za valin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,336a	0,056	0,028	0,26	0,39	1,319	0,299
D-10-b	0,389a	0,058	0,029	0,33	0,47		
D-20-b	0,397a	0,035	0,014	0,35	0,44		
D-30-b	0,384a	0,051	0,018	0,32	0,48		

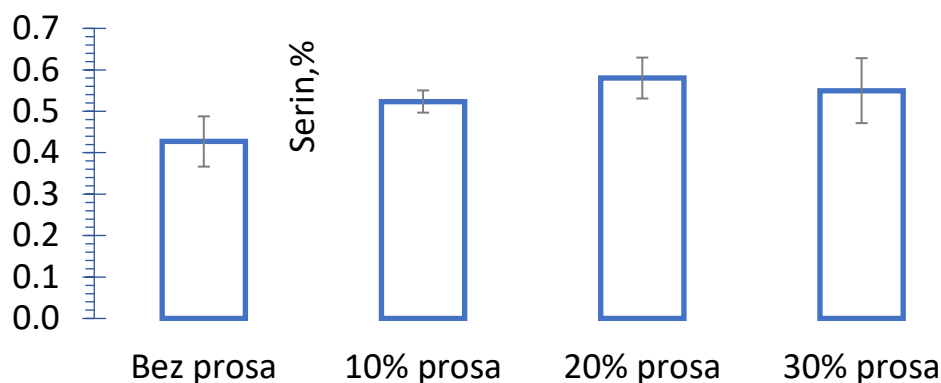


**Slika 52:** Sadržaj valina u uzorcima dvopeka

**Tabela 30:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za serin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,427a	0,061	0,030	0,38	0,52	5,328	0,008
D-10-b	0,524ab	0,027	0,013	0,49	0,56		
D-20-b	0,580b	0,049	0,020	0,51	0,63		
D-30-b	0,550ab	0,078	0,028	0,45	0,66		

Sadržaj slobodnog serina, amino kiseline sa malim reaktivnim molekulom koji sadrži OH grupu raste sa dodatkom prosa, i najveći je za uzorak sa 20% prosa (Tabela 30 i slika 53).

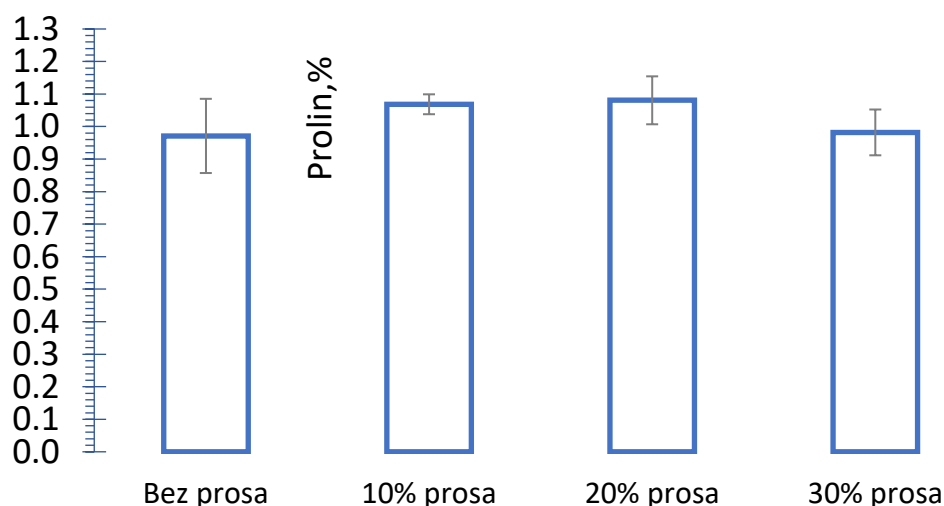


**Slika 53:** Sadržaj serina u uzorcima dvopeka

Dodavanje prosa u dvopeke nije imalo uticaja na sadržaj prolina (Tabela 31 i slika 54).

**Tabela 31:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za prolin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,971a	0,114	0,057	0,86	1,13	3,032	0,056
D-10-b	1,069a	0,031	0,015	1,03	1,10		
D-20-b	1,081a	0,074	0,030	1,01	1,19		
D-30-b	0,982a	0,070	0,025	0,90	1,08		

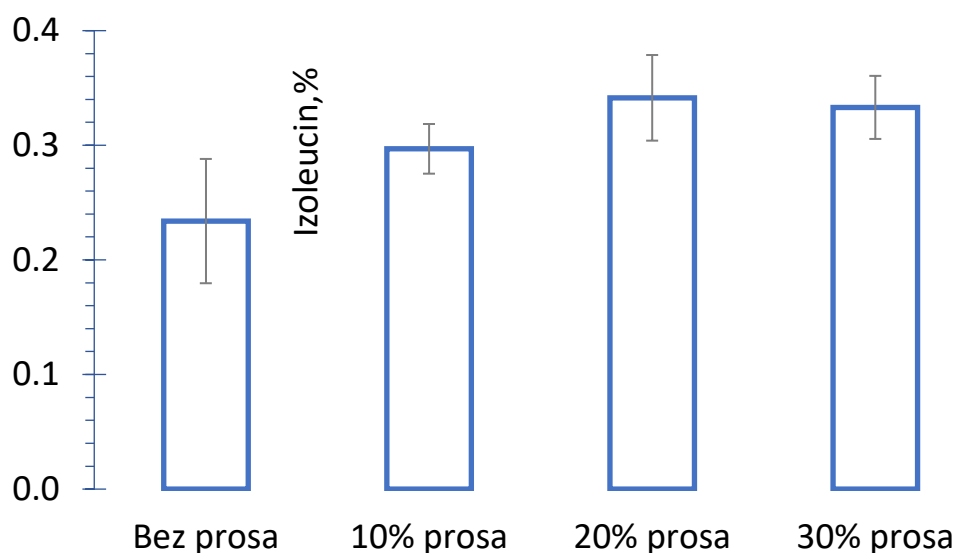


**Slika 54:** Sadržaj prolina u uzorcima dvopeka

Supstitucija pšeničnog brašna onim od prosa, dovodi do porasta količine slobodnog izoleucina. Iz Tabele 32 i sa slike 55 vidi se statistički značajan porast sadržaja ove amino kiseline sa dodatkom brašna od prosa.

**Tabela 32:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za izoleucin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,234a	0,054	0,027	0,18	0,29	9,076	0,001
D-10-b	0,297b	0,022	0,011	0,27	0,32		
D-20-b	0,341b	0,037	0,015	0,30	0,41		
D-30-b	0,333b	0,028	0,010	0,30	0,38		

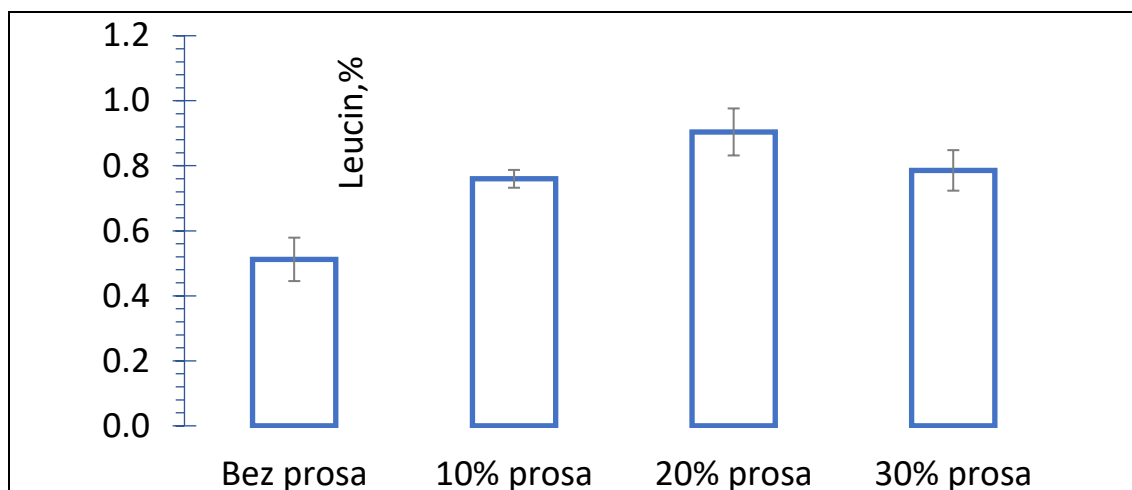
**Slika 55:** Sadržaj izoleucina u uzorcima dvopeka

U slučaju leucina, prisustvo prosa u uzorcima dvopeka dovodi do značajnog porasta sadržaja ove hidrofobne aminokiseline. Iz Tabele 33 i sa Slike 56 vidi se da je najveći sadržaj slobodnog leucina uočen u uzorku D-20-b.

**Tabela 33:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za leucin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,512a	0,067	0,033	0,44	0,58	32,631	0,000
D-10-b	0,760b	0,027	0,014	0,74	0,80		
D-20-b	0,904c	0,072	0,030	0,84	1,03		
D-30-b	0,786b	0,062	0,022	0,69	0,87		



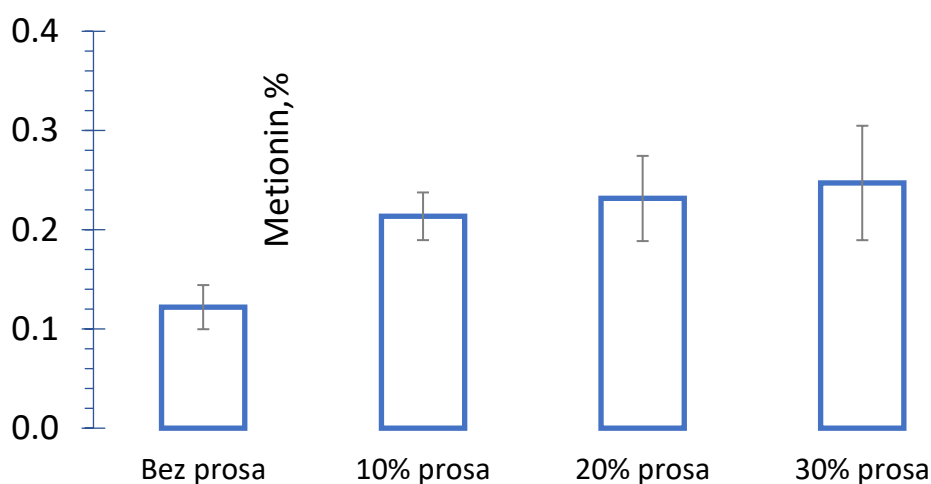


**Slika 56:** Sadržaj leucina u uzorcima dvopeka

Dobijeni rezultati pokazuju da uvođenje prosa u recepturu za dvopek dovodi do povećanja sadržaja metionina, amino kiseline retke u biljnom svetu a koja je sa svojom disulfidnom grupom važna u humanom metabolizmu (Tabela 34 i Slika 57).

**Tabela 34:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za metionin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,122a	0,022	0,011	0,10	0,15	7,476	0,002
D-10-b	0,214b	0,024	0,012	0,19	0,24		
D-20-b	0,232b	0,043	0,018	0,17	0,29		
D-30-b	0,247b	0,058	0,020	0,18	0,34		

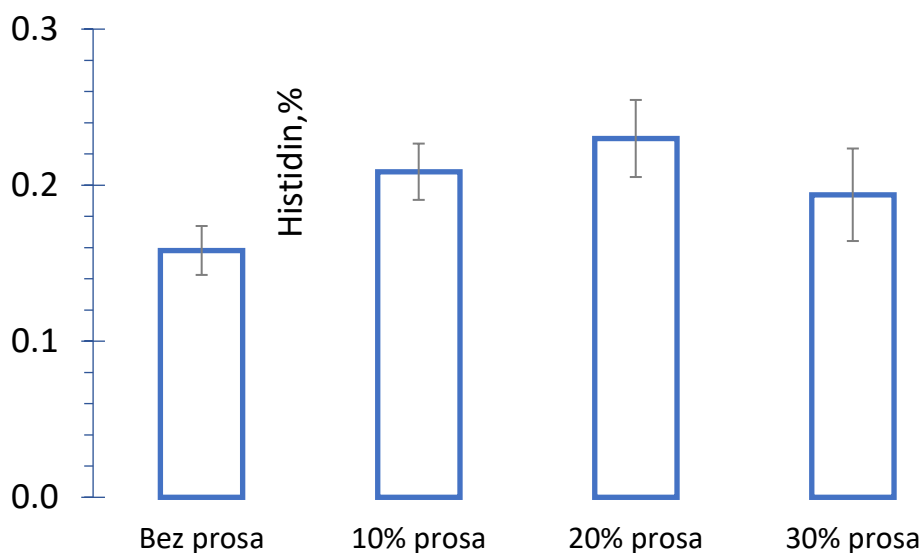


**Slika 57:** Sadržaj metionina u uzorcima dvopeka

Uvođenje prosa u sastav dvopeka dovelo je do povećanja sadržaja još jedne važne amino kiseline – histidina. Molekul histidina je amfoteran, poseduje hidrofilne osobine i reaktivnost. Važno je uočiti da sadržaj slobodnog histidina raste sa porastom procenta prosa, međutim, za uzorak D-30-b, sa 30% brašna od prosa, količina nađenog slobodnog histidina opada (Tabela 35 i Slika 58).

**Tabela 35:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za histidin

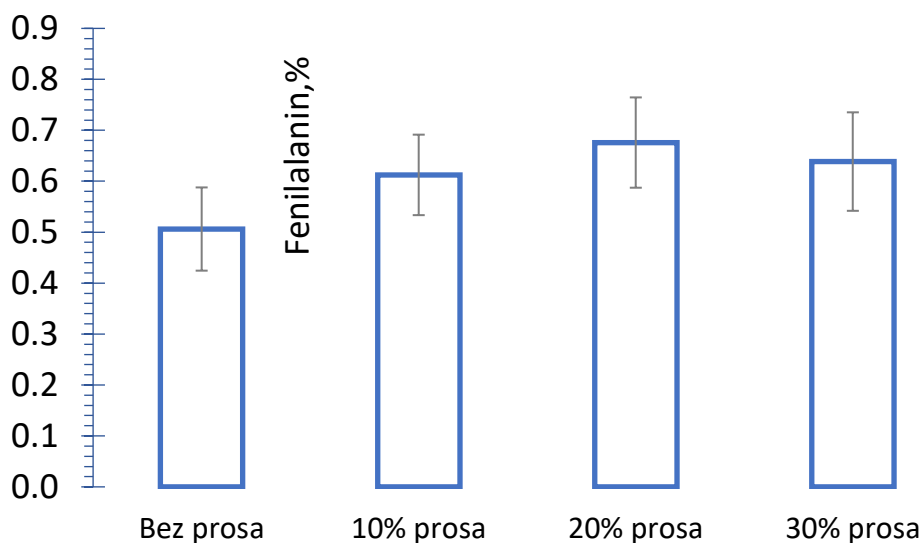
Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,158a	0,016	0,008	0,14	0,17	7,132	0,002
D-10-b	0,209bc	0,018	0,009	0,19	0,23		
D-20-b	0,230c	0,025	0,010	0,20	0,26		
D-30-b	0,194b	0,030	0,010	0,15	0,23		



**Slika 58:** Sadržaj histidina u uzorcima dvopeka

**Tabela 36:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za fenilalanin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,506a	0,082	0,041	0,45	0,63	3,078	0,054
D-10-b	0,612a	0,079	0,040	0,51	0,68		
D-20-b	0,676a	0,089	0,036	0,57	0,79		
D-30-b	0,639a	0,097	0,034	0,48	0,77		

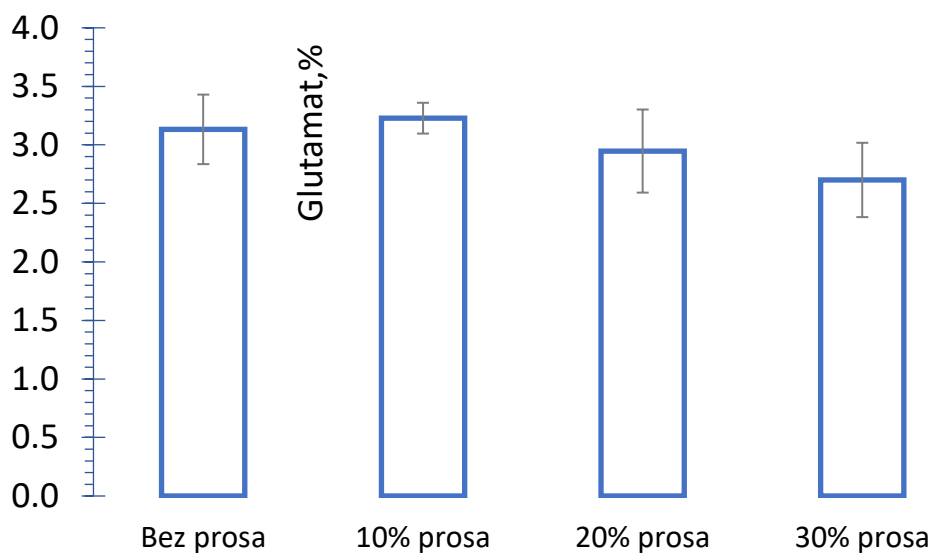


**Slika 59:** Sadržaj fenilalanina u uzorcima dvopeka

U slučaju fenilalanina, prisustvo prosa nema značajnog uticaja na sadržaj ove amino kiseline (Tabela 36 i Slika 59).

**Tabela 37:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za glutamat

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	3,133b	0,297	0,149	2,88	3,49	3,410	0,040
D-10-b	3,228b	0,132	0,066	3,06	3,38		
D-20-b	2,947ab	0,355	0,145	2,43	3,28		
D-30-b	2,700a	0,318	0,112	2,13	2,98		

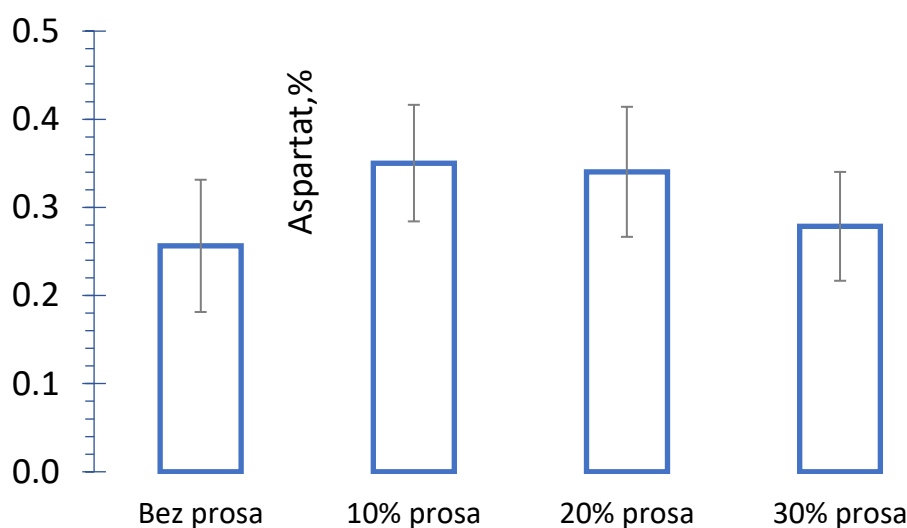


**Slika 60:** Sadržaj glutamata u uzorcima dvopeka

U slučaju glutamata (Tabela 37 i Slika 60) uočeno je smanjenje količine slobodne amino kiseline sa porastom procenta prosa u dvopecima. Ova amino kiselina je hidrofilna, poseduje 2 karboksilne grupe pa je podložan interakcijama sa svim amino kiselinama koje imaju jednu naelektrisanu grupu. Rezultati pokazuju pad detektovanih količina sa porastom sadržaja prosa u dvopecima.

**Tabela 38:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za aspartat

Tretman	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,256a	0,075	0,038	0,16	0,32	2,200	0,123
D-10-b	0,350a	0,066	0,033	0,26	0,42		
D-20-b	0,340a	0,074	0,030	0,25	0,44		
D-30-b	0,278a	0,062	0,022	0,21	0,38		

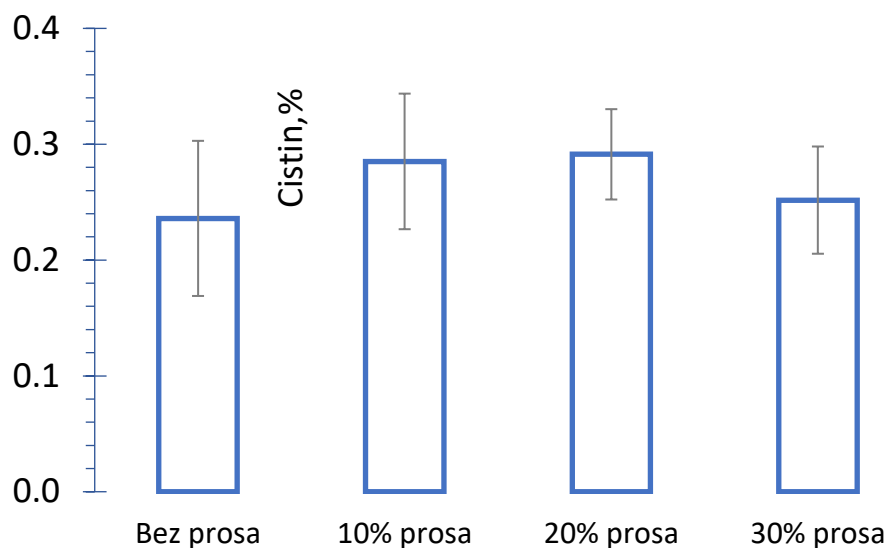


**Slika 61:** Sadržaj aspartata u uzorcima dvopeka

Sadržaj detektovanog aspartata ne zavisi značajno od količine brašna od prosa u dvopecima (Tabela 38 i slika 61).

**Tabela 39:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za cistin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,236a	0,067	0,033	0,15	0,29	1,364	0,286
D-10-b	0,285a	0,059	0,029	0,21	0,34		
D-20-b	0,291a	0,039	0,016	0,25	0,34		
D-30-b	0,252a	0,046	0,016	0,20	0,33		



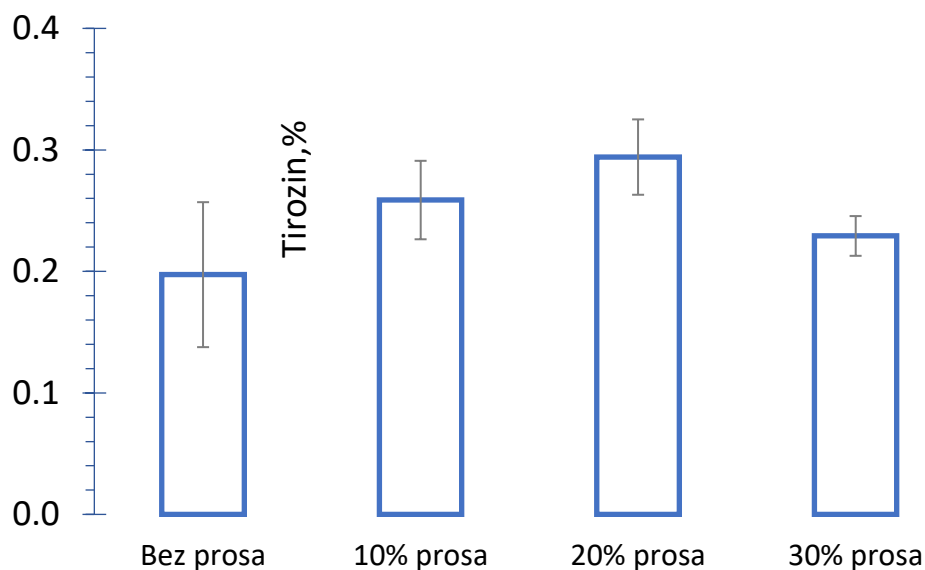
**Slika 62:** Sadržaj cistina u uzorcima dvopeka

Sadržaj cistina, nutritivno značajne amino kiseline malog molekula koji poseduje SH grupu, ne menja se značajno zbog zamene pšeničnog brašna prosom.

**Tabela 40:** Parametri deskriptivne statistike i rezultati jednofaktorske analize varijanse za tirozin

Uzorak	Srednja vrednost	Std. devijacija	Std. greška	Minimum	Maksimum	F količnik	p vrednost
D-0	0,197a	0,060	0,030	0,14	0,27	7,692	0,002
D-10-b	0,259bc	0,032	0,016	0,22	0,30		
D-20-b	0,294c	0,031	0,013	0,25	0,35		
D-30-b	0,229ab	0,016	0,006	0,20	0,25		

Sadržaj tirozina, hidrofobnog molekula koji ima OH grupu vezanu za benzenovo jezgro, raste sa porastom procenta prosa u uzorku, ali za uzorak sa 30% brašna od prosa opada u odnosu na uzorak sa 20% brašna od prosa (Tabela 40 i Slika 63). Ovde je važno napomenuti da je ovakav trend (porast vrednosti za uzorke D-10-b i D-20-b a pad vrednosti za uzorak D-30-b) osim u slučaju tirozina uočen i u slučaju arginina, leucina, histidina i glutamata. Objašnjenje je svakako u interakcijama sa vlaknima kojih u ovom uzorku ima više nego u dvopecima sa manje prosa, ali je od značaja i to što su u proizvodnji ovog dvopeka faze pečenja i sušenja trajale duže nego za uzorke sa manjim sadržajem prosa; što je dodatno dovelo do vezivanja aminokiselina za dugolančane molekula vlakana ili amilopektina.

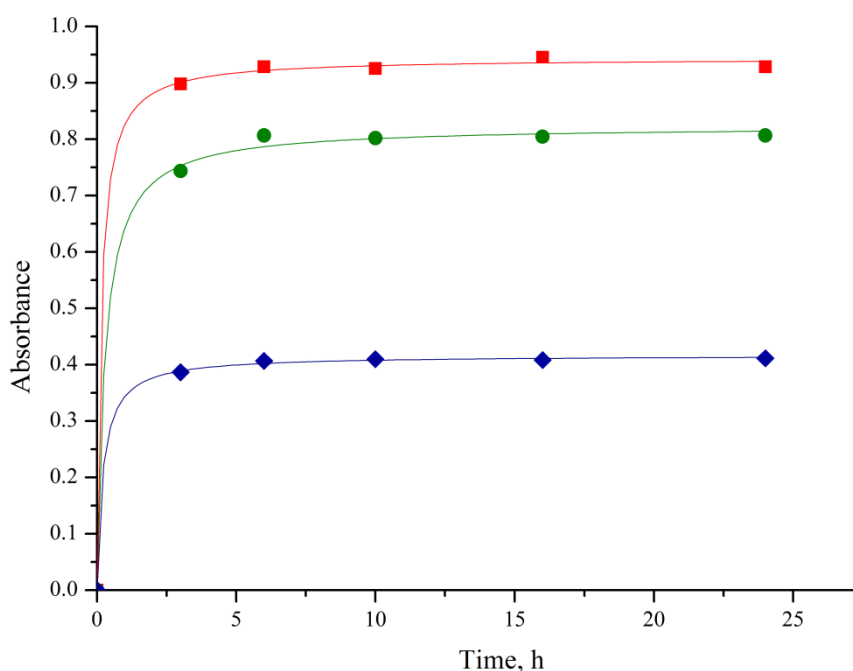


**Slika 63:** Sadržaj tirozina u uzorcima dvopeka

#### 5.3.4. Sadržaj polifenola

##### 5.3.4.1. Određivanje vremena ekstrakcije ogranskim rastvaračima

Vreme trajanja ekstrakcije organskim rastvaračima određeno je kako je opisano u delu 4.2.4.5.1. Ekstrakcija je vršena primenom 3 smeše: etanol (80%) – voda (20%), etanol (70%) – voda (30%), i etanol (70%) – voda (29,5%) – mravlja kiselina (0,5%). Slika 64 prikazuje količinu ekstrahovanih polifenola u funkciji od vremena za sve tri ekstrakcione smeše, primenjene na kontrolnom dvopeku od pšeničnog brašna, D-0. Očigledno je da je ekstrakcija dostigla maksimum nakon približno 10 sati. Međutim, u svrhu praktične organizacije eksperimenata, ekstrakcija je vršena tokom 16 h na 25°C. Takođe je očigledno da je ekstrakcija postaje brža i efikasnija sa povećanjem prisustva polarnijeg rastvarača (vode) u etanolu, a da je najbrža i najefikasnija u slučaju dodavanja mravljne kiseline. Ovakav rezultat je u skladu sa literaturnim podacima, jer veća polarnost ekstrakcionog medijuma kao i dodatak kiseline ne samo da dovodi do istovremene ekstrakcije polifenola različitih molekulskih težina već takođe omogućava kiselu hidrolizu polifenola, odnosno, kidanje veza između polifenola i vlakana, čime se olakšava njihovo “izvlačenje” iz ovih makromolekula, to jest, oslobađanje vezanih polifenola (Adom i Liu, 2002; Arranz i Calixto, 2010; Boeing i saradnici, 2014). Treba takođe istaći da je na ovaj način, osim polifenola moguće ekstrahovati i druge kategorije jedinjenja iz biljnog materijala.



**Slika 64:** Ekstrakcija iz kontrolnog dvopeka (D-0) korišćenje smeša: etanol (80%) – voda (20%) (◆); etanol (70%) – voda (30%) (●) i etanol (70%) – voda (29.5%) – mravlja kiselina (0.5%) (■)

5.3.4.2. Sadržaj polifenola u ekstraktima dobijenim primenom ogranskih rastvarača i primenom in vitro digestije. Antioksidativna aktivnost ekstrakata.

Tabela 41 prikazuje vrednosti ukupnih polifenola ekstrahovanih iz kontrolnog dvopeka primenom 3 različite ekstrakcione smeše. U skladu sa prethodno izloženim, najefikasnija ekstrakcija dobijena je primenom smeše etanola, vode i mravlje kiseline.

**Tabela 41:** Sadržaj rastvorih polifenola ekstrahovanih iz kontrolnog dvopeka (D.0) primenom različitih smeša: etanol (80%) – voda (20%), etanol (70%) – voda (30%) i etanol (70%) – voda (29,5%) – mravlja kiselina (0,5%)<sup>a</sup>

Ekstrakciona smeša	Etanol (80%) – voda (20%)	Etanol (70%) – voda (30%)	Etanol (70%) – voda (29,5%) – mravlja kiselina (0,05%)
Ukupni polifenoli (mg/100 g)	38,11 ± 0,72 <sup>a</sup>	46,42 ± 2,49 <sup>b</sup>	53,66 ± 1,74 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Vrednosti obeležene različitim indeksima su statistički značajno različite (izračunato primenom Tukey testa pri  $p < 0,05$ )

Pošto se ekstrakcija izvršena korišćenjem smeše etanol (70%) - voda (29,5%) - mravlja kiselina (0,5%) pokazala kao najefikasnija, efekat dodavanja brašna od prosa u dvopeke na količinu ekstrahovanih polifenola ispitan je korišćenjem samo

ovog ekstrakcionog medijuma. Da bi rezultati bili izraženi po suvoj masi, prethodno je utvrđen sadržaj vlage u svim uzorcima. On je bio u opsegu 7 do 8% mt (7,66%, 7,56%, 7,39% i 7,19% za D-0, D-10-b, D-20-b i D-30-b, respektivno). Dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 42.

**Tabela 42:** Sadržaj rastvornih polifenola u dvopecima koji sadrže različite procenete brašna od prosa. Vrednosti dobijene ekstrakcijom smešom etanol (70%) - voda (29,5%) - mravlja kiselina (0,5%) (izraženo kao ekvivalenti galne kiseline) <sup>a</sup>

Uzorak	D-0	D-10-b	D-20-b	D-30-b
Ukupni polifenoli (mg/100 g)	53,66 ± 1,74 <sup>a</sup>	56,11 ± 0,72 <sup>a</sup>	48,36 ± 0,38 <sup>b</sup>	48,90 ± 0,13 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Vrednosti obeležene različitim indeksima su statistički značajno različite (izračunato primenom Tukey testa pri  $p < 0,05$ )

Rezultati ukazuju da količine ekstrahovanih polifenola zavise od količine brašna od prosa prisutnog u uzorcima. Međutim, statistički značajan uticaj se vidi samo u slučaju uzorka D-20-b, sa 20% brašna od prosa, kod koga se uočava smanjenje količine polifenola. Ovo je u skladu sa prethodno prikazanim rezultatima (Tabela 21) koji ukazuju da brašno od prosa sadrži manje polifenola od pšeničnog brašna. Iz Tabele 42 se vidi da dalje povećanje sadržaja ovog brašna nema uticaj na sadržaj polifenola.

U ovom radu je utvrđena antioksidativna aktivnost ekstrakata dobijenih tretmanom organskim rastvaračima, primenom DPPH testa. Za razliku od rezultata prikazanih prethodnom tabelom, utvrđene su znatno veće antioksidativne aktivnosti ekstrakata dobijenih od dvopeka sa većim sadržajem brašna od prosa (na nivou  $p < 0,05$ , Tabela 43).

**Tabela 43:** Antioksidativne aktivnosti ekstrakata iz dvopeka dobijenene tretmanom sa etanol (70%) - voda (29,5%) - mravlja kiselina (0,5%) određene DPPH metodom i izražene u  $\mu\text{mol/g}$  Trolox ekuivalenata <sup>a</sup>

Type of rusk	R-0	R-10	R-20	R-30
$\mu\text{mol/g}$ (Trolox equivalents)	1,46 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,71 ± 0,08 <sup>b</sup>	1,86 ± 0,06 <sup>c</sup>	1,47 ± 0,09 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Vrednosti obeležene različitim indeksima su statistički značajno različite (izračunato primenom Tukey testa pri  $p < 0,05$ )

Važno je napomenuti da razlika u sadržaju ukupnih polifenola u dvopecima napravljenim sa ili bez dodavanja brašna od prosa najverovatnije ne proizlazi iz razlike polifenolnog profila. Naime, i u prosu i u pšenici najzastupljenije su p-kumarna, hidroksibenzoeva i ferulna kiselina. Međutim pšenica sadrži oko 3,5 puta



više ukupnih polifenola u poređenju sa prosom (Arranz i Calixto, 2010; Chandrasekara i Shahidi, 2010).

Uočeni nedostatak korelacije između ukupnog sadržaja fenola i antioksidativne aktivnosti može se objasniti prisustvom jedinjenja kao što su tanini i fitinska kiselina (Pushparaj i Urooj, 2014) koja deluju kao antioksidanti i prisutni su u većoj količini u prosu u poređenju sa pšenicom (MacKown i saradnici, 2008). Međutim, slično kao i sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja, dodavanje prosa u količini većoj od 20% rezultiralo je smanjenjem antioksidativne aktivnosti (Tabela 43). Očigledno je da je antioksidativna aktivnost dvopeka koji sadrži 30% brašna od prosa slična antioksidativnoj aktivnosti kontrolnog dvopeka. Ovi rezultati mogu se objasniti činjenicom da dvopeci obogaćeni prosom sadrže veći procenat dijetetskih vlakana i amilopektina u poređenju sa onim proizvedenim samo od pšeničnog brašna. Dakle, dodavanje prosa omogućilo je povećanje procenta polisaharida sa visoko razgranatim molekulima. Formiranje veza između fenolnih jedinjenja i molekula polisaharida već je poznato iz literature (Zhu, 2015). Prisustvo ovih razgranatih molekula doprinosi stvaranju vodoničnih i Van der Waals-ovih veza sa fenolnim jedinjenjima, što objašnjava smanjenje antioksidativne aktivnosti pronađene za D-30-b.

Kao što je već objašnjeno u odeljku 4.2.3.5.2., u ovom radu primenjena je i *in vitro* enzimaska digestija dvopeka da bi iz tako dobijenih ekstrakata takođe bilo izvršeno određivanje sadržaja bioaktivnih komponenti. Da bi ovako dobijeni rezultati bili uporedivi sa onima dobijenim posle ekstrakcije organskim rastvaračima, takođe je izvršena i ekstrakcija smešom etanol (70%) - voda (29,5%) - mravlja kiselina (0,5%) pri tome primenjujući iste uslove temperature, dužine trajanja tretmana kao u slučaju *in vitro* digestije. Takođe, u tim eksperimentima je primenjen isti odnos čvrste i tečne faze kao u *in vitro* digestiji. Dobijeni rezultati koji se odnose na količine izdvojenih polifenola (analize izvršene primenom Folin-Čikalteovog reagensa) prikazani su u Tabeli 44. Za sve ispitivane uzorke, nađeno je da je sadržaj rastvorljivih polifenola znatno veći u ekstraktima dobijenim *in vitro* digestijom, nego u onima dobijenim korišćenjem smeše rastvarača.

**Tabela 44:** Sadržaj rastvornih polifenola dobijen u ekstraktima na dva načina: organskim rastvaračem *in vitro* digestijom (izraženo kao ekvivalenti galne kiseline u mg/100 g suve materije) <sup>a</sup>

Metoda ekstrakcije		
Dvopek	Organski rastvarač	<i>In vitro</i> digestija
D-0	24,6 ± 0,2a	91,1 ± 0,2a
D-10-b	22,7 ± 0,2b	87,2 ± 0,4b
D-20-b	20,7 ± 0,3c	83,2 ± 0,3c
D-30-b	19,9 ± 0,2d	80,1 ± 0,4d

<sup>a</sup> Vrednosti obeležene različitim indeksima su statistički značajno različite (izračunato primenom Tukey testa pri  $p < 0,05$ )

Na ovom mestu treba naglasiti da ostaci aromatičnih aminokiselina koji ostanu u rastvoru nakon enzimske digestije takođe reaguju sa Folin-Čikalte reagensom. Kako je ovaj nedostatak Folin-Čikalte metode poznat, bilo je posebno važno odrediti antioksidantnu aktivnost dobijenih ekstrakta. Rezultati su prikazani u Tabeli 45. Uočava se da su antioksidativne aktivnosti ekstrakta dobijenih digestijom *in vitro* samo 1,06 do 1,16 puta veće od aktivnosti ekstrakta dobijenih ekstrakcijom rastvaračima. Međutim, važno je naglasiti da su ove razlike statistički značajne.

**Tabela 45:** Antioksidativne aktivnosti ekstrakata određene DPPH metodom i izražene u  $\mu\text{mol/g}$  Trolox ekuivalenta<sup>a</sup>

Metoda ekstrakcije		
Dvopeći	Organski rastvarač	<i>In vitro</i> digestija
D-0	0,93 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,08 ± 0,02 <sup>a</sup>
D-10-b	1,07 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,18 ± 0,04 <sup>b</sup>
D-20-b	1,14 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,21 ± 0,03 <sup>c</sup>
D-30-b	1,01 ± 0,01 <sup>d</sup>	1,09 ± 0,04 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Vrednosti obeležene različitim indeksima su statistički značajno različite (izračunato primenom Tukey testa pri  $p < 0,05$ )

U ovom radu, antioksidativna aktivnost ekstrakata *in vitro* digestije procenjena je i primenom ABTS testa. Rezultati su prikazani u Tabeli 46.

**Tabela 46:** Antioksidativne aktivnosti ekstrakata određene ABTS metodom i izražene u procentima inhibicije

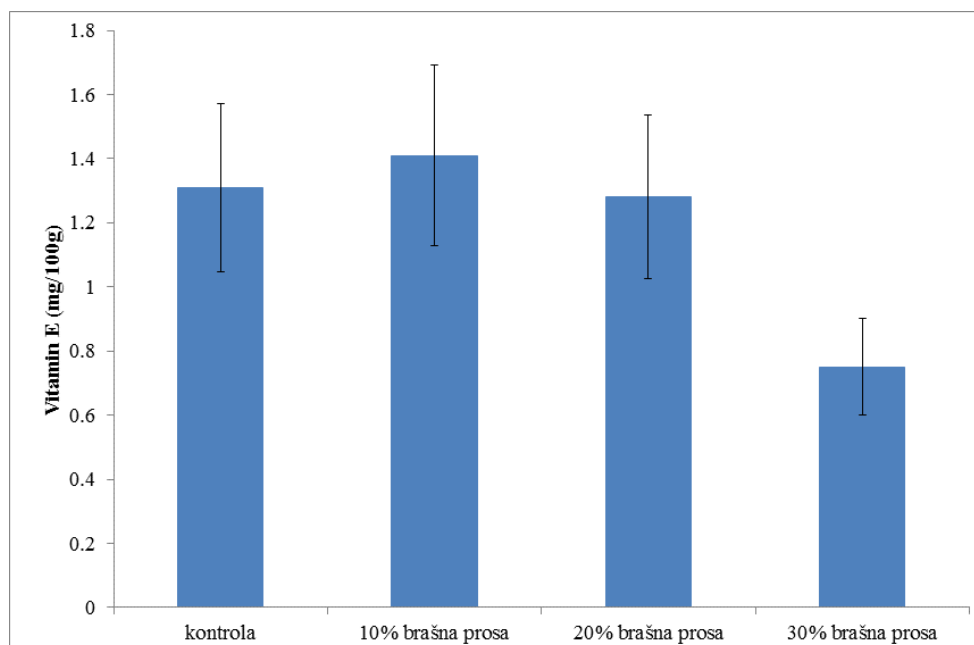
Uzorak dvopeka	Procenat inhibicije	Standardna devijacija
D-0	79,1782	0,0043
D-10-b	80,4940	0,0016
D-20-b	82,6639	0,0023
D-30-b	80,4017	0,0036

Antioksidativne aktivnosti detektovane primenom ABTS• radikala (izraženo u ekvivalentima Trolox-a) su međusobno slične za sve uzorke; stoga se može zaključiti da ovaj radikal nije pogodan za prepoznavanje razlika u antioksidativnoj aktivnosti ispitivanih proizvoda.

Iz prikazanih rezultata se može primetiti da sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja (Tabela 44) i vrednosti antioksidativnih aktivnosti (Tabela 45 i 46) pokazuju da *in vitro* digestija dovodi do nešto veće efikasnosti u ekstrakciji bioaktivnih jedinjenja u poređenju sa ekstrakcijom rastvaračima. Ovi rezultati moguće proističu iz činjenice da se tokom *in vitro* digestivne hidrolize otpuštaju jedinjenja koja doprinose antioksidativnoj aktivnosti ekstrakta, saglasno podacima iz literature (McCarthy i saradnici, 2015). Može se takođe primetiti da DPPH test daje uporedive rezultate o antioksidativnim aktivnostima ekstrakta dobijenih ekstrakcijom rastvarača i *in vitro* digestijom. Nasuprot tome, određivanje ukupnih fenola Folin-Čikatle metodom daje veoma različite rezultate, što se mora tumačiti u svetlu pomenutih nedostataka ove metode. Stoga se ovde može komentarisati da DPPH može biti tretiran kao pouzdaniji, dok se rezultati dobijeni FC metodom mogu uzimati u obzir ali uz rezervu prilikom procene antioksidativnog potencijala hrane i prehrambenih suplemenata.

### 5.3.5. Sadržaj $\alpha$ -tokoferola

Dobijeni rezultati prikazani su Slikom 65.

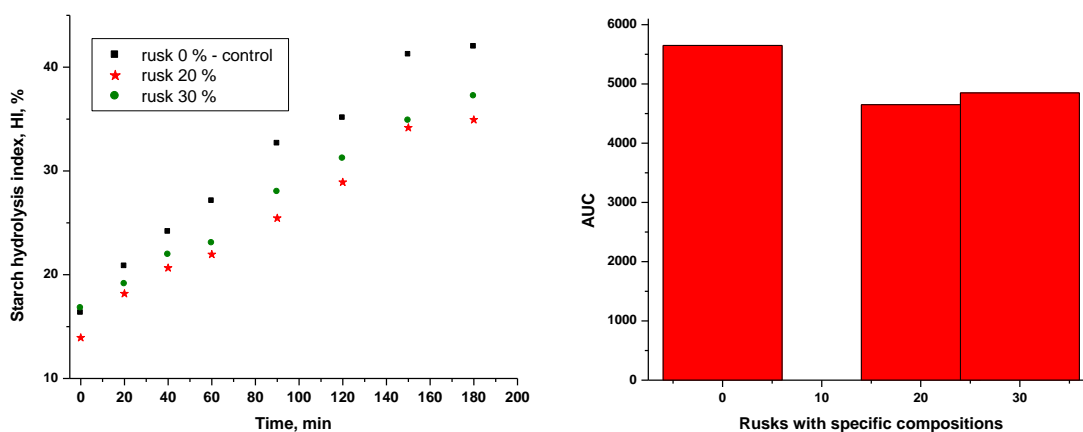


**Slika 65:** Sadržaj  $\alpha$ -tokoferola u uzorcima dvopeka.

Sa slike je očigledno da statistički značajna razlika posotji samo za uzorak D-30-b, koji sadrži manje količine  $\alpha$ -tokoferola. Ovo najverovatnije slično kao i u slučaju aminokiselina i polifenola potiče od interakcija molekula  $\alpha$ -tokoferola sa makromolekulima (vlaknima, skrobovima) koji su različitog sastava u brašnima od prosa i pšenice.

### 5.3.6. Glikemijski indeks

Kako je prethodno objašnjeno u poglavlju 4.2.4.6., glikemijski indeks utvrđen je uzimajući u obzir krive hidrolize skroba u ispitivanim proizvodima. Slika 66 levo pokazuje krive hidrolize za dvopeke D-0, D-20-b I D-30-b; za koje je utvrđeno da slede kinetiku prvog reda, u skladu sa objavljenim literaturnim podacima za enzimsku hidrolizu skroba (*Goni i saradnici, 1997; Ferrer-Mairal i saradnici, 2012*). Uočavaju se promene nastale kao rezultat zamene pšeničnog brašna brašnom od prosa, u vidu smanjenje brzine hidrolize skroba. Ovo postaje očiglednije kada su predstavi kao područja ispod krivih hidrolize (Slika 66, desno).



**Slika 66:** Brzina hidrolize ukupnog skroba (levo). Površine ispod krivih hidrolize skroba posle 180 minuta *in vitro* digestije dvopeka (desno).

Vrednosti glikemijskog indeksa (GI) računati su po jednačini publikovanoj u literaturi (*Ferrer-Mairal, 2012*) i prethodno prikazanoj u poglavlju 4.2.4.6. Vrednosti GI dobijene posle 90 minuta *in vitro* enzimske digestije bile su 41.7, 40.7 i 40.0 za dvopeke D-0, D-20-b i D-30-b, respektivno dok su za iste uzorke posle 180 minuta *in vitro* enzimske digestije dobijene vrednosti 56.8, 46.8 i 50.9.

Dobijeni rezultati ukazuju da dodavanje brašna od prosa dovodi do sporijeg oslobađanja glukoze tokom *in vitro* enzimske digestije. Prethodno je dokazan viši sadržaj dijetetskih vlakana u brašnu od prosa, u odnosu na pšenično brašno. Pozitivni uticaj vlakana na usporavanje oslobađanja glukoze tokom varenja već je objavljen u literaturi (*Björck i Elmstahl, 2003*) pa se može zaključiti da se ovde primećeno snižavanje GI može pripisati prisustvu brašna od prosa u pekarskim proizvodima.

## 6. ZAKLJUČAK

Istraživanja koja su obuhvaćena ovom disertacijom izvršena su u potpunosti prema postavljenim zadacima vezanim za određivanje funkcionalnih i antioksidativnih svojstava trajnih pekarskih proizvoda – dvopeka sa dodatkom prosa (*Panicum miliaceum L.*). U eksperimentima su korišćene sirovine i sredstva fabrike *Aleksandrija Fruška Gora D.O.O.* Istraživanja su bila organizovana u nekoliko delova:

- Karakterizacija brašna od pšenice i brašna od prosa, u smislu određivanja fizičko-hemijskih osobina i ponašanja u zamesu; utvrđivanje reoloških i viskoelastičnih osobina testa;
- Karakterizacija fizičkih osobina dvopeka u kojima je deo pšeničnog brašna zamenjen brašnom od prosa ili zrnom prosa;
- Utvrđivanje senzornih karakteristika dvopeka;
- Detaljna hemijska analiza odabranih dvopeka, u smislu utvrđivanja funkcionalnih osobina kao što su sadržaj bioaktivnih materija i antioksidativne osobine.

Iz dobijenih rezultata se mogu izvesti sledeći zaključci:

Brašno od prosa, specifično već po tome što prirodno ne sadrži gluten, u poređenju sa pšeničnim brašnom pokazuje značajne razlike u sadržaju nekih mikroelemenata, pepela, amilopektina i ukupnih dijetetskih vlakana: značajno veće količine Mg, Fe, Zn i Cu su utvrđene u analiziranim uzorcima, nađene vrednosti Na i K su slične, dok je sadržaj Ca manji od onih nađenih u pšeničnom brašnu. Značajno je istaći da su u brašnu od prosa utvrđene veće količine ukupnih dijetetskih vlakana (7,12% u odnosu na brašno od pšenice 1,86%), pepela i amilopektina.

Rezultati karakterizacije ponašanja pšeničnog brašna i brašna od prosa u zamesu dvopeka proizvedenih sa zamenom pšeničnog brašna brašnom ili zrnom prosa u iznosu od 10%, 20% ili 30 % pokazuju nekoliko specifičnosti.

Farinografska merenja su pokazala dosledno smanjenje absorpcije vode. Kod dodatka brašna od prosa, absorpcija vode je umanjena za 4,1-11,2% dok se kod naparenih celih zrna prosa absorpcija vode smanjuje od 8-18%. Stabilitet testa

takođe pokazuje smanjenje. Step en omekšanja testa za kontrolni uzorak pokazuje vrednost od 50 B.U. Dodavanje brašna od prosa i naparenog zrna prosa u intervalu od 10-20% je izazvalo 40-50% porasta u omekšanju testa; međutim, za uzorke sa 30% prosa u sastavu, dobijene su vrednosti ovih parametara slične kao kod kontrolnog uzorka (dvopeka proizvedenog od pšeničnog brašna).

Parametri ekstenzograma karakterišu viskoelastično ponašanje testa. Uopšteno, dodavanje brašna od prosa ili zrna prosa, je izazvalo smanjenje u jačini testa, odnosno, vrednosti parametara ekstenzograma (energija, otpor, rastezanje) se smanjuju.

U literaturi su poznati podaci o nivou rastezanja testa, koji je neophodan za optimalan prinos volumena. Uočeno je da je brašno prosa imalo veći efekat na smanjenje rastezanje testa, rezultati su u skladu sa literaturnim podacima. Gluten doprinosi većoj rastegljivosti testa ali je kod dvopeka ispitivanih u ovom radu on razređen zamenom dela pšeničnog brašna prosom, što objajava dobijene rezultate. Parametri farinografa i ekstenzografa generalno pokazuju slabljenje strukture testa kao rezultat supstitucije pšeničnog brašna brašnom prosa, što osim razređenije koncentracije glutena može da bude i posledica interakcije polisaharida iz prosa sa pšeničnim proteinima, u skladu sa literaturnim podacima.

MIXOLAB analizom je utvrđeno da su absorpcija vode i termomehaničke karakteristike testa izmenjene suplementacijom sa rastućim dozama prosa posledično zbog više faktora. Jedan od faktora je razblaživanje glutena, što se i očekivalo jer je proso žitarica koja prirodno ne sadrži gluten. Drugi faktor je uticaj i interakcije sa polisaharidima iz prosa koji su specifične strukture.

Testo koje sadrži proso je pokazalo veće vrednosti viskoziteta (C3 vrednost) i (C4) u poređenju sa pšeničnim testom. Stabilnost kuvanja (C4/C3) je bila nešto veća na suplementacionom nivou 30%. Ovo se verovatno pripisuje drugačijim karakteristikama skroba prosa. Povećanja viskoziteta reflektuju jače sile vezivanja unutar unutrašnjosti granula. C3-C4 vrednosti su smanjene tokom suplementacije prosom indukujući postojanje stabilnih gelova i manju podložnost degradaciji amilazom ili je manje aktivan amilazni sistem u odnosu na kontrolno pšenično testo. U ciklusu hlađenja, karakteristična vrednost je C5. C5 vrednosti su bile veće za uzorke sa prosom u poređenju sa pšeničnim testom što znači da je dodavanje prosa

vodilo ka reorganizovanju skrobnih komponenti što može da implicira veću podložnost ka retrogradaciji. Ipak, ukupne promene (C5-C4) nisu pokazale jasan trend retrogradacije izazvane zamene pšeničnog brašna brašnom od prosa.

Rezultati analize teksture dvopeka pokazali su da dvopeci sa prosom lomljiviji i manje tvrdi, posebno kada je proso prisutno u količini od 30%. Slične tendencije ka povećanoj lomljivosti i manjoj tvrdoći su uočene kod dvopeka sa dodatkom naparenog zrna prosa.

SEM slike brašna od prosa jasno pokazuje granule skroba različitih oblika i veličina. Granule skroba kod prosa su ili u okruglastoj ili u poligonalnoj formi, ali najčešće u kombinaciji oba oblika. Veličina skrobnih granula prosa varira u intervalu od 2  $\mu\text{m}$  do 10  $\mu\text{m}$  i značajno su sitnije od granula skroba poreklom iz pšenice.

SEM slike pšeničnog brašna T-400 jasno pokazuju razliku u odnosu na brano od prosa u vidu većih granula skroba dijametara u intervalu od 14  $\mu\text{m}$  do 30  $\mu\text{m}$ , uglavnom okruglastog oblika. Takođe se uočava poseban proteinski matriks (gluten) koji obuhvata granule skroba i ima izgled "gume za žvakanje".

SEM kontrolnog uzorka to jest testa za dvopek od pšeničnog brašna pokazuje izdvojene granule skroba i proteinski matriks koji ih povezuje. Uočava se veći broj granula skroba iz prosa kod SEM testa sa 20% brašna od prosa. Kod snimanja SEM testa sa 30% brašna od prosa uočljiva je razlika u vidu manje "lepljivih" proteinskih struktura, upravo zbog većeg procenta prosa.

U okviru disertacije urađene su i senzorne ocene navedenih proizvoda, gde su najprihvatljiviji rezultati za uzorak dvopeka sa 20% prosa.

U tehnološkom postupku proizvodnje dvopeci sa dodatkom zrna su pokazali veliki nastanak loma i nestandardizovanog proizvoda tako da su ostala ispitivanja vršena na proizvodima dobijenim od pšeničnog brašna i brašna od prosa.

Hemijska analiza dvopeka proizvedenih sa zamenom dela pšeničnog brašna brašnom od prosa, saglasno rezultatima dobijeni za oba brašna, pokazuju da se sa povećanjem procenta brašna od prosa značajno povećavaju sadržaji ukupnih dijetetskih vlakana (7,12% u brašnu od prosa u poređenju sa 1,86% u pšeničnom brašnu) i amilopektina (91,2% u brašnu od prosa u poređenju sa 86,4% u pšeničnom brašnu), što je od značaja za razumevanje rezultata dobijenih u ovom



radu, budući da se radi o makromolekulima koji pokazuju mogućnost interakcija sa fenolnim jedinjenjima, proteinima i aminokiselinama.

U ovom radu urađena je analiza 17 aminokiselina, od kojih su neke veoma važne u metabolizmu (kao na primer arginin, histidin ili metionin). Važan zaključak je da uvođenje prosa u trajni pekarski proizvod dovodi do povećanja sadržaja arginina, treonina, serina, izoleucina, leucina, metionina, histidina i tirozina. Takođe je značajno pomenuti da kod većine ovih aminokiselina pomenuti efekat postoji pri stepenu zamene u procentu od 10 ili 20, dok je veći sadržaj brašna od prosa praćen smanjivanjem relevantne vrednosti. Ovakvo ponašanje pripisuje se interakcijama kojima makromolekuli iz prosa (amilopektin i vlakna) "zarobljavaju" male molekule aminokiselina i onemogućavaju da se ove nađu u slobodnoj formi.

Sadržaj ukupnih polifenola značajno je manji u brašnu od prosa (31,5 mg galne kiseline na 100 g, u odnosu na 66,7 mg galne kiseline na 100 g pšeničnog brašna, pri istim uslovima ekstrakcije). Smanjenje sadržaja polifenola uočava se i kod dvopeka, u skladu sa rezultatom nađenim za sirovinu – brašno od prosa.

Važno je naglasiti da je u ovom radu ekstrakcija bioaktivnih komponenti – polifenola, vršena na različite načine i da je uočeno da apsolutna vrednost sadržaja fenolnih jedinjenja zavisi od načina ekstrakcije, što donosi nemogućnost poređenja rezultata sa literaturnim podacima. Zbog toga je u ovom radu izvršena i ekstrakcija bioaktivnih komponenti metodom *in vitro* enzimske digestije, iako ona nije bila predviđena prijavom disertacije. *In vitro* enzimaska digestija je pogodan način zbog standardizovanih uslova, repetabilnosti, sličnosti sa uslovima u humanom digestivnim traktu. Dobijene vrednosti sadržaja bioaktivnih komponenti značajno su više u ekstraktima dobijenim *in vitro* digestijom. Međutim, važno je napomenuti da, u bilo kojim uslovima da je vršeno izdvajanje fenolnih jedinjenja, njihov sadržaj postaje manji sa povećanjem sadržaja brašna od prosa u proizvodu. Isti zaključak važi i za specifično i biološki važno jedinjenje,  $\alpha$ -tokoferol. Kao i u slučaju esencijalnih aminokiselina ovaj trend objašnjava se interakcijama sa makromolekulima kojih u prosu ima više nego u pšenici – amilopektinu i dijetetskim vlaknima.

U ovom radu je utvrđena antioksidativna aktivnost ekstrakata dobijenih tretmanom organskim rastvaračima, primenom DPPH testa. Za razliku od vrednosti sadržaja

ukupnih fenolnih jedinjenja, utvrđene su znatno veće antioksidativne aktivnosti ekstrakata dobijenih od dvopeka sa većim sadržajem brašna od prosa, mada i ovde treba uočiti da se vrednosti antioksidativne aktivnosti smanjuju kod dvopeka u kome je brašno od prosa prisutno sa 30 procenata. U vezi sa ovim treba naglasiti da je ovaj dvopek zbog svog sastava termički duže tretiran od ostalih, pa je to dodatni razlog da se u slučaju ovog uzorka nalaze manje vrednosti svih bioaktivnih komponenti i biološki važnih parametara.

Evidentno je da ne postoji korelacija između ukupnog sadržaja fenola i antioksidativne aktivnosti. Ovo se može objasniti prisustvom jedinjenja koja djeluju kao antioksidanti i prisutni su u većoj količini u prosu u poređenju sa pšenicom (tanini i fitinska kiselina) a koja imaju ulogu antioksidanata i prisutni su u većoj količini u prosu u poređenju sa pšenicom.

U ovom radu je izvršena procena glikemijskih indeksa proizvedenih dvopeka – kontrolnog i dvopeka sa brašnom od prosa. Ova merenja omogućena su eksperimentima *in vitro* enzimske digestije tokom kojih je moguće pratiti indeks hidrolize skroba, a koji zavisi od zastupljenosti određenih tipova skroba. Opravdano je očekivati da se sa dodatkom prosa, zbog većeg sadržaja amilopektina u odnosu na pšenicu, kao i zbog prisustva vlakana i interakcija između skroba i vlakana, hidroliza skroba odvija sporije. Eksperimentalno je ovo i uočeno, a ovde je važno istaći da se dobijene vrednosti glikemijskih indeksa nalaze ili u oblasti niskih (< 55) ili na granici sa srednjim vrednostima; i takođe da je dodatak prosa u sastav dvopeka doveo do snižavanja vrednosti glikemijskog indeksa.

Na kraju, treba reći da se na osnovu podataka i iskustva prikupljenih tokom izrade ove disertacije ostalim istraživačima može preporučiti da ekstrakciju bioaktivnih komponenti vrše primenom *in vitro* enzimske digestije. U slučaju primene ove metode, i kako se ona uvek primenjuje na isti način, rezultati dobijeni na različitim sistemima mogu biti validno poređeni.

Ovom doktorskom disertacijom otvorena su mnoga pitanja vezana za formiranje funkcionalnih proizvoda kao i za potrebu dodatnih istraživanja u pogledu interakcija u hrani koje evidentno imaju uticaj ne samo na tehnološke karakteristike proizvoda nego imaju i uticaj na ljudski organizam sa više aspekata. Funkcionalna hrana pre svega mora da se kreira i bude kompatibilna sa ljudskim potrebama, pa zato

smatram da su neophodna dalja istraživanja u kojima bi se paralelno sa formiranjem proizvoda, a u okviru njihove karakterizacije radile hemijske analize sadržaja bioaktivnih komponenti u ekstraktima dobijenim *in vitro* digestijom. Na ovaj način bio bi omogućen detaljniji i širi uvid u realni potencijal određenih sirovina za dobijanje funkcionalnih prehrambenih proizvoda. Dalja istraživanja bi se odnosila na formiranje novih funkcionalnih proizvoda bez glutena, kazeina i laktoze na bazi *Panicum miliaceum* L.

## 7. LITERATURA

- 1) Abdel-Aal, E.-S. nycé., Hucl, P., Sosulski, F. W., Graf, R., Gillott, C., and Pietrzak, L. (2001): Screening spring wheat for midge resistance in relation to ferulic acid content. *J. Agric. Food Chem.*, 49:3559–3556.
- 2) Adom, K. K., Liu, R. H. (2002): Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(21), 6182-6187.
- 3) Aggett, J. P., Antoine, J. M., Asp, N. G., Bellisle, F., Contor, L., Cummings, H. J., Howlett, J., Müller, J. G. D., Persin, C., Pijls, T. J. L., Rechkemmer, G., Tuijelaars, S., Verhagen, H. (2005): PASSCLAIM Consensus on Criteria. *European Journal of Nutrition* [Suppl 1] 44: I/5–I/30; DOI 10.1007/s00394-005-1104-3.
- 4) Akasaka, Minato-ku, (2003), Fresco Japan Ltd. Z-22-20-102, Tokyo, Japan. [shimizut@d2.dion.ne.jp](mailto:shimizut@d2.dion.ne.jp)– Pristupljeno jun 2017.
- 5) Alldrick, A. J. (2007): The Bakery: A potential leader in functional food applications. *Functional Food News*. <http://www.functionalfoodnet.eu/images/site/assets/5-bread.pdf>.
- 6) Alonso, R., Aguirre, A., & Marzo, F. (2000): Effect 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.
- 7) Alves, J. M., Ferreira, R. F. C. I., Froufe, C. J. H., Abreu, V. M. R., Martins, A., and Pintado, M. (2013): Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. *Journal of Applied Microbiology* 115, 346-357.
- 8) Amadou, I., Gounga, M. E., and Le, G. W. (2013): Millets: nutritional composition, some health benefits and processing-A review. *Emirates J. Food Agric.* 25, 501–508.
- 9) Ameratunga, R., Crooks, C., Simmons, G., Woon, S. T. (2016): Health Risks and Adverse Reactions to Functional Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56(2):318–325.
- 14) Andreescu, S., Hepel, M. (2011): Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy. In: Sen, S., Chakraborty, R. (2011): *The Role of Antioxidants in Human Health*; American Chemical Society, Washington, DC; Oxford University Press 1-37.
- 15) Anguita, M., Gasa, J., Martín-Oru'e, 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.

- 16) Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schaich, K. M., Özyürek, M., Güçlü, K. (2013): *Pure Appl. Chem.*, 2013, 85, 957–998.
- 17) Arier, H., Patz, B., and Schimmel, K. C. (1990): Klinische Studie mit einem Phytopharmakon zur Behandlung von Mikrozirkulationsstörungen. *Arztezeitung* 31:819–826.
- 18) Arranz, S., Calixto, S. F. (2010): Analysis of polyphenols in cereals may be improved performing acidic hydrolysis: A study in wheat flour and wheat bran and cereals of the diet hydrolysates. Results are expressed as mean value ± standard deviation. *Journal of Cereal Science* 51, 313-318.
- 19) Aruoma, O.I. (1996): Assessment of potential prooxidant and antioxidant actions. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73:1617-1625.
- 20) Atwell, W. A. (1998): Method for reducing syringing in refrigerated doughs. Patent application 1998; WO 97/26794.
- 21) Atwell, W. A., Hood, L. F., Lineback, D. R., Varriano-Marston, E., Zobel, H. F. (1988): The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World* 33:306–311.
- 22) Ávila, J. M., Beltrán, B., Cuadrado, C., del Pozo, S., Rodríguez, M. V., Ruiz, E. (2007): Características nutricionales de los principales alimentos de nuestra dieta. *La Alimentación Española*, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- 23) Babio, N., Balanza, R., Basulto, J., Bullo, M., Salas-Salvado, J. (2010): Dietary fibre: influence on body weight, glycemic control and plasma cholesterol profile. *Nutr Hospital* 25:327–340.
- 24) Bail, S., Stuebiger, G., Krist, S., Unterweger, H., Buchbauer, G. (2008): Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chem.* 108:1122–113.
- 25) Baltensperger, D. D. (2002): Progress with proso, pearl and other millets, in *Trends in New Crops and New Uses*. eds J., Janick, and A., Whipkey, (Alexandria: ASHS Press), 100–103.
- 26) Baranowski, D. J., Nagel, W. C. (1984): Antimicrobial and Antioxidant Activities of Alkyl Hydroxycinnamates (Alkacins) in Model Systems and Food Products. *Canadian Institute of Food Science and Technology* Vol. 17, No. 2, pp.079-085.

- 27) Beleia, A. E., Varriano-Marston, E., & Hosney, R. C. (1980): Characterization of starch from pearl millets. *Cereal Chem.* 57, 300-303.
- 28) Belitz, H-D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009): Cereals and cereal products. In: Belitz, H-D., Grosch, W., Schieberle, P. (Eds.), *Food chemistry*, 4th edn. Springer, Berlin, pp.670–675.
- 29) Bhattarai, R. R., Dhital, S., Gidley, J. M. (2016): Interactions among macronutrients in wheat flour determine their enzymic susceptibility. *Food Hydrocolloids* 61:415e425.
- 30) Björck, I., Elmstahl, L. H. (2003): The glycaemic index: importance of dietary fibre and other food properties. *Proceedings of the Nutrition Society* 62:201–206.
- 31) Boeing, S. J., Barizão, O. É., Costa e Silva, B., Montanher, F. P., Almeida, C. V., J. Visentainer, V. J. (2014) : *Chem. Cent. J.* 8:48.
- 32) Boivin, M., Flourie, B., Rizza, R. A., Go, V. L., & DiMaggio, E. P. (1988): Gastrointestinal and metabolic effects of amylase inhibition in diabetics. *Gastroenterology*, 94, 387-394.
- 33) Bouis, H. E. (2000): Enrichment of food staples through plant breeding: a new strategy for fighting micronutrient malnutrition. *Nutrition* 16:701–704.
- 34) Branca, F., Ferrari, M. (2002): Impact of micronutrient deficiencies on growth: The stunting syndrome. *Ann. Nutr. Metab.* 46:8–17.
- 35) Bravo, L. (1998): Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56, 317–333.
- 36) Bravo, L., Siddhuraju, P., Saura-Calixto, F. (1998): Effect of various processing methods on the in vitro starch digestibility and resistant starch content of Indian pulses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 4667-4674.
- 37) Breitenbach, M., Eckl, P. (2015): Introduction to Oxidative Stress in Biomedical and Biological Research. *Biomolecules* 5:1169-1177.
- 38) Brennan, C. S., Blake, D. E., Ellis, P. R., & Schofield, J. D. (1996): Effects of guar galactomannan on wheat bread microstructure and on the in vitro and in vivo digestibility of starch in bread. *Journal of Cereal Science*, 24, 151-160.
- 39) Brennan, C. S., Cleary, L. J. (2005): The potential use of cereal (1→3, 1→4)-β-D-glucans as functional food ingredients. *Journal of Cereal Science* 42:1-13.
- 40) Briggs, D. E. (1978): *Barley*. Chapman & Hall, New York, NY, 128.

- 41) Bruijn, J. de, Loyola, C., Aqueveque, P., Cañumir, J., Cortéz, M., France, A. (2009): Antioxidant properties of extracts obtained from *Grifola garga* mushrooms. *Micologia Aplicada International* 21(1):11-18.
- 42) Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., Ball, S. (1998): Starch granules: structure and biosynthesis. *Int J. Biol Macromol* 23:85–112.
- 43) Capriles, V. D., Coelho, K. D., Guerra-Matias, A. C., & Areas, J. A. G. (2008): Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *Journal of Food Science* 73, H160-H164.
- 44) Ceccarelli, S., and Grando, S. (1996): Drought as a challenge for the plant breeder. *Plant Growth Regul.* 20, 149–155.
- 45) Ceci, L. N., and Carelli, A. A. (2010): Relation between oxidative stability and composition in Argentinian olive oils. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 87:1189–1197.
- 46) Chaisawang, M., Supphantharika, M. (2005): Effects of guar gum and xanthan gum additions on physical and rheological properties of cationic tapioca starch. *Carbohydrate Polymers* 61, 288-295.
- 47) Chandrasekara, A., Shahidi, F. (2011): Determination of antioxidant activity in free and hydrolyzed fractions of millet grains and characterization of their phenolic profiles by HPLC– DAD-ESI-MS<sup>n</sup>. *Journal of Functional Foods* 3:144–158.
- 48) Chandrasekara, A., Shahidi, F. (2012): Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated *in vitro* digestion and microbial fermentation. *Journal of Functional Foods* 4 (2012) 226-237.
- 49) Changmei, S., and Dorothy, J. (2014): Millet-the frugal grain. *Int. J. Sci. Res. Rev.* 3, 75–90.
- 50) Choi, S. J., Woo, H. D., Ko, S. H., & Moon, T. W. (2008): Confocal scanning laser microscopy to investigate the effect of sodium bisulfite on *in vitro* digestibility of waxy sorghum flour. *Cereal Chemistry* 85, 65-69.
- 51) Cicco, N., Lanorte, T. M., Paraggio, M., Viggiano, M., and Lattanzio, V. (2009): A reproducible, rapid and inexpensive Folin-Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. *Microchem. J.* 91 (2009) 107–110.
- 52) Clifford, M. N. (1999): Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79(3), 362-372.
- 53) Clydesdale, F. (2004): Functional Foods: Opportunities and Challenges. *Food technology* 58(12):35-40.

- 54) Clydesdale, F. M. (1998): Science, education and technology: Newfrontiers for health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38: 397-419.
- 55) Colonna, P., Buléon, A. (1992): New insights on starch structure and properties. In: Cereal chemistry and technology: a long past and a bright future. In: Proceedings of the 9th international cereal and bread congress, 1992, Paris, France, Institut de Recherche Technologique Agroalimentaire des Céréales (IRTAC), Paris, France, pp. 25–42.
- 56) Courtin, C. M., Gelders, G. G., Delcour, J. A. (2001): The use of two endoxylanases with different substrate selectivity provides insight into the functionality of arabinoxylans in wheat flour breadmaking. *Cereal Chem* 78:564–571.
- 57) Courtin, C. M., Roelants, A., Delcour, J. A. (1999): Fractionation-reconstitution experiments provide insight into the role of endoxylanases in bread-making. *J. Agric Food Chem* 47:1870–1877.
- 58) Crassina, A., Gupta, S. S., & Rao, V. G. (2012): Effect of native and germinated finger millet flour on rheological and sensory characteristics of biscuits. *International Journal of Food Science and Technology* 47:2413–2420.
- 59) Crowe, T. C., Seligman, S. A., & Copeland, L. (2000): Inhibition of enzymic digestion of amylose by free fatty acids in vitro contributes to resistant starch formation. *Journal of Nutrition* 130, 2006-2008.
- 60) Database Uni Prot KB/TREMBL. <http://pir.georgetown.edu> – Pristupljeno jun, 2017.
- 61) Davidson, Alan. (1999): *Oxford Companion to Food*. Oxford University Press: Oxford. (p.676).
- 62) De Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W. C. A., and Manley, M. (2002): Phenolic Compounds: A Review of Their Possible Role as *In Vivo* Antioxidants of Wine. *S. Afr. J. Enol. Vitic*, Vol. 23, No. 2.
- 63) Delcour, J. A., Hosney, R. C. (2010): *Principles of cereal science and technology*. 3rd edn. AACC International, Inc, St. Paul, pp.40–85.
- 64) Delgado-Andrade, C., Conde-Aguilera, J. A., Haro, A., de la Cueva, S. P., Rufian-Henares, J. A. (2010): A combined procedure to evaluate the global antioxidant response of bread. *J. Cereal Sci.* 52, 239–246.
- 65) Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., Lele, R. D. (2004): Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *Journal of the Association of Physicians of India* 52:794-804.



- 66) Devi, P. B., Vijayabharathi, R., Sathyabama, S., Malleshi, N. G., and Priyadarisini, V. B. (2014): Health benefits of finger millet (*Eleusinecoracana* L.) polyphenols and dietary fiber - A review. *J. Food Sci. Technol.* 51, 1021–1040.
- 67) Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements. Institute of Medicine's Food and Nutrition Board. usda.gov – Pristupljeno jun, 2017.
- 68) Diplock, A. T., Aggett, P. J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E. B., Roberfroid, M. B. (1999): Specific concepts of functional foods in Europe: Concensus document. *British Journal of Nutrition* 81(suppl. 1): S1-S27.
- 69) Droge, W. (2002): Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, vol. 82(1):47–95.
- 70) Dreher, M. L., Dreher, C. J., & Berry, J. W. (1984): Starch digestibility of foods: a nutritional perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 20, 47e71.
- 71) Durazzo, A., Casale, G., Melini, V., Maiani, G., Acquistucci, R. (2015): Evaluation of Antioxidant Properties in Cereals. Study of Some Traditional Italian Wheats *Foods* 4, 391-399.
- 72) Durkee, A. B. (1977): Polyphenols of the bran-aleurone fraction of buckwheat seed (*Fagopyrum sagitatum*. Gilib). *J. Agric. Food Chem.* 25:286–287.
- 73) Duthie, G.G., Duthie, S., Kyle, J. (2000): Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutrition Research Reviews* 13:79-106.
- 74) Dykes, L., Rooney, L. W. (2006): Sorghum and millet phenols and antioxidants. *J. Cereal Sci.* 44:236.
- 75) Đaković, Lj. (1997): Pšenično brašno. Tehnološkifakultet, Novi Sad.
- 76) Đorđević, Đ. V. (1948): Posebno ratarstvo. Naučnaknjiga, Beograd poglavlje I: 1-4.
- 77) Đukić, M., Ninković M., Jovanović M. (2008): Oxidative stress - clinical diagnostic significance. *JMB*, 27: 409–425.
- 78) Đukić, M., Ninković, M., Jovanović, M. (2008): Oxidative stress- clinical diagnostic significance. *Journal of Medical Biochemistry* 27: 409–425.
- 79) El-Basyouni, S., and Towers, G. H. N. (1964): The phenolic acids in wheat. 1. Changes during growth and development. *Can. J. Biochem.* 42:203–210.
- 80) Eliasson, A-C., Gudmundsson, M. (1996): Starch: physicochemical and functional aspects. In: Eliasson, A-C. (Eds.), *Carbohydrates in food*. Marcel Dekker, Inc, New

York, pp.431–503.

- 81) Eliasson, A-C., Larsson, K. A. (1993): Molecular colloidal approach. In: Cereals in breadmaking. Marcel Dekker, Inc, New York.
- 82) Ellis, P. R., Roberts, F. G., Low, A. G., & Morgan, L. M. (1995): The effect of high-molecular-weight guar gum on net apparent glucose absorption and net apparent insulin and gastric inhibitory polypeptide production in the growing pig: relationship to rheological changes in jejunal digesta. *British Journal of Nutrition* 74, 539e556.
- 83) Englyst, H. N., Wiggins, H. S., Cummings, J. H. (1982): Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst* 107:307–318.
- 84) Englyst, K. N., Englyst, H. N., Hudson, G. J., Cole, T. J., & Cummings, J. H. (1999): Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glycemic response. *American Journal of Clinical Nutrition* 69, 448-454.
- 85) Englyst, K. N., Kingman, S. M., & Cummings, J. H. (1992): Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition* 46, S33-S50.
- 86) *European Journal of Nutrition* 51, 947-954.
- 87) Ezeogu, L. I., Duodu, K. G., Emmanbux, M. N., & Taylor, J. R. N. (2008): Influence of cooking conditions on the protein matrix of sorghum and maize endosperm flours. *Cereal Chemistry* 85, 397e402.
- 88) Faller, A. L. K., Fialho, E. (2010): Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *J. Food Compos. Anal.* 23:561–568.
- 89) Fang, Y. Z., Yang, S., Wu, G. (2002): Free Radicals, Antioxidants and Nutrition. *Nutrition*, 18:872– 879.
- 90) FAO/WHO (1998) Expert consultation. FAO Food Nutr Pap 66:1–140, Poglavlje 5.
- 91) FAO/WHO (1998) Expert consultation. FAO Food Nutr Pap 66:1–140.
- 92) FAO/WHO/UNU (2007): Protein and amino acid requirements in human nutrition (pdf). WHO Press., page 150.
- 93) Fardet, A. (2010): New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: What is beyond fibre? *Nutrition Research Reviews* 23(1), 65–134.

- 94) Fardet, A. (2015): A shift toward a new holistic paradigm will help to preserve and better process grain products' food structure for improving their health effects. *Food and Function* 6:363-382.
- 95) Fardet, A., Leenhardt, F., Lioger, D., Scalbert, A., and Remesy, C. (2006): Parameters controlling the glycaemic response to breads. *Nutrition Research Reviews* 19,18–25.
- 96) Fausch, H., Kündig, W., Neukom, H. (1963): Ferulic acid as a component of a glycoprotein from wheat flour. *Nature* 199:287.
- 97) FDA regulation: Frequently Asked Questions About Medical Foods; Second Edition Guidance for Industry. <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ucm054048.htm> - pristupljeno 13.04.2018.
- 98) Fern, E. (2007): Marketing of functional foods: A point of view of the industry. International developments in science and health, ILSI international symposium on functional foods in Europe.
- 99) Ferrer-Mairal, A., Penalva-Lapuente, C., Urtasun, L., Cortes, E., De Miguel-Etayo, P., Iglesia, I., Remon, S., Cortes, E., Moreno, A. L. (2012): In vitro and in vivo assessment of the glycemic index of bakery products: influence of the reformulation of ingredients.
- 100) Fiehn, O. (2002): Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes. *Plant Mol Biol* 48:155–171.
- 101) Figueroa-Espinoza, M. C., Rouau, X. (1998): Oxidative crosslinking of pentosans by a fungal laccase and horseradish peroxidase: mechanism of linkage between feruloylated arabinoxylans. *Cereal Chem* 75:259–265.
- 102) Food and Agriculture Organization of the United Nations (2012) FAOSTAT Database. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>.
- 103) Foschia, M., Horstmann, S., Arendt, E., Zannini, E. (2016): Nutritional therapy e facing the gap between coeliac disease and gluten-free food. *Int. J. Food Microbiol.* 239, 113-124.
- 104) Foster-Powell, K., Holt, A. H. S., and Brand-Miller, C. J. (2002): International table of glycemic index and glycemic load values. *Am J Clin Nutr* 2002:76:5–56.
- 105) *Free Radical Biology & Medicine* Vol. 26, Nos. 9/10, pp. 1231–1237.
- 106) Freeman, J. E., Bocan, B. J. (1973): Pearl millet: a potential crop for wet milling. *Cereal Sci. Today*, 16, 69-73.

- 107) Frei, M., Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003): Studies on the in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. *Food Chemistry* 83, 395-402.
- 108) *Frontiers in Plant Science* 2017 | Volume 7 | Article 1961.
- 109) Fulcher, R. G. (1982): Fluorescence microscopy of cereals. *Food Microstruct.* 1:167–175.
- 110) Fulcher, R. G., O'Brien, T. P., and Lee, J. (1972): Studies of the aleurone layer. I. Conventional and fluorescence microscopy of the cell wall with emphasis on phenol carbohydrate complexes in wheat. *Aust. J. Biol. Sci.* 25:23–24.
- 111) Fuller, D. Q. (2006): *A Millet Atlas: Some Identification Guidance*. London: University College London.
- 112) Gan, Z., Ellis, P. R., Schofield, J. D. (1995): Mini review: gas cell stabilisation and gas retention in wheat bread dough. *J Cereal Sci* 21:215–230.
- 113) Gelders, G. G., Duyck, J. P., Goesaert, F., & Delcour, J. A. (2005): Enzyme and acid resistance of amylose-lipid complexes differing in amylose chain length, lipid and complexation temperature. *Carbohydrate Polymers* 60, 379e389.
- 114) Goesaert, H., Brijs, C., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., Delcour, J. A. (2005): Wheat constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends Food Sci. Tech.* 16:12–30.
- 115) Golden, M. H. N. (1991): The nature of nutritional deficiency in relation to growth failure and poverty. *Acta Paediat. Scand.* 374:95–110.
- 116) Goni, I., Garcia-Alonso, A., & Saura-Calixto, F. (1997): A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research* 17(3), 427–437.
- 117) Grabber, J. H., Ralph, J., and Hatfield, R. D. (2000): Cross-linking of maize walls by ferulate dimerization and incorporation into lignin. *J. Agric. Food Chem.* 48:6106–6113.
- 118) Graham, R., Senadhira, D., Beebe, S., Iglesias, C., Monasterio, I. (1999): Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: Conventional approaches. *Field Crop. Res.* 60:57–80.
- 119) Granfeldt, Y., Bjorck, I., Drews, A., & Tovar, J. (1992): An in vitro procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products. *European Journal of Clinical Nutrition* 46(2), 649–660.

- 120) Gray, G. M. (1992): Starch digestion and absorption in nonruminants. *Journal of Nutrition* 122, 172e177.
- 121) Gupta, S., Shrivastava, S. K., and Shrivastava, M. (2014): Proximate composition of seeds of hybrid varieties of minor millets. *Int. J. Res. Eng. Technol.* 3, 687–693.
- 122) Habiyaremy, C., Matanguihan, B. J., Guedes, D. A. J., Ganjyal, M. G., Whiteman, R. M., Kidwell, K. K., Murphy, M. K. (2017): Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) and Its Potential for Cultivation in the Pacific Northwest, U.S.: A Review. *Frontiers in Plant Science*, Volume 7, Article 1961.
- 123) Hakala, P., Lampi, A.-M., Ollilainen, V., Werner, U., Murkovic, M., Wähälä, K., Karkola, S., and Piironen, V. (2002): Steryl phenolic esters in cereals and their milling fractions. *J. Agric. Food Chem.* 50:5300–5307.
- 124) Halliwell, B., Whiteman, M. (2004): Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology* 142:231–255.
- 125) Hamaker, B. R., Bugusu, B. A. (2003): Overview: sorghum proteins and food quality. Pretoria, South Africa: Paper presented at the Workshop on the proteins of sorghum and millets: enhancing nutritional and functional properties for Africa [CD].
- 126) Harborne, J. B., Baxter, H., Moss, G. P. (Eds.). (1999): *Phytochemical dictionary: Handbook of bioactive compounds from plants* (2nd ed.). London: Taylor & Francis.
- 127) He, Q., Lv, Y., & Yao, K. (2006): Effects of tea polyphenols on the activities of  $\alpha$ -amylase, pepsin, trypsin and lipase. *Food Chemistry* 101, 1178e1182.
- 128) Health claims on functional foods: the Japanese regulations and an international comparison. 2003 Dec, 16(2):241-52.
- 129) Heimler, D., Vignolini, P., Isolani, L., Arfaioli, P., Ghiselli, L., Romani, A. (2010): Polyphenol Content of Modern and Old Varieties of *Triticum aestivum* L. and *T. durum* Desf. Grains in Two Years of Production. *J. Agric. Food Chem.* 58:7329–7334.
- 130) Heitmann, T., Wenzig, E., & Mersmann, A. (1997): Characterisation of three different potato starches and kinetics of their enzymatic hydrolysis by an  $\alpha$ -amylase. *Enzyme and Microbial Technology* 20, 259e267.
- 131) Hilliam, M. (1998): The market for functional foods. *International Dairy Journal* 8:349-353.
- 132) Hizukuri, S. (1986): Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins and its significance. *Carbohydr Res* 147:342–347.

- 133) Hizukuri, S. (1996): Starch: analytical aspects. In: Eliasson, A-C. (Eds.), Carbohydrates in food. Marcel Dekker, Inc, New York pp.347–429.
- 134) Hizukuri, S., Takeda, Y., Yasuda, M. (1981): Multi-branched nature of amylose and the action of debranching enzymes. Carbohyd Res 94:205–213.
- 135) Holm, J., Bjorck, I., Ostrowska, S., Eliasson, A., Asp, N., Larsson, K., et al. (1983): Digestibility of amylose-lipid complexes in vitro and in vivo. Starch 35, 294e297.
- 136) Hoover, R., Swamidas, G., Kok, L. S., Vasanthan, T., (1996): Composition and physicochemical properties of starch from pearl millet grains. Food Chemistry 56, 4, 355-367.
- 137) Hopia, A. (2006): BENECOL (and CAMELINA) – Double benefit for heart. In: Proceedings of the third functional food net meeting.
- 138) Hoseney, R. C. (1994): Principles of cereal science and technology, 2nd edn. AACC, St. Paul, pp.81–101, and 229–273.
- 139) <http://www.diabetes.org/food-and-fitness/food/what-can-i-eat/understanding-carbohydrates/glycemic-index-and-diabetes.html> - pristupljeno 28.04.2018.
- 140) Hu, P., Zhao, H., Duan, Z., Linlin, Z., & Wu, D. (2004): Starch digestibility and the estimated glycemic score of different types of rice differing in amylose contents. Journal of Cereal Science 40, 231e237.
- 141) Hulse, J. H., Laing, E. M., and Pearson, O. E. (1980): Sorghum and the Millets: Their Composition and Nutritive Value. London: Academic Press, 187–193.
- 142) Hung, V. P. (2016): Phenolic Compounds of Cereals and Their Antioxidant Capacity. Crit Rev Food Sci Nutr.56(1):25-35.
- 143) Hur, J. S., Lim, O. B., Decker, A. E., McClements, J. D. (2011): *In vitro* human digestion models for food applications. Food Chemistry 125, 1-12.
- 144) Hurrell, R. F. (2000): Modifying the composition of plant foods for better human health. Crop Science: Progress and Prospects; Proceedings of the Third International Crop Science Congress; Hamburg, Germany, 17–22 August 2000, pp. 53–64.
- 145) ICC Standard methods (1992): Method 114/1: Method for using the Brabender Extensograph.
- 146) ICC Standard methods (1992): Method 115/1: Method for using the Brabender Farinograph.

- 147) IFT Expert report Functional Foods: Opportunities and Challenges; Institute of Food Technologists, Institute of Food Technologists
- 148) Iwata, K., Miwa, S., Inayama, T., Sasaki, H., Soeda, K., and Sugahara, T. (1990): Effects of kangra buckwheat on spontaneously hypertensive rats. *J. Kagawa Nutr. Coll.* 21:55–61.
- 149) Izydorczyk, M. S., Biliaderis, C. G. (1995): Cereal arabinoxylans: advances in structure and physicochemical properties. *Carbohydr Polym* 28:33–48.
- 150) Izydorczyk, M. S., Biliaderis, C. G., Bushuk, W. (1990): Oxidative gelation studies of water-soluble pentosans from wheat. *J Cereal Sci* 11:153–169.
- 151) Janushevich, Z. V., (1976): Cultivated plants in southwestern USSR according to paleobotanical investigations. Kishinev.
- 152) Jenkins, A. J. D., Wolever, S. M. T., Taylor, H. R., Barker, H., Fielden, H., Baldwin, M. J., Bowling, C. A., Newman, C. H., Jenkins, L. A., and Goff, V. D., (1981): Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange.
- 153) Jenkins, D. J. A., Wolever, T. M. S., Taylor, R. H., Ghafari, H., Jenkins, A. L., Barker, H., et al. (1980): Rate of digestion and postprandial glycaemia of foods in normal and diabetic subjects. *British Medical Journal* 281, 14e17.
- 154) Kadiri, O. (2017): A review on the status of the phenolic compounds and antioxidant capacity of the flour: Effects of cereal processing. *International Journal of Food Properties* 20:sup1, S798-S809.
- 155) Kalichevsky, M. T., Ring, S. G. (1987): Incompatibility of amylase and amylopectin in aqueous solution. *Carbohydr Res* 162:323–328.
- 156) Kalinova, J., Moudry, J. (2006): Content and quality of protein in proso millet (*Panicum miliaceum* L.) varieties. *Plan Foods Hum. Nutr.* 61:43-47.
- 157) Kaptein, S., Risselada, A. J., Boerma, E. C., Egbers, P. H., Nieboer, P. (2010): Life-threatening complications of vitamin D intoxication due to over-the-counter supplements. *Clin. Toxicol. (Phila)*. 48(5):460–462.
- 158) Karlsson, R., Olered, R., Eliasson, A-C. (1983): Changes in starch granule size distribution and starch gelatinisation properties during development and maturation of wheat, barley and rye. *Starch/Stärke* 35:335–340.
- 159) Kaur, L., Singh, J., McCarthy, O. J., & Singh, H. (2007): Physico-chemical, rheological and structural properties of fractionated potato starches. *Journal of Food Engineering* 82, 383e394.

- 160) Kaur, N., Singh, P. D. (2017): Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. *Appetite* 112:167e187.
- 161) Kaur, S., Das, M. (2011): Functional Foods: An Overview. *Food Sci. Biotechnol.* 20(4):861-875 (2011).
- 162) Keller, C. (2006): Trends in beverages and "Measurable Health". In: Proceedings of the third functional food net meeting.
- 163) King, A., Young, G. (1999): Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association* 99, 213–218.
- 164) Kiszonas, M. A., Fuerst, P., Morris, F. C. (2013): Wheat Arabinoxylan Structure Provides Insight into Function. *Cereal Chem.* 90(4):387-395.
- 165) Klichowska, M. (1976): Auspaläoethnobotanischen Studien über Pflanzenfunde aus dem Neolithikum und der Bronzezeit auf polnischem Boden. *Archaeol. Pol.* 17: 27-67.
- 166) Koehler, Wieser, (2013): *The Handbook on sordough Biotechnology*. Springer US.
- 167) Koh, L. W., Kasapis, S., Lim, K. M., & Foo, C. W. (2009): Structural enhancement leading to retardation of in vitro digestion of rice dough in the presence of alginate. *Food Hydrocolloids* 23:1458e1464.
- 168) Koivistoinen, P., Nissinen, H., Varo, P., Ahlstrom, A. (1974): Mineral element composition of cereal grains from different growing areas in Finland. *Acta Agr. Scand.* 24:327–334.
- 169) Komolprasent, V., Ofoli, R. Y. (1991): Starch hydrolysis of *Bacillus licheniformis*  $\alpha$ -amylase. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 52, 209.
- 170) Kotilainen, L., Rajalahti, R., Ragasa, C., Pehu, E. (2006): Health enhancing foods: Opportunities for strengthening the sector in developing countries. *Agriculture and Rural Development Discussion Paper* 30.
- 171) Kovačević, D., Bjelaković, G., Đorđević, B. V., Nikolić, J., Pavlović, D. D., Kocić, G. (1996): *Biohemija. Savremena administracija*, Beograd 413-416.
- 172) Kuriki, T., & Imanaka, I. (1999): The concept of the  $\alpha$ -amylase family: structural similarity and common catalytic mechanism. *Journal of Biosciences and Bioengineering* 87, 557e565.
- 173) Koruk, M., Taysi, S., Savas, C. M., Yilmaz, O., Akcay, F., Karakok, M. (2004): *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 2004, 34, 57–62.



- 174) Langworthy, C. F., Deuel, H. J., (1920): Digestibility of raw corn, potato, and wheat starches. *Journal of Biological Chemistry* 42, 27e40.
- 175) Langworthy, C. F., Deuel, Jr., H. J., (1922): Digestibility of raw rice, arrowroot, canna, cassava, taro, tree-fern, and potato starches. *Journal of Biological Chemistry* 52, 251e261.
- 176) Larousse Gastronomique: The World's Greatest Culinary Encyclopedia, Completely Revised and Updated. Clarkson Potter: New York (2001), page 113.
- 177) Lattanzio, V., Kroon, P. A., Quideau, S., Treutter, D. (2008): Plantphenolics–secondary metabolites with diverse functions. In: Daayf, F., Lattanzio, V.(Eds.), *Recent advances in polyphenol research, vol1.* Wiley-Blackwell, Oxford pp.1–35.
- 178) Lehmann, U., & Robin, F. (2007): Slowly digestible starch- its structure and health implications: a review. *Trends in Food Science & Technology* 18, 346e355.
- 179) Leiris, J., Rakotovo, A., Boucher, F. (2006): Oxidative stress and ischemia. *Heart Metab.*, 2006, 31:5–7.
- 180) Leopoldini, M., Russo, N., Toscano, M. (2011): The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry* 125, 288–306.
- 181) Li, J. H., Vasanthan, T., Rossnagel, B., & Hoover, R., (2001): Starch from hull-less barley: II. Thermal, rheological and acid hydrolysis characteristics. *Food Chemistry* 74, 407e415.
- 182) Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., and Chen, S. (2016): An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules* 21, 1374.
- 183) Lindeboom, N., Chung, P. R., & Tyler, R. T., (2004): Analytical, bio-chemical and physicochemical aspects of starch granule size with emphasis on small granule starches. *Starch* 56, 89e99.
- 184) Lisitsina, G. N. (1984): The Caucasus - A centre of ancient farming in Euroasia. In: W., van Zeist, and W. A., Casparie (Editors), *Plants and Ancient Man*. Balkema, Rotterdam, pp. 285-292.
- 185) Lu, H., Zhang, J., Liub, K., Wu, N., Li, Y., Zhou, K., Ye, M., Zhang, T., Zhang, H., Yang, X., Shen, L., Xu, D., Li, Q. (2009): Earliest domestication of common millet (*Panicum miliaceum*) in East Asia extended to 10, 000 years ago. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 7367–7372.

- 186) Lushchak, V.I. (2014): Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem. Biol. Interact.* 224C:164–175.
- 187) Macé, S., Hansen, T. L., and Rupasinghe, V. P. H. (2017): Anti – Bacterial Activity of Phenolic Compounds against *Streptococcus pyogenes*. *Medicines* 4, 25.
- 188) MacKown, T. C., Carver, F. B., Edwards, T. J. (2008): *Crop Sci.* 48:2704.
- 189) MacMurray, T. A., Morrison, W. R. (1970): Composition of wheat-flour lipids. *J. Sci. Food Agric.* 21:520–528.
- 190) MacRitchie, F. (1981): Flour lipids: theoretical aspects and functional properties. *Cereal Chem* 58:156–158.
- 191) Marinval, P. (1992): Archeobotanical data on millets (*Panicum miliaceum* and *Setaria italica*) in France. In: J. P., Pals, J., Buurman, and M., van der Veen (Editors), *Festschrift for Professor van Zeist. Rev. Palaeobot. Palynol.* 73: 259-270.
- 192) Martinez-Ballesta, M. C., Dominguez-Perles, R., Moreno, D. A., Muries, B., Alcaraz-Lopez, C., Bastias, E., Garcia-Viguera, C., Carvajal, M. (2009): Minerals in plant food: effect of agricultural practices and role in human health. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30:295–309.
- 193) Martirosyan, M. D., Singh, J. (2015): A new definition of functional food by FFC: what makes a new definition unique? *Functional Foods in Health and Disease* 5(6):209-223.
- 194) McCallum, J. A., and Walker, J. R. L. (1991): Phenolic biosynthesis during grain development in wheat (*Triticum aestivum* L.). III. Changes in hydroxycinnamic acids during grain development. *J. Cereal Sci.* 13:161–172.
- 195) McCarthy, L. A., O'Callaghan, G. Y., Conelli, A., Piggot, O. C., FitzGerald, J. R., O' Brian, M. N. (2015): *Int J Food Sci Nutr.* 66:230.
- 196) McKeivith, B. (2004): Nutritional aspects of cereals. British Nutrition Foundation, *Nutrition Bulletin* 29:111-142.
- 197) McKeehan, J. D., Busch, R. H., and Fulcher, R. G. (1999): Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) phenolic acids during grain development and their contribution to *Fusarium* resistance. *J. Agric. Food Chem.* 47:1476–1482.
- 198) Ménard, O., Cattenoz, T., Guillemin, H., Souchon, I., Deglaire, A., Dupont, D., and Picque, D. (2014): *Food Chem.* 145, 1039-1045.

- 199)Menrad, K. (2003): Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering* 56(2):181-188.
- 200)Meuser, F., Suckow, P. (1986): Non-starch polysaccharides. In: Blanshard, J. M. V., Frazier, P. J., Galliard, T. (Eds.), *Chemistry and physics of baking*. The Royal Society of Chemistry, London, pp.42–61.
- 201)Miková, K. (2001): The regulation of antioxidants in food. In: Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (Eds.), *Antioxidants in Food: Practical applications*. Woodhead Publishing Ltd., England and CRC Press LLC, USA, 267-285.
- 202)Milašiović – Šeremešić, M. (2011): Funcionalne karakteristike rezistentnog skroba kukuruza kao komponente finih pekarskih proizvoda. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- 203)Miles, M. J., Morris, V. J., Orford, P. D., Ring, S. G. (1985): The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohyd Res* 135:271–281.
- 204)Minekus, M. (2015): The TNO Gastro-Intestinal Model (TIM). In: Verhoeckx, K., Cotter, P., López-Expósito, I., Kleiveland, C., Lea, T., Mackie, A., Requena, T., Swiatecka, D., Wichers, H. (Eds.), *The Impact of Food Bio-Actives on Gut Health, in vitro and ex vivo models*. Springer Open, Chapter 5, pp.37-46.
- 205)Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carriere, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClementst, D. J., M'énard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W., and Brodtkor, A. (2014): A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food and Function* 5, 1113-1124.
- 206)Mollet, B., Rowland, I. (2002): Functional foods: At the frontier between food and pharma. *Current Opinion in Biotechnology* 13:483-485.
- 207)Morrison, W. R., Mann, D. L., Soon, W., Coventry, A. M. (1975): Selective extraction and quantitative analysis of nonstarch and starch lipids from wheat flour. *J. Sci. Food Agric.* 26:507–521.
- 208)Musehold, J. (1978): Dunnschichtchromatographische Trennung von 5-alkyl-resorcinhomologen aus Getreidekornern (Thin-layer chromatographic separation of 5-alkyl-resorcinol homologs from cereals). *Z. Pflanzenzuecht* 80:326–329.
- 209)Nackz, M., Shahidi, F. (2004): Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A* 1054(1-2), 95-111.

- 210) Nimse, B. S., Pal, D. (2015): Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Royal Society of Chemistry* 5:27986-28006.
- 211) Nishizawa, N., and Fudamo, Y. (1995): The elevation of plasma concentration of high-density lipoprotein cholesterol in mice fed with protein from proso millet (*Panicum miliaceum*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 59, 333–335.
- 212) Nishizawa, N., Sato, D., Ito, Y., Nagasawa, T., Hatakeyama, Y., Choi, M. R., et al. (2002): Effects of dietary protein of proso millet on liver injury induced by D-galactosamine in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66, 92–96.
- 213) Nishizawa, N., Yoshiharu, F. (1995): The elevation of plasma concentration of high-density lipoprotein cholesterol in mice fed with protein from proso millet. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 59 (2), 333-335.
- 214) O'Shea, N., Arendt, E., Gallagher, E. (2014): State of the art in gluten-free research. *J. Food Sci.* 79 (6), R1067-R1076.
- 215) Oates, C. G., (1997): Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. *Trends in Food Science and Technology* 8, 375e382.
- 216) Obilana, A. B., and Manyasa, E. (2002): Millets. In: P. S., Belton, and J. R. N. Taylor (Eds.), *Pseudocereals and Less Common Cereals*. Berlin: Springer, 177–217.
- 217) Ohama, H., Ikeda, H., Moriyama, H. (2006): Health foods and foods with health claims in Japan. *Toxicology* 22:95-111.
- 218) Ohara, T. H., Ohinata, N., Maramatsu, N., and Matsuhashi, T. (1989): Determination of rutin in buckwheat by high performance liquid chromatography. *Nippon Shokuhin Kagyo Gakkaishi* 36:114–120.
- 219) Ohsawa, R., and Tsutsumi, T. (1995): Inter-varietal variations of rutin content in common buckwheat flour (*Fagopyrum esculentum* Moench.). *Euphytica* 86:183–189.
- 220) Oomah, B. D., and Mazza, G. (1996): Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. *J. Agric. Food Chem.* 44:1746–1750.
- 221) Oomah, B. D., Campbell, C. G., and Mazza, G. (1996): Effects of cultivar and environment on phenolic acid in buckwheat. *Euphytica* 90:73–77.
- 222) Oria, M. P., Hamaker, B. R., & Shull, J. M. (1995): In vitro protein digestibility of developing and mature sorghum grain in relation to a-, b- and g-kafirin disulfide crosslinking. *Journal of Cereal Science* 22, 85e93.
- 223) Osborne, T. B. (1907): The proteins of the wheat kernel. Vol. 84. Carnegie Inst,

Washington, DC.

- 224) Ouerghemmi, I., Rebey, B. I., Rahali, Z. F., Bourgou, S., Pistelli, L., Ksouri, R., Marzouk, B., Tounsi, S. M. (2017): Antioxidant and antimicrobial phenolic compounds from extracts of cultivated and wild – grown Tunisian *Rutachalepensis*. *Journal of Food and Drug Analysis* 25, 350-359.
- 225) Palmieri, B., Sblendorio, V. (2007): Oxidative stress tests: overview on reliability and use: Part II. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 11:383-399.
- 226) Papantoniou, E., Eugene, H. W., Amallia, T. A., Fiona, S., Gordon, M. H., Schofield, D. J. (2003): Effects of endogenous flour lipid on the quality of semisweet biscuits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51, 1057–1063.
- 227) Pardo, J. E., Fernández, E., Rubio, M., Alvarruiz, A., Alonso, G. L. (2009): Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 111:188–193.
- 228) Parry, J., Su, L., Luther, M., Zhou, K., Yurawecz, M. P., Whittaker, P., Yu, L. (2005): Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry, and blueberry seed oils. *J. Agr. Food Chem.* 53:566-573.
- 229) Pathak, H. C. (2013): Role of Millets in Nutritional Security of India. New Delhi: National Academy of Agricultural Sciences 1–16.
- 230) Pedrotti, W. (2000): *Cerealiproprietáa, usi e virtú*. Giunti Gruppo Editoriale, Firenze-Milano.
- 231) Perlin, A. S. (1951): Isolation and composition of the soluble pentosans of wheat flour. *Cereal Chem* 28:370–381.
- 232) Pisha, E., and Pezzuto, J. M. (1994): Fruits and vegetables containing compounds that demonstrate pharmacological activity in humans. In: Wagner, H., Hikino, H., and Farnsworth, N. R. (Eds.), *Economic and Medical Plant Research*, vol. 6, Academic Press, London, 189–223.
- 233) Pushparaj, S. F., Urooj, A. (2014): *Antioxidants* 3:55.
- 234) Pussayanawin, V., Wetzal, D. L., and Fulcher, R. G. (1988): Fluorescence detection and measurement of ferulic acid in wheat milling fractions by microscopy and HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 36:515–520.

- 235)Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., Pouysegou, L. (2011): Plantpolyphenols: chemicalproperties, biological activities, and synthesis. *Angew Chem Int Ed*50:586–621.
- 236)Rachie, K. O. (1975): *The Millets. Importance, Utilization and Outlook*. Hyderabad: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).
- 237)Ravindran, G. (1991): Studies on Millets: Proximate Composition, Mineral Composition and Phytate and Oxalate Contents.*Food Chemistry* 39:99-107.
- 238)Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., andRice-Evans, C. (1999): Antioxidant Activity Applyingan Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay.
- 239)Rehman, Z.-U., & Shah, W. R. (2005): Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. *Food Chemistry* 91, 327e331.
- 240)Renger, A., and Steinhart, H. (2000): Ferulic acid dehydrodimers as structural elements in cereal dietary fibre. *Eur. Food Res. Technol.*211:422–428.
- 241)Riccardi, G., Rivellese, A. A., and Giacco, R. (2008): Role of glycemic index and glycemic load in the healthy state, inprediabetes, and in diabetes. *Am J Clin Nutr*87(suppl):269S–74S.
- 242)Ricondo, Z., Ayo, J. (2007): Tomato fibre as a new source of functional fibre for a meat application type sausage. *Developments in science and health claims, ILSI international symposium on functional foods in Europe*.
- 243)Robards, R., Antolovich, M. (1997): Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. A review. *Analyst* 122: 11R-34R.
- 248)Roberfroid, B. M. (1999): What is Bene®cial for Health? The Concept of Functional Food. *Food and Chemical Toxicology* 37:1039±1041.
- 249)Roberfroid, M. (2002): Global view on functional foods: European perspectives. *British Journal of Nutrition* 88(S2): S133-S138.
- 250)Roberfroid, M. B. (2000a): Concepts and strategy of functional food science: The European perspective. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71:S1660-S1664.
- 251)Roberfroid, M. B. (2000b): An European consensus of scientific concepts of functional foods. *Nutrition* 16:689-691.
- 252)Rothmaler, W., and Natho, I. (1957): *BandkeramischeKulturpflanzenresteaus*

- Thüringen und Sachsen. Beitr. Früdesch. Landwirtsch 3: 73-98.
- 253) Ryan, L., Thondre, P. S., Henry, C. J. K. (2011): *J. Food Compost. Anal.* 24, 929.
- 254) Rybka, K., Sitarski, J., and Raczynska-Bojanowska, K. (1993): Ferulic acid in rye and wheat grain and grain dietary fibre. *Cereal Chem.* 70:55–59.
- 255) Saha, D., Channabyre Gowda, M. V., Arya, L., Verma, M., and Bansal, K. C. (2016): Genetic and genomic resources of small millets. *Crit. Rev. Plant Sci.* 35, 56–79. doi: 10.1080/07352689.2016.1147907.
- 256) Saleh, A. S., Zhang, Q., Chen, J., and Shen, Q. (2013): Millet grains: nutritional quality, processing, and potential health benefits. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 12, 281–295. doi: 10.1111/1541-4337.12012.
- 257) Salomonsson, A.-C., Theander, O., and Aman, P. (1980): Composition of normal and high-lysine barleys. *Swed. J. Agric. Res.* 10:11–16.
- 258) Salvador, G., Bultó, L. (2001): *Larousse de la Dietética y la Nutrición*. Spes Editorial, 2001.
- 259) Sanchez-Moreno, C., Larrauri, A. J., Saura-Calixto, F. (1998) : A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76 (1998) 270-276.
- 260) Sanroma'n, A., Murado, M. A., & Lema, J. M., (1996): The influence of substrate structure on the kinetics of the hydrolysis of starch by glu- coamylase. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 59, 329e336.
- 261) Santra, D. K. (2013): *Proso Millet Varieties for Western Nebraska*. Lincoln, NE: University of Nebraska-Lincoln.
- 262) Santra, D. K., Heyduck, R. F., Baltensperger, D. D., Graybosch, R. A., Nelson, L. A., Frickel, G., et al. (2015): Registration of 'Plateau' waxy (amylose-free) proso millet. *J. Plant Regist.* 9, 41–43. doi: 10.3198/jpr2013.11.0067crc.
- 263) Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., Rémésy, C. (2002): Dossier: Polyphenols: diversity and bioavailability. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed Pharmacother* 56, 276–282.
- 264) Sciarini, L. S., Ribotta, P. D., León, A. E. (2008): Influence of gluten-free flours and their mixtures on batter properties and bread quality. *Food Bioprocess Technol* 3(4), 577-585.

- 265) Scollan, N. (2007): Enhancing the content of beneficial fatty acids in beef and improving meat quality for the consumer. Functional Food News. <http://www.functionalfoodnet.eu/images/site/assets/1-HealthyBeef-%20Nigel.pdf>.
- 266) Sedej, I. (2011): Funkcionalna i antioksidativna svojstva novih proizvoda od heljde, Doktorska disertacija, Tehnološkifakultet, Novi Sad.
- 267) Seghatoleslami, M. J., Kafi, M., and Majidi, E. (2008): Effect of drought stress at different growth stages on yield and water use efficiency of five proso millet (*Panicum miliaceum* L.) genotypes. Pak. J. Bot. 40, 1427–1432.
- 268) Seligman, S. A., Copeland, L., Appels, R., & Morell, M. K. (1998): Analysis of lipid binding to starch. In: L., O'Brien, A. B., Blakeney, A. S., Ross, & C. W., Wrigley, (Eds.), Cereals. North Melbourne, 98. Australia: Royal Australian Chemical Institute, pp. 87e90.
- 269) Selmair, P. L., Koehler, P. (2008): Baking performance of synthetic glycolipids in comparison to commercial surfactants. J Agric Food Chem 56:6691–6700.
- 270) Shahidi, F., and Chandrasekara, A. (2013): Millet grain phenolics and their role in disease risk reduction and health promotion: a review. J. Funct. Foods 5, 570–581. doi: 10.1016/j.jff.2013.02.004.
- 271) Shahidi, F., and Naczki, M. (2004): Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC Press LLC.
- 272) Shahidi, F., Chandrasekara (2013): Millet grain phenolics and their role in disease risk reduction and health promotion: a review. J. Funct. Foods 5, 570-581.
- 273) Shahidi, F., Zhong, Y. (2010): Eur. J. Lipid Sci. Technol. 112:930–940.
- 274) Shani-Levi, C., Alvito, P., Andrés, A., Assunção, R., Barberá, R., Blanquet-Diot, S., Bourlieu, C., Brodkorb, A., Cilla, A., Deglaire, A., Denis, S., Dupont, D., Heredia, A., Karakaya, S., Giosafattol, L.V.C., Mariniello, L., Martins, C., Ménard, O., El, N.S., Vegarud, E.G., Ulleberg, E., Lesmes, U. (2017): Extending *in vitro* digestion models to specific human populations: Perspectives, practical, tools and bio-relevant information. Trends in Food Science & Technology 60, 52-63.
- 275) Shi, H., Noguchi, N., Niki, E. (2001): Introducing natural antioxidants. In: Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (Eds.), Antioxidants in food, Practical applications. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp.22-70.
- 276) Shibamura, K., Takeda, Y., Hizukuri, S., Shibata, S. (1994): Molecular structures of some wheat starches. Carbohydr Polym 25:111–116.



- 277)Shinde, N., Bangar, B., Deshmukh, S., Kumbhar, P. (2014): Nutraceuticals: A Review on current status. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 7(1):110-113.
- 278)Shirley, B. W. (1998): Flavonoids in seeds and grains: Physiological function, agronomic importance and the genetics of biosynthesis. *Seed Science Research* 8:415-422.
- 279)Shumoy, H., Raes, K. (2017): In vitro starch hydrolysis and estimated glycemic index of tef porridge and injera. *Food Chemistry* 229:381-387.
- 280)Sies, H. (2015): Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biology* 4:180-183.
- 281)Singh, J., Kaur, L., & McCarthy, O. J. (2007): Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications e a review. *Food Hydrocolloids* 21, 1e22.
- 282)Singh, J., Dartois, A., Kaur, L. (2010): Starch digestibility in food matrix: a review. *Trends in Food Science & Technology* 21 pages: 168-180.
- 283)Singh, J., Kaur, L., McCarthy, O. J. (2009): Potato starch and its modification. In: J., Singh, & L., Kaur (Eds.), *Advances in Potato Chemistry and Technology*. New York: Academic Press, pp. 273e318.
- 284)Singh, J., McCarthy, O. J., Singh, H. (2006): Physico-chemical and morphological characteristics of New Zealand Taewa (Maori potato) starches. *Carbohydrate Polymers* 64, 569e581.
- 285)Singh, J., McCarthy, O. J., Singh, H., & Moughan, P. J. (2008): Low temperature post-harvest storage of New Zealand Taewa (Maori potato): effects on starch physico-chemical and functional characteristics. *Food Chemistry* 106, 583e596.
- 286)Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178.
- 287)Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A. (2008): Functional food: Product development, marketing and consumer acceptance – A review. *Appetite* 51:456-467.
- 288)Sloan, A. E. (2000): The top ten functional food trends. *Food Technology* 54:33-62.
- 289)Sloan, E. (2002): The top 10 functional food trends. The next generation. *Food Technology* 56:32-57.

- 290)Smith, P. M. (1979): Minor Crops. In: Simmonds (Editor), *Evolution of Crop Plants*, London.
- 291)Sosulner, E. E. (1992): Dietary quercetin and rutin: Inhibitors of experimental colonic neoplasia, in *Phenolic Compounds in Foods and Their Effects on Health. II Antioxidants and Cancer Prevention*, Huang, M. T., Ho, C-T., and Lee, C.Y., Eds., ACS Symposium Series 547, American Chemical Society, Washington, D.C., 265–268.
- 292)Sosulski, F., Krygier, K., and Hogge, L. (1982): Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *J. Agric. Food Chem.*30:337–340.
- 293)Souci, S. W., Fachmann, W., Kraut, H. (2008): In: *Deutsche Forschungsanstalt für Lebens mit telchemie (Eds.), Food composition and nutrition tables. Deutsche Forschungsanstalt für Lebens mit telchemie. MedPharm Scientific Publishers, Stuttgart.*
- 294)Taverne, J. H. J. Y., Bogers, J. J. C. A., Duncker, J. D., Merkus, D. (2013): *Reactive Oxygen Species and the Cardiovascular System. Hindawi Publishing Corporation, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, Article ID 862423, 1-15.*
- 295)Tempir, Z. (1969): Archeological finds of food plants and weeds in Slovakia. *Agrikultura* 8: 7-66.
- 296)Tempir, Z. (1979): Kultur pflanzen im Neolithikum und Äneolithikum auf dem Gebiet von Böhmen und Mähren. *Archaeo-Physika* 8: 302-308.
- 297)Tester, R. F., Debon, S. J. J. (2000): Annealing of starch—a review. *Int J. Biol Macromol* 27:1–12.
- 298)Tester, R. F., Qi, X., &Karkalas, J. (2006): Hydrolysis of native starches with amylases. *Animal Feed Science and Technology* 130, 39e54.
- 299)Thorne, M. J., Thompson, L. U., Jenkins, D. J. A. (1983): Factors affecting starch digestibility and the glycemic response with special reference to legumes. *American Journal of Clinical Nutrition* 38, 481e488.
- 300)Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006): Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 160: 1-40.
- 301)Verma, V., and Patel, S. (2012): Nutritional security and value added products from finger millets (ragi). *J. Appl. Chem.* 1, 485–489.

- 302) Vijayakumar, P. T., Mohankumar, J. B. (2009): Formulation and characterization of Millet blend incorporated composite flour. *International Journal of Agriculture Sciences* 1, 2, 46-54.
- 303) Vinkx, C. J. A., Van Nieuwenhove, C. G., Delcour, J. A. (1991): Physicochemical and functional properties of rye nonstarch polysaccharides. III. Oxidative gelation of a fraction containing water-soluble pentosans and proteins. *Cereal Chem* 68:617-622.
- 304) Viswanath, V., Urooj, A., Malleshi, N. G. (2009): Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of finger millet polyphenols (*Eleusine coracana*). *Food Chem.* 114:340-346.
- 305) Wankhede, D. B., Rathi, S. S., Gunjal, B. B., Patil, H. B., Waide, S. G., Rodge, A. B., & Sawate, A. R. (1990): Studies on isolation and characterization of starch from pearl millet (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke) grains. *Carbohydr. Polym.* 13, 17-28.
- 306) Watanabe, M., Ohshita, Y., and Tsushida, T. (1997): Antioxidant compounds from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls. *J. Agric. Food Chem.* 45:1039-1044.
- 307) Weidner, S., Amarowicz, R., Karamac, M., and Dabrowski, G. (1999): Phenolic acids of caryopses of two cultivars of wheat, rye and triticale that display different resistance to preharvest sprouting. *Eur. Food Res. Technol.* 210:109-113.
- 308) Welch, R. M., Graham, R. D. (2004): Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *J. Exp. Bot.* 55:353-364.
- 309) Wen, Y., Liu, J., Meng, X., Zhang, D., and Zhao, G. (2014): Characterization of proso millet starches from different geographical origins of China. *Food Sci. Biotechnol.* 23, 1371-1377. doi: 10.1007/s10068-014-0188-z.
- 310) Westmark, J. C. (2014): Definition of Functional Food. Healthy, Functional, and Medical Foods. Similarities and Differences between these Categories. *Bioactive Food Compounds: Introduction to Functional Food Science: Textbook*. 2<sup>nd</sup> ed. Richardson, TX: Functional Food Center.
- 311) Wickham, M., Faulks, R., and Mills, C. (2009): *Mol. Nutr. Food Res.* 53, 952-958.
- 312) Wieser, H., Koehler, P. (2008): The biochemical basis of celiac disease. *Cereal Chem.* 85:1-13.
- 313) Wieser, H., Seilmeier, W., Eggert, M., Belitz, H-D. (1983): Tryptophangehalt von Getreideproteinen. *Z Lebensm. Unters. Forsch.* 177:457-460.

- 314) Witting, K. P., Upston, M. J., Stocker, R. (1997): *Biochemistry* 36:1251–1258.
- 315) Wu, S., Chappell, J. (2008): Metabolic engineering of natural products in plants; tools of the trade and challenges for the future. *Curr Opin Biotechnol* 19:145–152.
- 316) [www.nap.edu](http://www.nap.edu) DRI-Dietary reference intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. Institute of Medicine of the National Academies, The National Academic Press, Washington D. C., 2002/2005.
- 317) Yannick, J. H. J., Taverne, Ad J. J. C., Bogers, Dirk, J., Duncker, Daphne Merkus (2013): Reactive Oxygen Species and the Cardiovascular System. Hindawi Publishing Corporation *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, Article ID 862423, 15 pages.
- 318) Yildizoglu-Ari, N., Altan, V. M., Altinkurt, O., and Ozturk, Y. (1991): Pharmacological effects of rutin. *Phytother. Res.* 5:19–23.
- 319) Yook, C., & Robyt, J. F. (2002): Reactions of alpha amylases with starch granules in aqueous suspension giving products in solution and in a minimum amount of water giving products inside the granule. *Carbohydrate Research* 337, 1113e1117.
- 320) Young, Y. (2000): Functional foods and the European consumer. In: Buttriss, J., Saltmarsh, M. (Eds.), *Functional foods II. Claims and evidence*. The Royal Society of Chemistry, London, UK.
- 321) Jyo, J.-A., & BeMiller, J. N. (2007): Preparation and physical characteristics of slowly digesting modified food starches. *Carbohydrate Polymers* 67, 366e374.
- 322) Zadernowski, R., Pierzynowska-Korniak, G., Ciepielewska, D., and Fornal, Ł. (1992): Chemical characteristics and biological functions of phenolic acids of buckwheat and lentil seeds. *Fagopyrum* 12:27–35.
- 323) Zarnkow, M., Geyer, Th., Lindemann, B., Burberg, F., Back, W., Arendt, K. E., Kreis, S. (2007): The use of response surface methodology to optimise malting conditions of quinoa (*Chenopodium quinoa* L.) as a raw material for gluten-free foods and beverages. *Brewing Science* 60(9):118-126.
- 324) Zeeman, S. C., Kossmann, J., Smith, A. M. (2010): Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annu Rev. Plant Biol.* 61:209–234.
- 325) Zhang, L., Liu, R., and Niu, W. (2014): Phytochemical and antiproliferative activity of proso millet. *PLoS ONE* 9:e104058. doi: 10.1371/journal.pone.0104058.
- 326) Zhu, F. (2015): *Trends Food Sci Technol.* 43:129.

- 327) Zobel, H. F. (1988): Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch/Stärke* 40:1–7.
- 328) Žeželj, M. (2005): Tehnologija žita i brašna II. NIP Glasjavnosti doo, Beograd, Strana 173.
- 329) Živančević- Simonović S., Đukić A., Inić-Kanada A., Dimitrijević Lj. (2004): Role of the oxidative stress in pathophysiology of immune system, *Medicus* 5(2):11-16.

## PRILOG 1.

**Tabela 1:** Primeri trenutno priznatih funkcionalnih komponenata u hrani (IFT)

<b>Funkcionalna komponenta</b>	<b>Zdravstvena izjava</b>	<b>Regulatorni status izjave - SAD (Sjedinjene Američke Države)</b>
<b>Rastvorljiva vlakna ovsa</b>	<b>Kardiovaskularne bolesti</b>	Odobrena zdravstvena izjava od FDA*
<b>Proteini soje</b>	<b>Kardiovaskularne bolesti</b>	Odobrena zdravstvena izjava od FDA*
<b>Fitosteroli/stanol estri</b>	<b>Kardiovaskularne bolesti</b>	Odobrena zdravstvena izjava od FDA*
<b>Kalcijum</b>	<b>Osteoporoza</b>	Odobrena zdravstvena izjava od FDA*
<b>Hrana obogaćena folatima</b>	<b>Defekti neuronske tube</b>	Odobrena zdravstvena izjava od FDA*

FDA\* - *Food and Drugs Administration* - srp. Administracija za hranu i lekove u Americi

**Tabela 2:** Različiti primeri funkcionalnih komponenata prema klasama jedinjenja

<b>Klasa/Komponenta</b>	<b>Izvor</b>	<b>Potencijalni benefit</b>
<b>KAROTENOIDI</b>		
Beta-karoten	šargarepa, bundeva, slatki krompir, spanać, paradajz	neutrališe slobodne radikale; podržava celularnu antioksidativnu odbranu; može da se konvertuje u vitamin A u telu;
Lutein, Zeaksantin	kelj, spanać, kukuruz, jaja, citrusno voće, špargla, šargarepe, brokoli	potpomaže u održavanju zdravlja očiju;
Likopen	paradajz i proizvodi od paradajza, lubenica, crveni grejpfrut	potpomaže u očuvanju zdravlja prostate;
<b>DIJETALNA VLAKNA</b>		
Nerastvorljiva vlakna	pšenične mekinje, kukuruzne mekinje, kora od voća	potpomaže očuvanje digestivnog trakta, može da smanji rizik obolevanja od određenih vrsta kancera;
Beta glukan **	ovsena mekinja, ovseno brašno, ječam, raž	može da umani rizik obolevanja od kardiovaskularnih bolesti;

Rastvorljiva vlakna**	ljuska psilijuma, grašak, pasulj, jabuke, citrusna voća	mogu da smanje rizik od kardiovaskularnih oboljenja i određenih tipova kancera
Cela zrna žitarica	cela zrna žitarica, hleb od integralnih brašna, ovsene kaše, braon pirinač	mogu da smanje rizik od kardiovaskularnih oboljenja i određenih tipova kancera, potpomažu u održavanju zdravog nivoa glukoze u krvi
<b>MASNE KISELINE</b>		
Mononezasićene masne kiseline (MUFAs)**	jezgrasto voće, maslinovo ulje, ulje kanole	mogu da smanje rizik od kardiovaskularnih oboljenja
Polinezasićene masne kiseline (PUFAs) - Omega - 3 masne kiseline - ALA	orasi, laneno seme, laneno ulje	potpomaže pravilan rad srca, mentalnih funkcija
Polinezasićene masne kiseline (PUFAs) - Omega - 3 masne kiseline - DHA/EPA**	losos, tuna, riblja ulja	može da smanji rizik od kardiovaskularnih oboljenja, prevencija očnih oboljenja i mentalnih disfunkcija
Konjugovana linoleinska kiselina (CLA)	govedina i jagnjetina, određene vrste sireva	potpomaže u očuvanju imuniteta
<b>FLAVONOIDI</b>		
Antocijani - cijanidin, pelargonidin, delphinidin, malvidin	borovnice, višnje, crveno grožđe	potpomaže ćelijsku antioksidativnu odbranu; potpomaže održavanje pravilnih funkcija mozga
Flavanoli - katehini, epikatehini, epigalokatehini	čaj, kakao, čokolada, jabuke, grožđe	potpomaže održavanje zdravlja srca
Procijanidini i proantocijanidini	brusnica, kakao, jabuke, jagode, grožđe, crveno vino, kikiriki, cimet, čaj, čokolada	potpomaže održavanje pravilnog funkcionisanja urinarnog trakta i kardiovaskularnog sistema
Flavanoni - hesperetin, naringenin	citrusna voća	neutrališu slobodne radikale; pojačava ćelijsku antioksidativnu odbranu.
Flavonoli - kvercetin, kampferol, izorhamnetin, mircetin	luk, jabuke, čaj, brokoli	neutrališe slobodne radikale, pojačava ćelijsku antioksidativnu odbranu;
<b>IZOTIOCIJANATI</b>		

Sumporafan	brokoli, kupus, kelj, radič	poboljšava detoksikaciju organizma; pojačava ćelijsku antioksidativnu odbranu;
<b>MINERALI</b>		
Kalcijum	sardine, spanać, jogurt, niskomasni mlečni proizvodi, obogaćena hrana i pića	može da smanji rizik od osteoporoze;
Magnezijum	spanać, semenke bundeve, hleb od celog zrna žitarica, bademi, brazilski orah, pasulj	potpomaže u održavanju normalnog funkcionisanja mišićnog i nervnog tkiva imuniteta i koštanog sistema;
Kalijum	krompir, niskomasni mlečni proizvodi, hleb od celog zrna žitarica, citrusni sokovi, pasulj, banana, zelene salate	može da umanjiti rizik od dobijanja visokog krvnog pritiska u kombinaciji sa dijetom osiromašenom natrijumom;
Selen	riba, crveno meso, celo zrno žitarica, luk, jetra, jaja	neutrališe slobodne radikale;
<b>FENOLNE KISELINE</b>		
Kafeinska kiselina, ferulinska kiselina	jabuka, kruška, citrusno voće, kafa	pojačava ćelijsku antioksidativnu odbranu;
<b>BILJNI STANOLI/STEROLI</b>		
Slobodni stanoli/steroli**	kukuruz, soja, pšenica, obogaćena hrana i pića	može da smanji rizik oboljevanja od kardiovaskularnih bolesti;
Stanoli/steroli estri**	stanol-estar dijetetski suplementi, obogaćena hrana i pića	smanjenje rizika oboljevanja od kardiovaskularnih bolesti;
<b>POLIOLI</b>		
Šećerni alkoholi**-ksilitol, sorbitol, manitol, laktitol	određene žvakaće gume i dr.	smanjenje rizika od zubnog kariesa;
<b>PREBIOTICI</b>		
Inulin, frukto-oligosaharidi (FOS), polidekstroza	cela zrna žitarica, crni luk, beli luk, banana, obogaćena hrana i pića	potpomaže održavanju pravilnog funkcionisanja gastrointestinalnog trakta; potpomaže apsorpciju kalcijuma;
<b>PROBIOTICI</b>		



Kvasci, Laktobacilli, Bifidobakteria i ostali specifični lanci korisnih bakterija	određeni jogurti i drugi napici sa specifičnim kulturama probiotika	potpomaže održavanje pravilnog rada digestivnog trakta i imunog sistema; benefiti su specifični za sojeve;
<b>FITOESTROGENI</b>		
Izoflavoni - daidzein, genstein	soja i proizvodi od soje	potpomaže pravilno funkcionisanje koštanog, imunog sistema i moždanog sistema, za žene i u održavanju zdravlja za vreme menopauze;
Lignani	seme lana, raž, orasi, sočivo, brokoli, karfiol, šargarepa	prevencija kardiovaskularnih bolesti i očuvanje imuniteta;
<b>PROTEINI SOJE</b>		
Protein soje**	soja i proizvodi od soje	prevencija kardiovaskularnih bolesti;
<b>SULFIDI/TIOLI</b>		
Dialil sulfid, alil metil trisulfid	crni luk, beli luk	potpomažu detoksikaciju organizma; održavanju imuniteta i digestivnog trakta;
Ditioltioni	brokoli i karfiol	potpomažu detoksikaciju organizma i održavanju imunog sistema;
<b>VITAMINI</b>		
Vitamin A	mleko, jaja, šargarepe, slatki krompir, spanać	potpomaže u očuvanju imuniteta, očiju i koštanog sistema; očuvanje integriteta ćelije;
Tiamin (vitamin B1)	sočivo, pasulj, pistači, određene obogaćene žitarice	potpomaže u očuvanju mentalnih funkcija i regulisanju metabolizma;
Riboflavin (vitamin B2)	jaja, zeljasto povrće, mlečni proizvodi i određene obogaćene žitarice	pomaže rast ćelija; održava pravilan rad metabolizma;
Niacin (vitamin B3)	mlečni proizvodi, piletina, riba, orasi, jaja i određene obogaćene žitarice	potpomaže rast ćelija i pomaže u regulisanju metabolizma;

Pantoteinska kiselina (vitamin B5)	slatki krompir, jastog, soja, sočivo, obogaćene žitarice;	potpomaže u regulisanju metabolizma i sinteze hormona;
Piridoksin (vitamin B6)	pasulj, orasi, meso, riba, leguminoze, cela zrna žitarica i obogaćene žitarice	potpomaže u očuvanju imuniteta i regulisanju metabolizma;
Folati ili folna kiselina (vitamin B9)	pasulj, leguminoze, citrusno voće, zeljasto povrće, žitarice, pasta, pirinač	može da smanji rizik tokom trudnoće da se rodi dete sa neurološkim defektima i pomaže u očuvanju imuniteta;
B 12 (Kobalamin)	jaja, crveno meso, žvinsko meso, mleko i određene obogaćene žitarice	potpomaže u očuvanju moždanih funkcija, reguliše metabolizam i potpomaže u formiranju ćelija krvi;
Biotin	jetra, losos, mlečni proizvodi, jaja, ostrige i određene obogaćene žitarice	pomaže u regulisanju metabolizma i sinteze hormona
Vitamin C	guava, slatka crvena/zelena paprika, kivi, citrusno voće, jagode, obogaćena pića i hrana	neutrališe slobodne radikale koji mogu da oštete ćelije i potpomaže u očuvanju koštanog sistema i imuniteta;
Vitamin D **	Sunčeva svetlost, riba, obogaćena hrana kao što su jogurti i razne žitarice, pića	može da umanjuje rizik od osteoporoze, reguliše odnos kalcijuma i fosfora, potpomaže očuvanje imuniteta i ćelijskog rasta;
Vitamin E	semenke suncokreta, bademi, lešnici i dr.	neutrališe slobodne radikale;

\*Primeri ne obuhvataju sve

\*\*FDA- dokazane zdravstvene izjave

## **BIOGRAFIJA AUTORA**

Dajana T. Poleksić, devojачko prezime Kovač, je rođena 18.10.1984. godine u Sarajevu, Bosna i Hercegovina. Osnovnu školu završila je u Beogradu kao i XII beogradsku gimnaziju "Dimitrije Tucović" - opšti smer. Takođe, poseduje diplomu osnovne muzičke škole "Vatroslav Lisinski" iz Beograda (instrument - klavir). Govori engleski, španski i francuski jezik. Osnovne studije je završila 2008. godine na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, na odseku Prehrambena tehnologija biljnih proizvoda. U periodu od 2008. godine je radila u kompaniji "Aleksandrija Fruška Gora", na poslovima diplomiranog tehnologa u proizvodnji konditora, mlinskih, pekarskih, specijalnih pekarskih proizvoda. Od 2015. godine vodi projekat formiranja funkcionalnih proizvoda upisanih na listu lekova Ministarstva Zdravlja Srbije sa posebnim osvrtom na kreiranje hrane bez glutena, kazeina i laktoze kao pionir ovakve proizvođačke tehnologije u Srbiji. Godine 2018. zauzima mesto generalnog direktora i vodi razvoj novih proizvoda za specijalne namene u ljudskoj ishrani. Doktorske studije je upisala 2009. godine na studijskom programu Prehrambena tehnologija. Autor je jednog rada objavljenog u naučnom časopisu sa SCI liste. Udata je i majka je dvoje dece.

## Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Дајана Полексић

Број индекса 09/7

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Антиоксидативност и функционалност трајних пекарских производа са

додатком проса (*Panicum miliaceum* L.)

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Дајана Полексић  
Број индекса 09/7  
Студијски програм Прехрамбена технологија  
Наслов рада Антиоксидативност и функционалност трајних пекарских производа са додатком проса (*Panicum miliaceum* L.)  
Ментор проф. др Весна Ракић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис аутора**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Антиоксидативност и функционалност трајних пекарских производа  
са

---

додатком проса (*Panicum miliaceum* L.)

---

која је моје ауторско дело.

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

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

**Потпис аутора**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.